



**Centro de Investigación en Alimentación y  
Desarrollo, A.C.**

**ELABORACIÓN DE UNA GALLETA FUNCIONAL TIPO  
CRACKER CON HARINA COMPUESTA DE SEMILLA Y  
PULPA DE *Pachira aquatica***

---

Por:

**José Carlos Olivera Palacios**

TESIS APROBADA POR LA

COORDINACIÓN DE TECNOLOGÍA DE PRODUCTOS HORTOFRUTÍCOLAS Y  
LÁCTEOS

Como requisito parcial para obtener el grado de

**MAESTRO EN CIENCIAS**

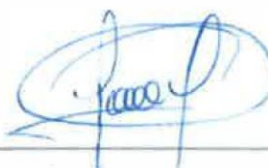
## **APROBACIÓN**

Los miembros del comité designado para la revisión de la tesis de José Carlos Olivera Palacios la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias



**Dr. Ramiro Baeza Jiménez**

**Director de tesis**



**M.C. Mario Alberto Morales Ovando**

**Co-director de tesis**



**Dra. Leticia Xóchitl López Martínez**

**Integrante del Comité de tesis**



**Dra. Sandra Mónica Alvarado González**

**Integrante del Comité de tesis**

## DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

La información generada en la tesis "Elaboración de una Galleta Funcional tipo Cracker con Harina Compuesta de Semilla y Pulpa de *Pachira aquatica*" es propiedad intelectual del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD). Se permiten y agradecen las citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial del autor José Carlos Olivera Palacios, siempre y cuando se dé crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita de quien ocupe la titularidad de la Dirección General del CIAD.

La publicación en comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar los créditos al CIAD, previa autorización escrita del director(a) de tesis.



CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN  
ALIMENTACIÓN Y DESARROLLO, A.C.  
Coordinación de Programas Académicos



Dra. Graciela Cáire Juvera  
Directora General

## AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, extiendo mi más sincero agradecimiento al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCYT) por el apoyo económico otorgado a mi persona para poder realizar la presente investigación.

De igual forma agradezco al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD), por abrirme las puertas para poder llevar a cabo la investigación en el marco de programa de Maestría en Ciencias.

Agradezco a cada uno de los profesores que contribuyeron a mi formación académica al interior del centro. Al Dr. Ramiro Baeza Jiménez por su apoyo constante e incondicional a lo largo del desarrollo del presente trabajo, así como por la comprensión y paciencia hacia mi persona, gracias por constantemente impulsarme en el desarrollo de este trabajo. Al M.C. Mario Alberto Morales Ovando por brindarme su apoyo a lo largo de los años, y actualmente, a la distancia como parte de este comité, así como por recomendarme ingresar a este programa. A la Dra. Sandra Mónica Alvarado González y la Dra. Leticia Xóchitl López Martínez por su constante apoyo durante el desarrollo de la presente investigación, orientándome en lo referente a los alimentos, y motivándome a seguir adelante en cada momento.

A cada uno de los técnicos de laboratorio, por brindarme asesoría con respecto a técnicas y metodologías desconocidas, brindándome su tiempo y confianza. A todo el personal de la Subselección de Delicias, porque cada uno de ellos contribuyó de alguna forma para llevar a término el presente trabajo.

A mis compañeros de generación, así como a mi amiga Neydi Mayte de la Torre Juárez, gracias de corazón por siempre escucharme y apoyarme, aclarando dudas y motivándome en momentos de flaqueza. Los momentos y risas junto a ustedes hicieron más llevadero hasta el momento más difícil.

El agradecimiento más grande para mi familia por siempre apoyarme en cada uno de los proyectos que he emprendido, sin ser esta la excepción. Gracias por siempre motivarme a la distancia, por preocuparse por mí, y por escuchar todas y cada una de mis quejas y alegrías.

*“Siento una sensación muy inusual; si no es indigestión, creo que debe ser gratitud” –*

Benjamín Disraeli

## **DEDICATORIA**

A mi familia, mis padres y hermanos, sin ustedes, nada de esto habría sido posible.

## CONTENIDO

|                                                                                                               |           |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>APROBACIÓN.....</b>                                                                                        | <b>2</b>  |
| <b>DECLARACIÓN INSTITUCIONAL .....</b>                                                                        | <b>3</b>  |
| <b>AGRADECIMIENTOS .....</b>                                                                                  | <b>4</b>  |
| <b>DEDICATORIA .....</b>                                                                                      | <b>5</b>  |
| <b>CONTENIDO .....</b>                                                                                        | <b>6</b>  |
| <b>LISTA DE FIGURAS .....</b>                                                                                 | <b>9</b>  |
| <b>LISTA DE CUADROS.....</b>                                                                                  | <b>10</b> |
| <b>LISTA DE FÓRMULAS .....</b>                                                                                | <b>11</b> |
| <b>RESUMEN .....</b>                                                                                          | <b>12</b> |
| <b>ABSTRACT .....</b>                                                                                         | <b>13</b> |
| <b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>                                                                                   | <b>14</b> |
| <b>2. ANTECEDENTES .....</b>                                                                                  | <b>16</b> |
| 2.1. <i>Pachira aquatica</i> .....                                                                            | 16        |
| 2.1.1. Semillas de <i>P. aquatica</i> .....                                                                   | 18        |
| 2.1.2. Usos Reportados de <i>P. aquatica</i> .....                                                            | 18        |
| 2.2. Uso de <i>P. aquatica</i> en Harinas Compuestas.....                                                     | 19        |
| 2.3. Propiedades Tecnofuncionales en Harinas Compuestas .....                                                 | 20        |
| 2.4. Galletas como Alimento Funcional .....                                                                   | 21        |
| 2.4.1. Alimento Funcional .....                                                                               | 21        |
| 2.5. Radicales Libres .....                                                                                   | 23        |
| 2.5.1. Especies Reactivas de Oxígeno .....                                                                    | 24        |
| 2.6. Antioxidantes.....                                                                                       | 25        |
| 2.7. Polifenoles .....                                                                                        | 28        |
| 2.7.1. Biodisponibilidad de los Polifenoles .....                                                             | 30        |
| <b>3. HIPÓTESIS .....</b>                                                                                     | <b>32</b> |
| <b>4. OBJETIVOS .....</b>                                                                                     | <b>33</b> |
| 4.1. Objetivo General.....                                                                                    | 33        |
| 4.2. Objetivos Específicos .....                                                                              | 33        |
| <b>5. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>                                                                           | <b>34</b> |
| 5.1. Recolección de Muestras .....                                                                            | 34        |
| 5.2. Preparación de Muestras.....                                                                             | 34        |
| 5.2.1. Receta Base de Galletas Sustituidas con Harina de Pulpa y Semilla de <i>P. aquatica</i> (100 g). ..... | 35        |
| 5.3. Obtención de Extractos de Harinas para Ensayos de Capacidad Antioxidante.....                            | 35        |
| 5.4. Obtención de Extractos de Galletas para Ensayos de Capacidad Antioxidante .....                          | 36        |
| 5.5. Análisis de la Composición Nutrimental.....                                                              | 36        |

## CONTENIDO (Continuación)

|                                                                                                                                                         |           |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 5.6. Propiedades Tecnofuncionales de las Harinas de Pulpa y Semilla .....                                                                               | 36        |
| 5.6.1. Determinación de Capacidad de Hinchamiento de Las Harinas.....                                                                                   | 37        |
| 5.6.2. Determinación de Capacidad de Retención de Agua.....                                                                                             | 37        |
| 5.6.3. Determinación de Capacidad de Absorción de Agua .....                                                                                            | 37        |
| 5.6.4. Determinación de Capacidad de Absorción de Aceite .....                                                                                          | 38        |
| 5.7. Determinación de Propiedades Bioactivas de Harinas y Galletas de <i>P. aquatica</i> .....                                                          | 38        |
| 5.7.1. Determinación de Compuestos Fenólicos Totales.....                                                                                               | 38        |
| 5.7.2. Determinación de Capacidad Antioxidante de Harina y Galletas por Ensayo<br>DPPH.....                                                             | 39        |
| 5.7.3. Determinación de Capacidad Antioxidante de Harina y Galletas por Ensayo<br>ABTS.....                                                             | 39        |
| 5.8. Ultraestructura de Galletas con Harinas de <i>P. aquatica</i> por Microscopía Electrónica<br>de Barrido .....                                      | 40        |
| 5.9. Análisis de Textura de Galletas con Harinas de <i>P. aquatica</i> .....                                                                            | 40        |
| 5.10. Análisis Sensorial de Galletas con Harinas de <i>P. aquatica</i> .....                                                                            | 40        |
| 5.11. Digestibilidad de Proteínas de Galletas con Harinas de <i>P. aquatica</i> .....                                                                   | 41        |
| 5.12. Diseño Experimental .....                                                                                                                         | 41        |
| 5.12.1 Etapa 1: Análisis Previos de las Harinas .....                                                                                                   | 41        |
| 5.12.1.1 Análisis nutrimental y tecnofuncional de las harinas.....                                                                                      | 42        |
| 5.12.1.2 Diseño experimental para determinación de capacidad antioxidante de las<br>harinas .....                                                       | 42        |
| 5.12.2 Etapa 2: Composición Nutrimental de las Galletas .....                                                                                           | 44        |
| 5.12.2.1 Diseño experimental para análisis nutrimental de las galletas.....                                                                             | 44        |
| 5.12.3 Etapa 3: Análisis Estructurales y de Aceptación .....                                                                                            | 44        |
| 5.12.3.1 Diseño experimental para análisis de ultraestructura por MEB.....                                                                              | 44        |
| 5.12.3.2 Diseño experimental para análisis de perfil de textura. ....                                                                                   | 45        |
| 5.12.3.3. Diseño experimental para análisis de aceptación sensorial .....                                                                               | 45        |
| 5.12.4. Etapa 4: Propiedades Funcionales y Digestibilidad.....                                                                                          | 45        |
| 5.12.4.1. Diseño experimental para determinación de capacidad antioxidante de las<br>galletas.....                                                      | 45        |
| 5.12.5. Análisis de Datos .....                                                                                                                         | 47        |
| <b>6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>                                                                                                                   | <b>49</b> |
| 6.1. Composición Nutrimental de las Semillas, Cubierta de Semilla, Pulpa y Cáscara de<br><i>P. aquatica</i> en Distintos Estados de Madurez. ....       | 49        |
| 6.2. Propiedades Tecnofuncionales de Harinas de Semilla y Pulpa de <i>P. aquatica</i> .....                                                             | 51        |
| 6.3. Perfil de Compuestos Fenólicos de Harina de Semilla de <i>P. aquatica</i> .....                                                                    | 52        |
| 6.4. Determinación de Polifenoles Totales de Semilla y Pulpa de <i>P. aquatica</i> en<br>Diferentes Estados de Madurez .....                            | 54        |
| 6.5. Determinación de la Capacidad Antioxidante en Pulpa y Semilla de <i>P. aquatica</i> .....                                                          | 56        |
| 6.6. Análisis Nutrimental de Galletas de Maíz y Trigo con Diferentes Grados de<br>Sustitución con Harina de Semilla y Pulpa de <i>P. aquatica</i> ..... | 59        |
| 6.7. Ultraestructura por Microscopía Electrónica de Barrido.....                                                                                        | 62        |

## CONTENIDO (Continuación)

|                                                                                                                       |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 6.8. Perfil de Textura de las Galletas Parcialmente Sustituidas con Harina de <i>P. aquatica</i> .....                | 64 |
| 6.9. Análisis de Percepción Sensorial de las Galletas Parcialmente Sustituidas con Harina de <i>P. aquatica</i> ..... | 66 |
| 6.11.2 Determinación de Capacidad Antioxidante por Ensayos DPPH y ABTS .....                                          | 73 |
| <b>7. CONCLUSIONES</b> .....                                                                                          | 78 |
| <b>8. RECOMENDACIONES</b> .....                                                                                       | 80 |
| <b>9. REFERENCIAS</b> .....                                                                                           | 81 |

## LISTA DE FIGURAS

| Figura |                                                                                                                        | Página |
|--------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| 1      | Fruto de <i>P. aquatica</i> en gajos.....                                                                              | 17     |
| 2      | Partes de un fruto carnosos.....                                                                                       | 17     |
| 3      | Vista frontal (A), lateral (B), embrión (C).....                                                                       | 18     |
| 4      | Configuración de oxígeno y ROS.....                                                                                    | 25     |
| 5      | Antioxidante como donador de electrones.....                                                                           | 26     |
| 6      | Fuentes de oxidantes y antioxidantes.....                                                                              | 27     |
| 7      | Estructuras químicas representativas de las distintas clases de polifenoles de la dieta.....                           | 29     |
| 8      | Vista satelital del sitio de colecta de los frutos.....                                                                | 34     |
| 9      | Gráfica de fenoles totales de semilla y pulpa de <i>P. aquatica</i> en distintos estados de madurez.....               | 55     |
| 10     | Gráfica de capacidad antioxidante DPPH para pulpa y semilla de <i>P. aquatica</i> en distintos estados de madurez..... | 57     |
| 11     | Gráfica de capacidad antioxidante ABTS para pulpa y semilla de <i>P. aquatica</i> en distintos estados de madurez..... | 58     |
| 12     | Micrografías de tratamientos Bx, incremento x1000.....                                                                 | 63     |
| 13     | Gráficos de aceptación sensorial de formulaciones Bx.....                                                              | 66     |
| 14a    | Gráfica de fenoles totales de los tratamientos Bx por maceración.....                                                  | 71     |
| 14b    | Gráfica de fenoles totales de los tratamientos Bx por ultrasonido.....                                                 | 71     |
| 15a    | Gráfica de capacidad antioxidante DPPH de los tratamientos Bx por maceración.....                                      | 74     |
| 15b    | Gráfica de capacidad antioxidante DPPH de los tratamientos Bx por ultrasonido.....                                     | 74     |
| 16a    | Gráfica de capacidad antioxidante ABTS de los tratamientos Bx por maceración.....                                      | 76     |
| 16b    | Gráfica de capacidad antioxidante ABTS de los tratamientos Bx por ultrasonido.....                                     | 76     |

## LISTA DE CUADROS

| Cuadro |                                                                                                     | Página |
|--------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| 1      | Receta base para 100 g de harina para galletas.....                                                 | 35     |
| 2      | Diseño 3x2 para análisis nutrimental.....                                                           | 42     |
| 3      | Matriz Box-Behnken para análisis nutrimental.....                                                   | 42     |
| 4      | Diseño 3x2x3 para determinación de capacidad antioxidante de las harinas...                         | 43     |
| 5      | Matriz Box-Behnken, diseño factorial 3x3 etapa 1.....                                               | 43     |
| 6      | Diseño de formulaciones de galletas parcialmente sustituidas.....                                   | 44     |
| 7      | Diseño factorial 5x3 para determinación de capacidad antioxidante de galletas.....                  | 46     |
| 8      | Matriz Box-Behnken para determinación de capacidad antioxidante.....                                | 47     |
| 9      | Composición nutrimental de pulpa de <i>P. aquatica</i> .....                                        | 49     |
| 10     | Composición nutrimental de semilla de <i>P. aquatica</i> .....                                      | 50     |
| 11     | Propiedades tecnofuncionales de harina de pulpa y semilla de <i>P. aquatica</i> .....               | 51     |
| 12     | Compuestos fenólicos identificados en harina de semilla de <i>P. aquatica</i> .....                 | 53     |
| 13     | Composición nutrimental de galletas parcialmente sustituidas con harina de <i>P. aquatica</i> ..... | 59     |
| 14     | Perfil de textura de formulaciones Bx.....                                                          | 64     |
| 15     | Digestibilidad de proteína de los tratamientos Bx.....                                              | 68     |

## LISTA DE FÓRMULAS

| Fórmula                                            | Página |
|----------------------------------------------------|--------|
| 1      Fórmula para cálculo de digestibilidad..... | 41     |

## RESUMEN

En la actualidad se atraviesa por una crisis alimentaria global, la cual tiene como una de sus causas la mala distribución de los recursos alimenticios. A causa de lo anterior, en los últimos años se ha fomentado la búsqueda de fuentes alternativas de alimentación, accesibles en las zonas donde han de ser requeridas, ha llevado a la revalorización de especies vegetales subutilizadas. *Pachira aquatica* se distribuye por las zonas húmedas del sur de México, una de estas zonas de distribución es la región del Soconusco, en Chiapas, lugar donde *P. aquatica* crece en los cauces de los ríos y la zona de manglar. Existe evidencia de que las semillas de *P. aquatica* poseen propiedades funcionales y tecnofuncionales que las vuelven una alternativa viable para la elaboración de productos de panificación con características funcionales, sin embargo, esto es desconocido por la población general, lo cual lleva a que esta especie vegetal permanezca en estado de subutilización. Por lo anteriormente expuesto, el objetivo de esta tesis era elaborar una galleta con harinas de semilla y pulpa de *P. aquatica*, mediante la determinación de la composición química de las harinas de partida, así como de sus propiedades tecnofuncionales, las cuales darán la pauta para las definir las diferentes formulaciones. Las galletas obtenidas se caracterizaron química (contenido nutrimental y aporte calórico) y funcionalmente (contenido de compuestos bioactivos), y se evaluaron sensorialmente. Los resultados obtenidos señalan a la semilla y pulpa en estado maduro como óptimas para el desarrollo de un alimento, obteniendo 34.5% de fibra la pulpa madura, mientras que la semilla, 14% de proteína. Se identificó al ácido clorogénico (1240 mg/mL) como el componente principal en el perfil de compuestos fenólicos. La aceptación sensorial para el tratamiento B2 tuvo un valor de 5 en promedio, indicando una aceptación neutral por parte de los consumidores. El análisis de digestibilidad realizado señala a la formulación 70% maíz, 30% *P. aquatica* como aquella con la mayor biodisponibilidad proteica (85%). En las galletas se encontró una alta capacidad antioxidante, siendo la formulación 50% maíz, 50% *P. aquatica* la que alcanzó los resultados más altos de las sustituciones: 2.46 mg EAG/gms para fenoles totales y, 9.36 y 9.347 mg ET/gms de capacidad antioxidante por los métodos DPPH y ABTS, respectivamente.

**Palabras clave:** especie subutilizada, galleta funcional, harina compuesta

## ABSTRACT

There is now a global food crisis, one of the causes of which is the poor distribution of food resources. Because of the above, in recent years the search for alternative sources of food, accessible in the areas where they are to be requested, has led to the revaluation of underused plant species. *Pachira aquatica* is distributed in the wetlands of southern Mexico, one of these areas of distribution is the Soconusco region, in Chiapas, where *P. aquatica* grows in the river lanes and the manglar area. There is evidence that seeds of *P. aquatica* possess functional and technofunctional properties that make them a viable alternative for the manufacture of baking products with functional characteristics, however, this is unknown to the general population, which leads to this plant species remaining in a state of subutilization.

For the above, the aim of this thesis was to produce a cookie with seed flour and pulp of *P. aquatica*, by determining the chemical composition of the flours, as well as their technofunctional properties, which will give the guidelines for defining the different formulations. The cookies obtained were characterized chemically (nutritional content) and functionally (containing bioactive compounds) and evaluated structurally and sensorially. According to the results, the seed and pulp in ripe state are optimal for the development of a food, obtaining 34.5% fiber the ripe pulp, while seed, 14% protein. Chlorogenic acid (1240 mg/mL) was identified as the main component in the profile of phenolic compounds. Sensory acceptance for treatment B2 was 5 on average, indicating neutral acceptance by consumers. The digestibility analysis carried out indicates the formulation 70% maize, 30% *P. aquatica* as the one with the highest protein bioavailability (85%). A high antioxidant capacity was found in the cookies, with the formulation 50% corn, 50% *P. aquatica* achieving the highest results of the substitutes: 2.46 mg GAE/gdm for total phenols and 9.36 and 9.347 mg TE/gdm of antioxidative capacity by the DPPH and ABTS assays, respectively.

**Keywords:** underutilized species, functional cookie, composite flour

## 1. INTRODUCCIÓN

*Pachira aquatica* es un árbol que crece en estado natural en las zonas pantanosas, arcillosas y de escasa vegetación a orillas de los ríos, corrientes y lagos, según datos de la FAO. En México, esta especie se encuentra distribuida en los estados de Puebla, Veracruz, Tabasco, Campeche, Yucatán, Chiapas, Quintana Roo y Guerrero (Velázquez, 2009).

Al tratarse de una especie no aprovechada, no se dispone de datos con respecto a la producción o consumo de *P. aquatica* en dicha región, sin embargo, los datos sobre la especie sugieren una producción que en el caso de un árbol puede ascender hasta los 250 frutos anuales con una producción sostenida a lo largo de todo el año (USDA, 2010).

El escaso cultivo de *P. aquatica* se orienta mayormente al ornato y a la construcción de cercos vivos, dado que no hay estudios suficientes que respalden el consumo o utilidad de sus frutos. Del fruto de *P. aquatica* la semilla es consumida asada o cocinada con sal; existe información sobre el consumo de la pulpa en el estado de Veracruz, en forma de mermelada. En la región del Soconusco, Chiapas, la planta es conocida como “zapotón” o “zapote de agua (Becker *et al.*, 2018; Lim, 2012). El consumo de los frutos en la región es escaso, limitado a pequeños sectores de la población que heredaron este hábito de sus padres o abuelos, lo que resulta que estos árboles sean vistos únicamente como una fuente de sombra o incluso como obstáculos en el terreno, y sus frutos no sean aprovechados. El demostrar la utilidad de este fruto para la industria, así como el análisis de sus componentes y capacidades permitirá a los pobladores de la región el acceso a una nueva fuente de alimentos, y fortalecerá el conocimiento general sobre este fruto.

Los estudios sobre *P. aquatica* resultan insuficientes, y en su mayoría, contradictorios; se habla de la presencia de compuestos nocivos en las semillas, sin embargo, esto no es algo constante en los estudios realizados. En especial, los estudios correspondientes a la capacidad antioxidante de las distintas partes del fruto son sumamente escasos, y los existentes, se restringen a estudios sobre semilla y hojas, despreciando las partes restantes.

Las semillas de *P. aquatica* tienen el potencial de ser utilizadas en la industria alimentaria para distintos fines, pues representan una importante fuente de grasas comestibles, proteínas y aminoácidos; las proteínas extraídas de las semillas de *P. aquatica* poseen propiedades de interés a la industria de los alimentos, tales como aumentar la capacidad de absorción de agua y lípidos y

actuar como emulsificantes, además, hay estudios como los compilados por Rodrigues y Pastore (2021), que demuestran la capacidad antioxidante de los compuestos extraídos de las semillas.

Las semillas, así como las demás partes del fruto de *P. aquatica*, representan una alternativa a las habituales fuentes de grasas, fibra, y antioxidantes, por lo que el estudio y comprobación de estas capacidades y compuestos es de suma importancia (Costa *et al.*, 2023). Las proteínas y polifenoles encontrados en *P. aquatica* han demostrado buenas capacidades emulsificantes, antioxidantes, nutritivas y anticancerígenas. Estudios previos sugieren que la composición proteica de las semillas de *P. aquatica* resulta muy similar a la encontrada en la leche materna (Araujo-Silva *et al.*, 2015; Rincón-Pérez, 2014).

El estudio de *P. aquatica* como una posible fuente de alimento y compuestos de interés, promueve el desarrollo económico de la región tomando como base una planta que habitualmente no es pensada para tales propósitos y cuyo potencial para la obtención de compuestos de alta demanda en la industria es actualmente desperdiciado dada la falta de estudios al respecto. De igual forma provee de una alternativa a los actuales problemas de alimentación y desnutrición en el mundo, el marco de los cuales, es vital el aprovechamiento de todas las fuentes de alimentación de calidad posibles, para lo cual, el zapote de agua, dada su amplia distribución y de ser comprobado su valor alimenticio, representa una fuente accesible y nutritiva (Rodríguez-Jeréz *et al.*, 2016).

En el actual escenario global, donde se promueve la búsqueda de fuentes de alimentación que estén presentes y disponibles en el lugar donde han de ser aprovechadas, el estudio de plantas como *P. aquatica* resulta un campo prometedor.

Las propiedades reportadas para la semilla de *P. aquatica* señalan que la misma puede ser empleada para elaborar alimentos funcionales. Estudios previos, sugieren que sus propiedades tecnofuncionales son adecuadas para la elaboración de productos de panificación. Lo anterior expuesto exhibe un panorama favorable en el cual, *P. aquatica* se ubica como una alternativa para la elaboración de una harina alternativa para la elaboración de productos de panificación funcionales.

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1. *Pachira aquatica*

*P. aquatica*, un árbol frutal nativo de América tropical se distribuye desde México hasta el norte de Brasil. Es característico de los humedales y puede crecer hasta 18 m de altura y 0.9 m de diámetro. En México, florece de diciembre a agosto y fructifica de enero a septiembre. Crece en zonas con temperaturas promedio de 24°C o superiores y precipitaciones anuales entre 1000 y 2000 mm. Los árboles pueden florecer por primera vez a los 3.5 años y los frutos se cosechan cuando tienen aproximadamente 4 años.

*P. aquatica* es adaptable a condiciones climáticas y edáficas adversas, lo que la hace adecuada para la forestación urbana y otros usos. Su follaje denso y su capacidad para tolerar la sequía y los suelos pobres la convierten en una opción valiosa para zonas urbanas y semiáridas. Además, sus frutos son comestibles y ricos en nutrientes, lo que contribuye a su importancia ecológica y económica (Araujo-Lima *et al.*, 2018; Hernández-Montero y Sosa, 2016; SFEU, 2010).

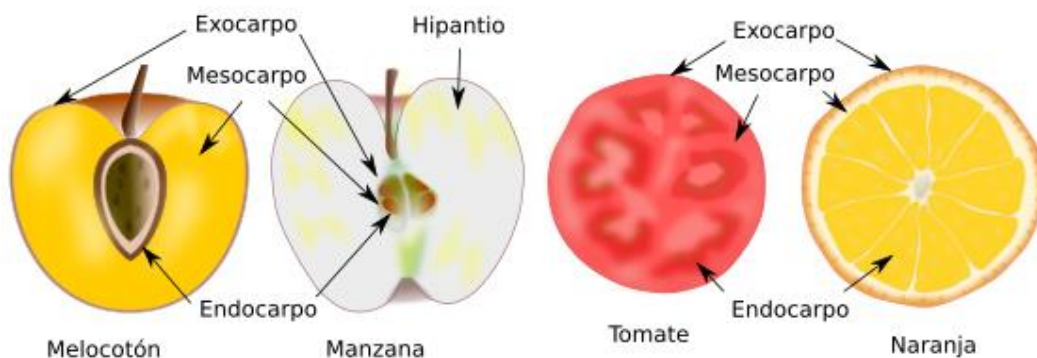
Debido a la falta de cultivo intensivo de esta especie vegetal y a su amplia distribución natural, con el pasar del tiempo ha sido clasificada numerosas veces, adoptando diversos nombres científicos, siendo los más habituales *P. aquatica*, *P. glabra*, *P. macrocarpa*, *Bombacopsis glabra*, *Bombax aquaticum*, *Carolinea macrocarpa* y *Carolinea grandiflora*. De igual forma, se han asignado diferentes nombres de uso común, como son apombo, cacao de monte, castaño de agua, ceibo de argua, pumpunjuche, tsine, zapote bobo, zapote de agua, zapotón (Lim, 2012).

Las flores son de un tono verde oliva y pueden medir hasta 31 cm de largo. Poseen cinco pétalos aterciopelados y una columna estaminal la cual se divide en numerosos estambres con apariencia de cepillo. El fruto es dehiscente, de color amarillo oliváceo en la madurez, de forma elíptica, de tamaño variable según el lugar de cultivo, rondando los 21 a 30 cm de largo. Se compone de cinco valvas sin fibras internas visibles (Figura 1). Al madurar, el fruto desprende las semillas, las cuales son recogidas directamente del suelo para su consumo o siembra. Estas semillas germinan de forma acelerada en contacto con el suelo (SFEU, 2010).



**Figura 1.** Fruto de *P. aquatica* en gajos

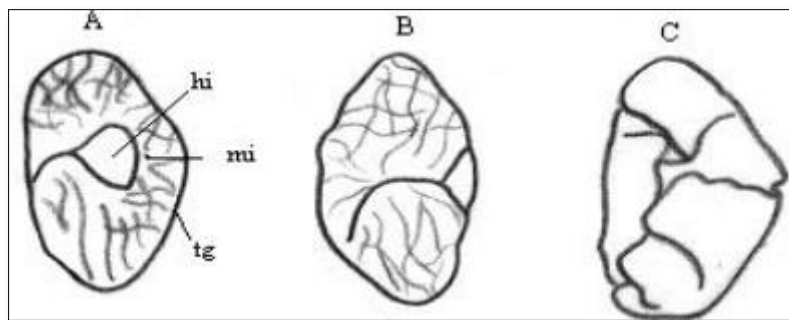
La dehiscencia en un fruto es una estrategia adoptada por ciertas especies de frutos, principalmente aquellos cuyas semillas no disponen de algún otro medio natural de diseminación. Los frutos dehiscentes son aquellos que se abren en algún momento de su maduración, liberando las semillas que contienen y dejándolas caer al suelo, donde estas pueden fácilmente ser consumidas por animales. La forma en la cual las semillas se encuentran dispuestas juega un papel importante, pues en frutos no dehiscentes, estas se encuentran fuertemente unidas al pericarpio, impidiendo ser “lanzadas” sin intervención externa (Figura 2). (Ferrandiz, 2002; Megias *et al.*, 2019).



**Figura 2.** Partes de un fruto carnoso  
**Referencia:** Megias *et al.*, 2019

### 2.1.1. Semillas de *P. aquatica*

Las semillas son estenospérmicas, tienen forma que van desde reniformes a angulares, que se insertan en el eje central del fruto. Las semillas están parcialmente cubiertas por un tejido esponjoso, de color blanquecino, probablemente arilo. El embrión está invaginado, estriado, doblado, grueso, involucrando totalmente el eje hipocotilar, con endospermo hialino y gelatinoso. Los cotiledones son del tipo crassifolium, desiguales en tamaño y plegado sobre el eje hipocótil-radícula, es decir, los cotiledones se diferencian, donde uno es bien desarrollado, carnoso, con forma codiforme y ligeramente surcado y el otro es más pequeño, presentando de la misma forma, carnosos y con vetas verticales, como puede observarse en la Figura 3. Las semillas tienen, en promedio, largo, ancho y grosor 25.16; 37.81 y 25.45 mm, respectivamente, con peso medio de 12.49 g (Silva *et al.*, 2011).



**Figura 3.** Vista frontal (A), lateral (B), embrión (C)  
**Referencia:** Bernardo-Silva *et al.*, 2011

### 2.1.2. Usos Reportados de *P. aquatica*

Pese a que el consumo de *P. aquatica* está limitado a sectores concretos de la población de ciertas regiones geográficas, se han reportado (aunque no confirmado), distintas formas de consumo de las semillas de este fruto, siendo algunas las listadas a continuación (Lim, 2012).

- Consumo directo: Tostadas o fritas en aceite.

- Bebidas: Se utilizan para preparar bebidas después del tostado.
- Harina: Molidas para hacer harina para hornear pan.
- Grasa: Producen una grasa blanca e inodora que, una vez refinada, es apta para cocinar.

Las semillas de *P. aquatica* son la única parte del fruto de la cual existen reportes comprobados de su consumo. En la zona del Amazonas, estas semillas son consumidas crudas o cocinadas, formando parte de la dieta básica de muchas tribus. Las hojas y flores también pueden ser consumidas a modo de vegetales. Se ha sugerido que las semillas de *P. aquatica* tienen un contenido de proteínas similar al encontrado en la leche materna. Un problema habitual con el consumo de las semillas es la presencia de componentes tóxicos y antinutritivos, sin embargo, la cocción de estas ayuda a disminuir o eliminar los mismos. (Rincón-Pérez, 2014).

## 2.2. Uso de *P. aquatica* en Harinas Compuestas

El uso de harinas compuestas es una alternativa empleada en la actualidad para la elaboración de diversos productos de panificación. Su uso permite una menor dependencia de granos u otras fuentes de harina convencionales (trigo, maíz, yuca, papa, etc). Se define a una harina compuesta como la mezcla de harinas obtenidas de diversas fuentes, principalmente tubérculos ricos en almidón, así como semillas frutales u otros cereales, que puede o no contener harina de trigo (Hasmedi *et al.*, 2020). El uso de harinas compuestas en la elaboración de alimentos permite, además, un mayor balance nutricional y de minerales, esto debido a los orígenes diversos de los componentes de esta, además de que, en su mayoría, resultan en harinas bajas en gluten o libres de este (Traynham *et al.*, 2007).

No existe suficiente información confirmada sobre el uso de la semilla y pulpa de *P. aquatica* en la formulación de harinas compuestas. A pesar de lo anterior, los pocos estudios existentes, así como los usos transmitidos por tradición, indican que la semilla de *P. aquatica* tiene el potencial de ser empleada como un sustituto de la harina de cereales convencionales, como el trigo o maíz (De Souza y De Brito Silva, 2022). El uso de especies como *P. aquatica* en la formulación de harinas compuestas promueve el cultivo local de estas especies, permitiendo el desarrollo de

productos de panificación elaborados con materia prima local, impulsando la economía, la buena nutrición y promoviendo la conservación y el desarrollo de variedades más productivas (Dendy, 1994; Jisha *et al.*, 2008).

### 2.3. Propiedades Tecnofuncionales en Harinas Compuestas

Las propiedades tecnofuncionales de una harina son aquellas que determinan la viabilidad del uso de esta en la elaboración de ciertos productos. Estas propiedades comprenden principalmente la capacidad de una harina de absorber y retener agua y aceite, así como de incrementar su volumen al contacto con un líquido. Estas propiedades se atribuyen en su mayoría a la presencia de almidones, fibras insolubles y otros hidratos de carbono como mucilagos, y a las propiedades reológicas y físicas de estos (Pasqualone *et al.*, 2021).

Debido a lo anterior, una harina compuesta, al estar conformada por diferentes tipos de harina con fuentes diversas, suele presentar características tecnofuncionales superiores a las encontradas para harinas convencionales. Existe, además, la ventaja, de que estas propiedades pueden ser ajustadas mediante la modificación de la proporción de cada harina en la formulación, permitiendo obtener una harina ideal para cada uso (Lawal *et al.*, 2021).

Además de lo mencionado anteriormente, las harinas compuestas exhiben en muchas ocasiones capacidades de absorción y retención superiores, debido al procesamiento de la muestra. Muchas de las semillas, cáscaras y pulpas empleadas para la elaboración de harinas compuestas, contienen compuestos tóxicos en estado crudo, por lo cual, son sometidas a deshidratación, escaldado, cocción u horneado. Los tratamientos térmicos anteriormente mencionados tienen efecto sobre las propiedades tecnofuncionales, pues provocan cambios estructurales en los carbohidratos anteriormente mencionados, “activando” aún más, sus capacidades de absorción, retención e hinchamiento en presencia de líquidos (Gao *et al.*, 2018). El análisis de las propiedades tecnofuncionales de las harinas permite pues, entre otras cosas, encontrar la mejor forma de aprovechar las mismas.

## 2.4. Galletas como Alimento Funcional

Entre los usos habituales para las harinas compuestas, se encuentra la formulación de alimentos panificados tradicionales, con sustitución parcial o total de la harina convencional. Entre estos alimentos, las galletas y sus similares se encuentran entre los alimentos con más presencia en los estudios. La elaboración de una galleta empleando harinas no convencionales, facilita la promoción de estas y permite la “entrega” de compuestos bioactivos deseados, al tratarse de un producto de consumo habitual, que no resulta extraño de consumir (Abioye *et al.*, 2018).

De acuerdo con la NMX-F-006-1983, una galleta es un producto elaborado con harinas de trigo, avena, centeno, harinas integrales, azúcares, grasas y/o aceites vegetales comestibles, agentes leudantes, sal, etc., adicionados o no de otros ingredientes y aditivos alimenticios permitidos, los que se someten a un proceso de amasado, moldeado y horneado.

En México, las galletas constituyen una parte importante de la dieta de las familias. Se reporta que el 99.7% de los hogares mexicanos consumen galletas de forma habitual, llegando a consumir hasta 12 kg anuales (Páez *et al.*, 2020). Además del gran consumo reportado, México mantiene una gran producción de galletas dulces, pues tan solo en el año 2022, el valor de las exportaciones de estas ascendió hasta los 1, 115 millones de dólares (Secretaría de Economía, 2023).

Existen numerosos artículos sobre la elaboración de galletas y bísquits de diferentes tipos, empleando harinas poco convencionales para reemplazar a la harina de trigo o avena, con el fin de formular alimentos funcionales; los resultados obtenidos señalan en la mayoría de los casos, un incremento significativo de las propiedades funcionales, tales como la capacidad antioxidante, así como el contenido nutrimental de las mismas, favoreciendo el contenido de fibra y proteínas (Machado *et al.*, 2021; Mecha *et al.*, 2021).

### 2.4.1. Alimento Funcional

Con base en lo anterior, resulta notoria la importancia que las galletas tienen en la dieta del mexicano, así como la importancia que han cobrado en años recientes como una alternativa para

promover la alimentación saludable, es por ello por lo que en el presente estudio se ha propuesto la elaboración de una galleta empleando harinas compuestas, que finalmente pueda ser categorizada como un alimento funcional.

Pese a que en la actualidad existen diferentes definiciones, en una línea general, un alimento funcional es aquel que además de su valor nutricional, contiene componentes biológicamente activos que aportan beneficios para la salud y reducen el riesgo de enfermedades. Estos alimentos pueden ser naturales o modificados para aumentar o disminuir su contenido de ciertos componentes (Beltrán-de-Heredia, 2016).

Algunas de las características que distinguen a los alimentos funcionales de los convencionales son:

- Son alimentos de consumo diario.
- No producen efectos nocivos.
- Tienen propiedades nutritivas y beneficiosas para el organismo.
- Reducen o previenen el riesgo de enfermedades y mejoran la salud.
- Sus efectos beneficiosos se demuestran al consumirlos en cantidades habituales en la dieta.

Los efectos de los alimentos funcionales se observan cuando se consumen regularmente como parte de una dieta equilibrada. Estos efectos abarcan desde mejoras en la salud y función digestiva, hasta propiedades antioxidantes (Beltrán-de-Heredia, 2016).

La promoción del consumo y desarrollo de alimentos funcionales tiene como finalidad el aprovechamiento de las bioactividades de estos. Una de las bioactividades más estudiadas es la capacidad antioxidante, la cual se asocia al proceso de reducción de los óxidos producidos de forma endógenas. Estos óxidos se refieren, particularmente, a las conocidas especies reactivas de oxígeno, además de los radicales libres, en cuya definición se profundizará más adelante.

El proceso de oxidación ocurre de forma constante en el cuerpo humano, pues la mayoría de los procesos corporales implican una oxidación. Es importante tener en cuenta que el término "oxidación" a menudo se limita a sustancias aisladas (por ejemplo, la oxidación de las grasas), pero también se refiere a procesos internos dentro de las células que pueden contribuir a enfermedades. Por lo tanto, es crucial considerar no solo las defensas del cuerpo, sino también las especies involucradas, como los radicales libres. (Coronado *et al.*, 2015).

## 2.5. Radicales Libres

Los radicales libres anteriormente mencionados son compuestos químicos que tienen un electrón desapareado y, por tanto, son muy reactivos. Se encuentran en diversos procesos celulares como la respiración mitocondrial, la cadena de transporte de electrones y las reacciones de oxidación. Estos radicales pueden dañar las biomoléculas del cuerpo, como los lípidos, las proteínas y el ADN, y contribuir a enfermedades como el cáncer, las enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas.

También desempeñan importantes funciones fisiológicas. Están involucrados en la fagocitosis, un proceso en el que las células inmunes fagocitan y destruyen patógenos. Promueven la síntesis de colágeno, una proteína que proporciona estructura y soporte al tejido conectivo. Además, los radicales libres promueven la síntesis de prostaglandinas, hormonas similares que desempeñan un papel en la inflamación, la coagulación sanguínea y la regulación de la temperatura corporal (Venereo-Gutiérrez, 2002).

A pesar de sus propiedades dañinas, los radicales libres no son inherentemente dañinos. Nuestros cuerpos producen cantidades moderadas de radicales libres para combatir infecciones y mantener la salud. Sin embargo, cuando se producen demasiados radicales libres o las defensas antioxidantes del cuerpo son inadecuadas, puede ocurrir estrés oxidativo, que puede dañar las células y los tejidos y provocar enfermedades (Avello y Suwalsky, 2006).

Según Venereo-Gutierrez (2002), el daño celular producido por las especies reactivas del oxígeno ocurre sobre diferentes macromoléculas. Según la molécula afectada, los efectos llegan a ser diversos, y graves. Los radicales libres pueden dañar las membranas celulares ricas en ácidos grasos poliinsaturados a través de un proceso llamado peroxidación lipídica. Lo anterior altera la permeabilidad de las células, causando edema y consecuente muerte celular.

La peroxidación lipídica es un tipo de daño tisular causado por el oxígeno, el oxígeno singlete, el peróxido de hidrógeno y el radical hidroxilo. Estos compuestos atacan los ácidos grasos insaturados, componentes esenciales de las membranas celulares, comprometiendo su función normal. Hay oxidación de un grupo de aminoácidos como fenilalanina, tirosina, histidina y metionina; además se forman entrecruzamientos de cadenas peptídicas, y por último hay formación de grupos carbonilos. En las proteínas, se promueve la oxidación de grupos de aminoácidos, tales

como la fenilalanina, tirosina, la histidina y la metionina. además de lo anterior, se forman carbonilos y se produce el entrecruzamiento de cadenas de péptidos.

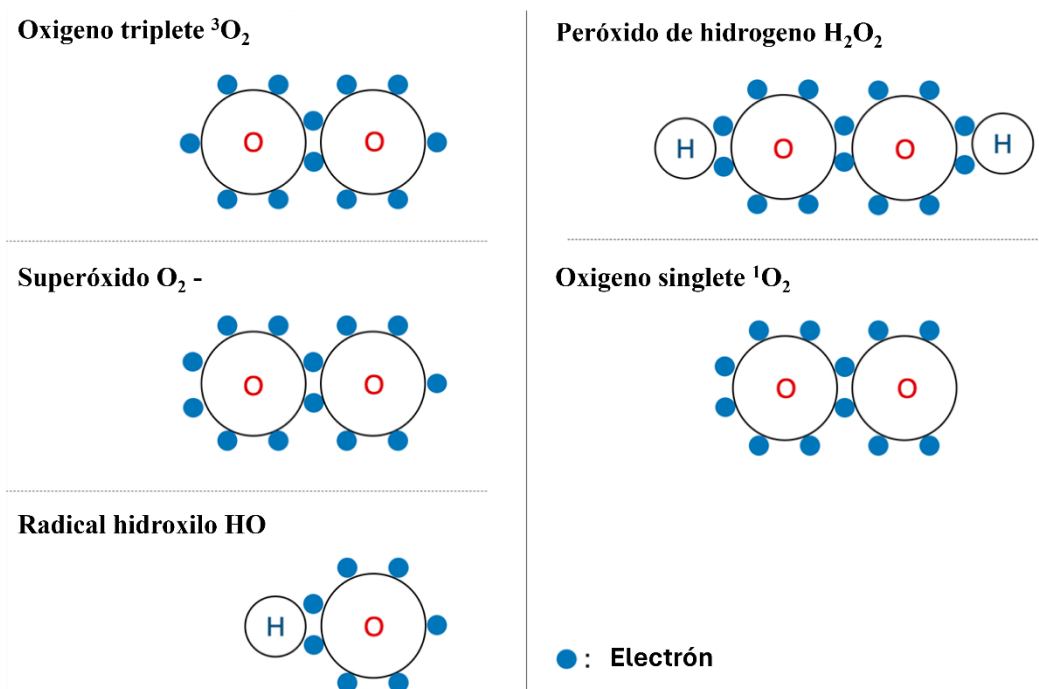
Quizá el efecto más dañino ocurre a nivel de ADN, donde los radicales libres producen mutaciones y carcinogénesis. De igual forma, se produce la pérdida de la expresión o síntesis de una proteína al dañarse el gen específico de la misma. Pueden llegar a producirse deleciones, fragmentaciones e interacciones inestables entre el ADN y las proteínas.

### **2.5.1. Especies Reactivas de Oxígeno**

Entre a los radicales libres, encontramos a las especies reactivas de oxígeno, o ROS. Pese a que el oxígeno es una sustancia vital para el desarrollo y supervivencia de todos los organismos vivos, resulta tóxico a los mismos bajo ciertas circunstancias. La presencia del oxígeno en una gran parte de los procesos normales de un organismo lleva a la formación de estas especies reactivas de oxígeno.

En la actualidad, se atribuyen los daños causados por la “toxicidad del oxígeno” a la capacidad de las ROS de actuar como radicales libres. El desbalance entre la producción de radicales libres, y la capacidad de una célula para combatir los efectos de estos, se conoce como estrés oxidativo. Este desbalance resulta vital para mantener la homeostasis, sin embargo, un estado de estrés oxidativo mantenido durante mucho tiempo ha sido relacionado con un incremento en el riesgo de padecer enfermedades crónico-degenerativas (Gerschman *et al.*, 1954).

Tal y como se mencionó anteriormente, el oxígeno es el responsable de la formación de algunos radicales libres, pues cuando este se encuentra presente en la atmosfera, dispone de dos electrones libres, siendo medianamente estable. Sin embargo, durante los procesos fisiológicos, los organismos vivos convierten este oxígeno atmosférico en compuestos más reactivos, las ROS, siendo los más conocidos, el oxígeno triplete y singlete, y el radical superóxido, entre otros, que pueden observarse en la Figura 4 (Yoshikawa y You, 2024).



**Figura 4.** Configuración de oxígeno y ROS  
**Referencia:** Yoshikawa y You, 2024

## 2.6. Antioxidantes

De igual forma que los compuestos oxidantes o radicales libres, existen los compuestos antioxidantes, destinados a combatir a estos últimos para mantener un equilibrio. Un antioxidante es toda sustancia que forma parte de los alimentos de consumo cotidiano y que puede los efectos negativos ocasionados por la interacción de los radicales libres con las moléculas del cuerpo. Se emplean en la industria alimentación, adicionados a productos de consumo para promover el retraso del estrés oxidativo en el consumidor, o bien, para retrasar la pérdida de propiedades organolépticas debido a la rancidez oxidativa. (Coronado *et al.*, 2015).

Para Aguilar-Paredes *et al.* (2018), los antioxidantes son considerados como cualquier sustancia que presente en bajas concentraciones tiene la capacidad de retrasar o inhibir la oxidación. Los antioxidantes pueden actuar de diversas maneras.

- Disminuyendo la concentración de oxidantes.
- Evitando la iniciación de la reacción en cadena al “barrer” (cubrir o detener una

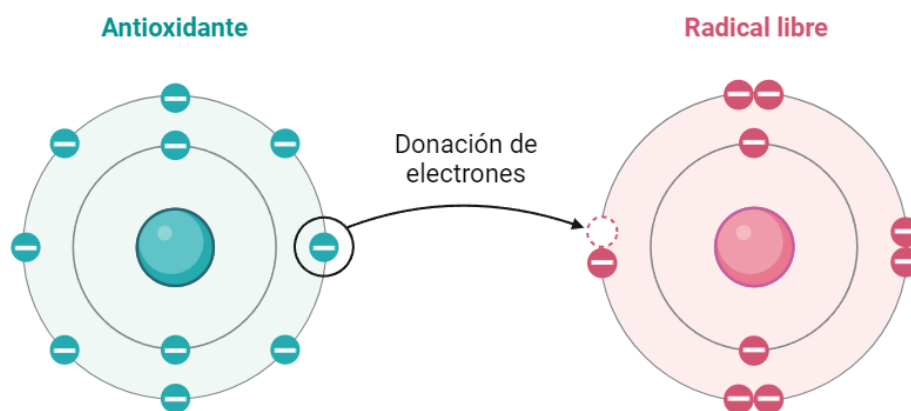
reactividad química muy alta), los primeros radicales libres que se forman.

c) Uniéndose a iones metálicos para evitar la formación de especies reactivas.

d) Transformando los peróxidos en productos menos reactivos.

e) Deteniendo la propagación y el aumento de radicales libres

Los mecanismos de acción de los antioxidantes son tan variados como tipos de estos hay, y el empleo de uno u otro depende exclusivamente de la finalidad del producto elaborado. Los antioxidantes alimentarios, por norma general, deben ser inocuos para la salud. Los antioxidantes funcionan compitiendo por las sustancias a oxidar, capturando radicales o cediendo electrones a los mismos, estabilizándolos (Figura 5). Estas acciones no son indefinidas, pues se llega a un punto de saturación, por lo cual es necesaria la reposición de estos. (Jamanca Gonzáles y Alfaro Cruz, 2017).

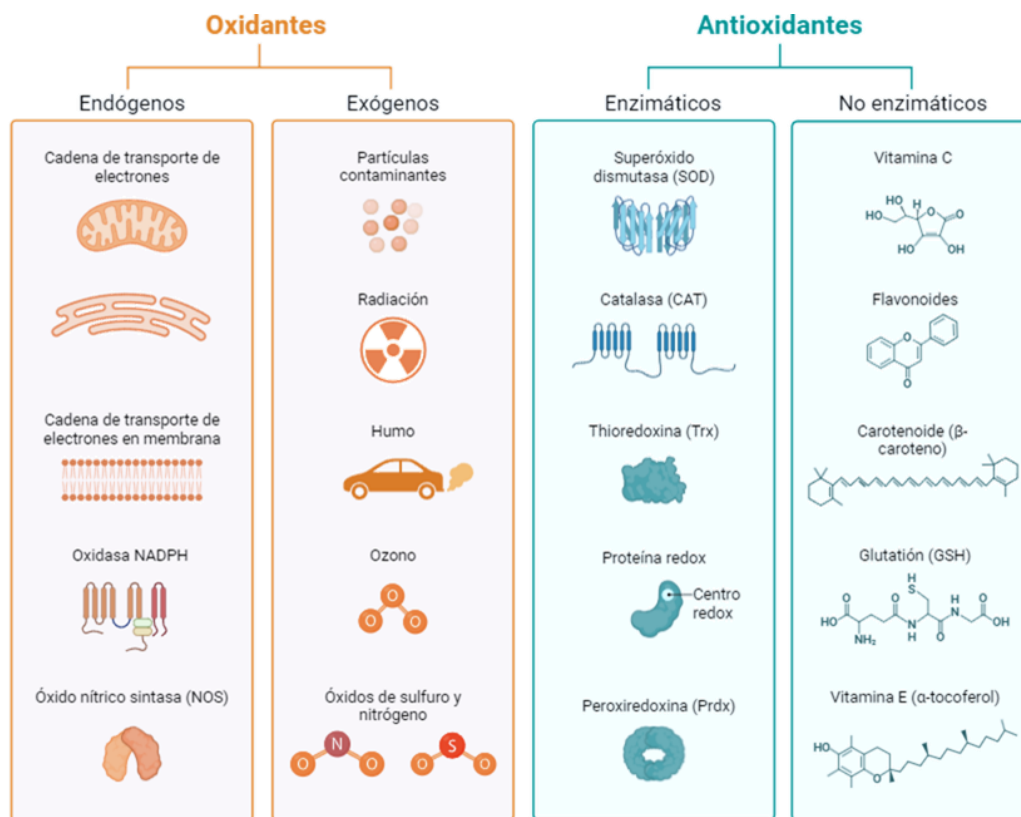


**Figura 5.** Antioxidante como donador de electrones

Las frutas y verduras son ricas en antioxidantes, que ayudan a neutralizar el exceso de radicales libres junto con los antioxidantes producidos por el propio cuerpo. Estudios han demostrado que los antioxidantes presentes en los alimentos, como los flavonoides, la vitamina C y la vitamina E, son eficaces en sistemas biológicos como las lipoproteínas, el plasma y las células cultivadas.

La vitamina C ayuda a prevenir la oxidación de lípidos y proteínas en el plasma humano al exponerse este a estrés oxidativo. La vitamina E, por su parte, funge como un antioxidante que detiene el proceso de lipoperoxidación. Además de lo anterior mencionado, los compuestos antioxidantes, al igual que los oxidantes, provienen de fuentes diversas, tanto endógenas como

exógenas, tal y como se ilustra en la Figura 6. Es por esto, que en la actualidad se busca incrementar la cantidad de alimentos funcionales disponibles, con el fin de aumentar el consumo de antioxidantes alimentarios. Lo anterior, puede llegar a tener múltiples efectos sobre la salud general de la población, tales como la reducción del riesgo de padecer enfermedades crónicas, al reducir los efectos de los radicales libres por medio de la alimentación. El consumo continuo de compuestos con actividad antioxidante ha demostrado tener relación con la prevención de enfermedades crónico-degenerativas, así como en la prevención de afecciones cardíacas y metabólicas (Jamshidi-Kia *et al.*, 2020). Además de las vitaminas antes mencionadas y como puede ser observado en la Figura 6, los antioxidantes alimentarios, en su mayoría, pertenecen al grupo de los polifenoles.



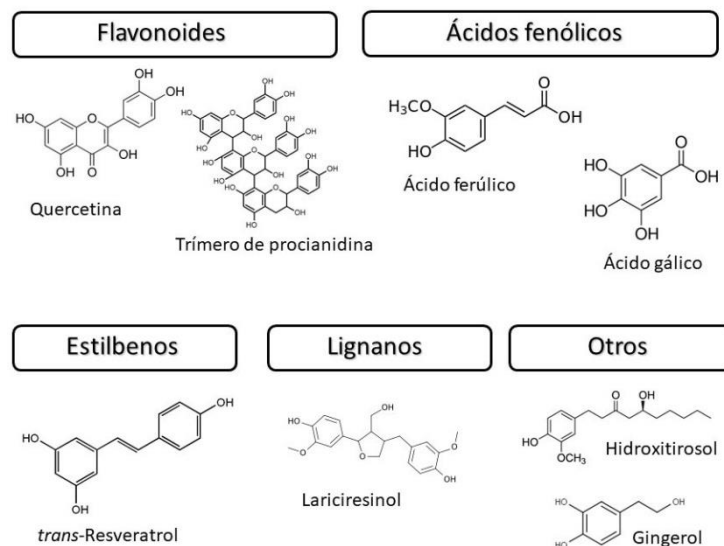
**Figura 6.** Fuentes de oxidantes y antioxidantes  
**Referencia:** Han *et al.*, 2021

## 2.7. Polifenoles

Los compuestos fenólicos o polifenoles son un grupo abundante de antioxidantes naturales que se encuentran en frutas, verduras y cereales. Su consumo se ha relacionado con beneficios para la salud, como una menor incidencia de enfermedades cardiovasculares y ciertos tipos de cáncer, según estudios epidemiológicos. Estos presentan estructuras variadas, desde moléculas simples hasta polímeros complejos, que incluyen uno o más grupos funcionales. Esto da lugar a diferentes subclases en las cuales estos compuestos se agrupan por similitud estructural y funcional, como se observa en la Figura 7. Algunos de los grupos mayores son:

- Flavonoides: Incluyen antocianinas, flavonoles, flavonas, flavanonas, chalconas, dihidrochalconas, isoflavonas y flavan-3-oles.
- Fenilpropanoides: Incluyen derivados de ácidos hidroxicinámicos (cafeico, ferúlico, sinápico, p-cumárico).
- Estilbenoides: Incluyen resveratrol.
- Derivados del benzoico: Incluyen ácido gálico y elágico.

Existen más de 5000 flavonoides diferentes en la naturaleza. Los polifenoles, además de sus propiedades antioxidantes y bioactivas, contribuyen a las propiedades sensoriales (sabor, aroma, color) de los alimentos vegetales y, por lo tanto, influyen en su calidad. (Tomás-Barberán, 2003).



**Figura 7.** Estructuras químicas representativas de las distintas clases de polifenoles de la dieta  
**Referencia:** Pérez-Jiménez, 2019

Los compuestos fenólicos destacan por sus propiedades antioxidantes, la cual se puede atribuir a dos factores. El primero de estos es la susceptibilidad de los mismos a la oxidación, lo cual resulta en la estabilización de radicales libres sin que estas lleguen a afectar a estructuras o moléculas de importancia. Además de lo anterior, los fenoles inhiben la capacidad de los metales de catalizar reacciones de oxidación, por lo cual, ralentizan o disminuyen la formación de nuevos radicales libres, esto es, reducen los niveles de estas especies reactivas mediante un mecanismo en el que capturan y dispersan los electrones libres de los radicales, donando un átomo de hidrógeno. Esto genera un radical fenoxilo menos dañino para las células

Esta capacidad antioxidante puede evaluarse *in vitro* y usarse como un indicador indirecto de la actividad *in vivo*. La mayoría de los métodos para determinar capacidad antioxidante consisten en acelerar la oxidación en un sistema biológico. La capacidad antioxidante de un producto alimenticio está determinada por interacciones entre diferentes compuestos con diferentes mecanismos de acción. Por esto mismo, la determinación de la capacidad antioxidante de extractos complejos se lleva a cabo usualmente por diferentes métodos complementarios, que evalúen diversos mecanismos de acción (Mercado-Mercado *et al.*, 2013).

Así pues, si bien los radicales libres en el cuerpo pueden causar daño oxidativo a moléculas como lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, lo que contribuye al desarrollo de enfermedades

degenerativas, los compuestos fenólicos pueden neutralizar estos radicales libres y desempeñar un papel importante en la regulación de la desintoxicación enzimática, la estimulación del sistema inmunitario, reducción de la agregación plaquetaria y la modulación del metabolismo hormonal (Muñoz-Jáuregui *et al.*, 2007).

Las propiedades antes mencionadas se deben, principalmente, a la estructura química de los fenoles, en particular, a la presencia de grupos hidroxilo. Los grupos hidroxilo de los compuestos fenólicos interactúan con los electrones del anillo bencénico, lo que les confiere propiedades antioxidantes únicas. Además, pueden formar complejos con metales di o trivalentes, lo que tiene implicaciones nutricionales. Así, la presencia de estos grupos hidroxilo y su posición en la estructura tiene un gran impacto sobre la capacidad antioxidante del mismo (Gimeno-Creus, 2004). Sin embargo, a pesar de las grandes propiedades antioxidantes de estos compuestos, existe un factor a tener en cuenta, la biodisponibilidad de los mismos.

Los cambios en la estructura de los polifenoles, como la sulfatación o glucuronidación, pueden reducir su actividad antioxidante. U ejemplo de lo anterior, los glucurónidos de quercetina aun conserva gran parte de sus bioactividades, sin embargo, estas son menores que la de la quercetina en su forma original (Valencia-Avilés *et al.*, 2017).

### **2.7.1. Biodisponibilidad de los Polifenoles**

Cuando se consume un alimento con propiedades bioactivas debido a los polifenoles presentes en el mismo, la biodisponibilidad es crucial debido a que los polifenoles más abundantes no siempre son los más activos en el cuerpo. Esto puede deberse a una menor actividad intrínseca, baja absorción intestinal, alto metabolismo o rápida excreción.

La biodisponibilidad se define como la proporción de nutrientes que se digieren, absorben y metabolizan en el cuerpo con respecto a la totalidad de los que son consumidos, es decir, la eficiencia de aprovechamiento de estos. Es más importante conocer la cantidad de polifenoles biodisponibles en un alimento que la cantidad total presente (Pandey & Rizvi, 2009).

El metabolismo de los polifenoles generalmente implica una secuencia de reacciones similar a la desintoxicación metabólica de los xenobióticos (sustancias extrañas al cuerpo). El objetivo de este

metabolismo es reducir la toxicidad potencial, aumentar la hidrofobicidad y finalmente facilitar la excreción de estos a través de la orina o la bilis. La mayoría de los polifenoles en los alimentos se encuentran en formas no absorbibles, como ésteres, glucósidos o polímeros. (Quiñones *et al.*, 2012).

Tomando en cuenta lo descrito anteriormente, queda patente la necesidad de formular alimentos que aporten compuestos antioxidantes, con el fin de disminuir la incidencia de los daños causados por el estrés oxidativo. Es en este aspecto, donde las especies vegetales subutilizadas, como *Pachira aquatica* resultan prometedoras, al existir reportes previos de sus propiedades funcionales.

### **3. HIPÓTESIS**

Una galleta elaborada a partir de harina compuesta de pulpa y semilla de *P. aquatica* presenta propiedades nutrimentales, funcionales y estructurales que la vuelven una alternativa viable a una galleta convencional.

## 4. OBJETIVOS

### 4.1. Objetivo General

Elaborar una galleta funcional tipo cracker, a base de harina compuesta de semilla y pulpa de *P. aquatica* que presente un mayor contenido de fibra y una capacidad antioxidante más elevada que una galleta convencional.

### 4.2. Objetivos Específicos

- Caracterizar proximal y funcionalmente la pulpa y semilla de *P. aquatica*.
- Elaborar galletas empleando diferentes formulaciones de harina compuesta de trigo, maíz, pulpa y semilla de *P. aquatica*; caracterizar proximal y funcionalmente las mismas.
- Evaluar sensorialmente las diferentes galletas para conocer el nivel de aceptación

## 5. MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.1. Recolección de Muestras

Los frutos de *Pachira aquatica* empleados en el presente estudio se colectaron entre los meses de octubre 2022 – marzo 2023 en el ejido San Antonio (15°17'17.4"N 92°40'06.1"W), ubicado en el municipio de Escuintla, Chiapas (Figura 8).

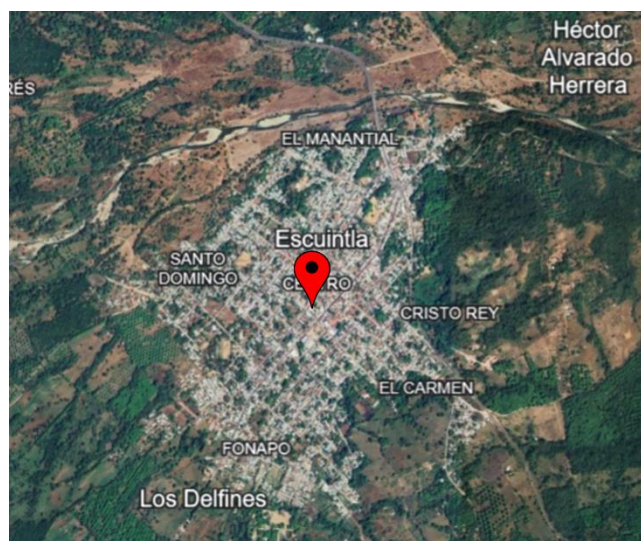


Figura 8. Vista satelital del sitio de colecta de los frutos  
**Referencia:** Google Earth, 2022

### 5.2. Preparación de Muestras

Los frutos colectados se lavaron, y a continuación se separaron la pulpa y la semilla del resto del fruto, y se sometieron a un tratamiento de conservación en una solución de metabisulfito de sodio al 0.16% para prevenir su oxidación. Posteriormente, ambas fracciones se deshidrataron en una estufa de secado (NOVATECH) a 50°C por 24 h. Las semillas deshidratadas se sometieron a un

proceso de horneado a 120°C por 20 min (NOVATECH). Finalmente, las dos fracciones, se trituraron y tamizaron empleando un tamiz para harinas #100 (TYLER) en un tamizador automático TYLER RO TAP.

### 5.2.1. Receta Base de Galletas Sustituídas con Harina de Pulpa y Semilla de *P. aquatica* (100 g).

Se diseñó una receta básica para las galletas, tal y como se muestra en el Cuadro 1. El nivel de agua se ajustó de acuerdo con las variaciones en absorción de agua de las harinas y condiciones ambientales.

**Cuadro 1.** Receta base para 100 g de harina para galletas

| <b>Ingrediente</b>         | <b>C0<br/>(Control)</b> | <b>C1 (Sust.<br/>70%)</b> | <b>C2 (Sust.<br/>50%)</b> | <b>C3 (Sust.<br/>30%)</b> | <b>C4 (Sust.<br/>100%)</b> |
|----------------------------|-------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|
| <b>Harina convencional</b> | 84.8 g                  | 25.5 g                    | 42.4 g                    | 59.4 g                    | 0.0 g                      |
| <b>Pulpa</b>               | 0.0 g                   | 7.4 g                     | 5.3 g                     | 3.2 g                     | 10.6 g                     |
| <b>Semilla</b>             | 0.0 g                   | 52.0 g                    | 37.1 g                    | 22.3 g                    | 74.2 g                     |
| <b>Azúcar</b>              | 1.9 g                   | 1.9 g                     | 1.9 g                     | 1.9 g                     | 1.9 g                      |
| <b>Sal</b>                 | 2.1 g                   | 2.1 g                     | 2.1 g                     | 2.1 g                     | 2.1 g                      |
| <b>Aceite Oliva</b>        | 11.1 g                  | 11.1 g                    | 11.1 g                    | 11.1 g                    | 11.1 g                     |

### 5.3. Obtención de Extractos de Harinas para Ensayos de Capacidad Antioxidante

Cada muestra se trabajó por separado, colocando 0.1 g en tubos Falcon de 50 mL y se adicionaron 25 mL de cada solvente (agua destilada, metanol y etanol). El tubo con muestra se agitó en un agitador Eppendorf ThermoMix a 1000 rpm 25°C por 60 min protegido de la luz. Después las muestras se centrifugaron durante 20 min a 5000 rpm (Eppendorf) y el sobrenadante se transfirió a tubos de vidrio de color ámbar y se almacenó en congelación hasta su uso.

#### 5.4. Obtención de Extractos de Galletas para Ensayos de Capacidad Antioxidante

Cada muestra se trabajó por separado mediante dos métodos de extracción. Primeramente, utilizando maceración, se colocó 1 g de muestra en tubos Falcon de 15 mL, agregándose 5 mL de cada solvente a emplear: agua destilada, metanol, etanol. Con respecto a la extracción por ultrasonido, se colocó 1 g de muestra en tubos de cristal ámbar de 10 mL, y se añadieron 5 mL de cada solvente de extracción. Los tubos Falcon se agitaron durante 30 minutos a 40°C, y los tubos ámbar se sonicaron bajo las mismas condiciones. Los tubos se centrifugaron a 10 °C/3500 rpm durante 15 minutos. El sobrenadante se colocó en viales Eppendorf de 2 mL, y se congelaron hasta su uso.

#### 5.5. Análisis de la Composición Nutrimental

La composición nutrimental se obtuvo en muestras de semilla, pulpa, harina compuesta de pulpa-semilla, y en galletas. El análisis proximal o nutrimental de un alimento, en este caso de las harinas y galletas elaboradas es de suma importancia por la información que brinda acerca de los macronutrientes obtenidos, así como del contenido calórico del mismo. Para determinar la composición nutrimental de las muestras indicadas, se siguieron los métodos oficiales de la A.O.A.C (2002): humedad (925.10), lípidos (920.39), cenizas totales (923.03), fibra (962.09), proteína (920.87). El contenido de carbohidratos asimilables se calculó por diferencia:  $100\% - (\% \text{lípidos} + \% \text{cenizas} + \% \text{fibra} + \% \text{proteínas})$ .

#### 5.6. Propiedades Tecnofuncionales de las Harinas de Pulpa y Semilla

Las propiedades tecnofuncionales de las harinas señalan la capacidad de estas de absorber y retener agua y aceite. Estas propiedades tienen influencia directa en los niveles de leudado y percepción

de los sabores al momento de formulación de un producto de panificación. Los análisis se llevaron a cabo de acuerdo con la metodología reportada por Vargas *et al.* (2018), con ligeras modificaciones y a continuación se describen.

#### **5.6.1. Determinación de Capacidad de Hinchamiento de Las Harinas**

Se colocaron 1.5 g de harina en un tubo Falcón de 50 mL. Posteriormente, se añadieron 30 mL de agua destilada y el tubo se agitó manualmente. A continuación, el tubo se dejó en reposo durante 24 horas a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo, se midió el volumen alcanzado por la muestra, expresando el resultado en mL/g.

#### **5.6.2. Determinación de Capacidad de Retención de Agua**

Se colocó 1 g de harina en un tubo Falcón de 50 mL, seguido de la adición de 30 mL de agua. El tubo se agitó manualmente, y se dejó en reposo por un lapso de 18 horas. Transcurrido dicho tiempo, el tubo se centrifugó a 2000 rpm por 30 minutos, empleando una centrifuga Eppendorf 5804 R.

El sobrenadante se desechó, y el residuo sólido se colocó en una charola previamente ajustada a peso constante para proceder a su deshidratación en una incubadora Felisa FE-131 a 105°C por 20 horas. El residuo seco se pesó y la capacidad de retención de agua se expresó en g/g.

#### **5.6.3. Determinación de Capacidad de Absorción de Agua**

Se colocaron 0.5 g de harina en un tubo Falcón de 50 mL, y posteriormente se añadieron 10 mL de agua. El tubo se sometió a agitación mecánica durante 30 min en un agitador Boekel Scientific

260350. Transcurrido este tiempo, el tubo se centrifugó a 3000 rpm por 10 minutos, empleando una centrifuga marca Eppendorf 5804 R. El sedimento se pesó y la capacidad de absorción de agua se expresó en g/g.

#### **5.6.4. Determinación de Capacidad de Absorción de Aceite**

Se colocó 1 g de harina en un tubo Falcón de 50 mL, posteriormente se añadieron 10 mL de aceite. El tubo se agitó durante 30 minutos empleando un agitador mecánico Boekel Scientific 260350. Transcurrido el tiempo requerido, el tubo se centrifugó a 4750 rpm por 30 minutos, empleando una centrifuga marca Eppendorf 5804 R. El sobrenadante se midió, y se obtuvo la capacidad de absorción de aceite por diferencia con el volumen añadido inicialmente. La capacidad de absorción de aceite se expresó en mL/g.

### **5.7. Determinación de Propiedades Bioactivas de Harinas y Galletas de *P. aquatica***

Las propiedades bioactivas de un alimento comprenden aquellos efectos que se producen al consumirlos de forma prolongada. Una de las propiedades más estudiadas en alimentos, es la capacidad antioxidante. Además de lo anterior, la determinación de la cantidad de compuestos fenólicos totales, así como la identificación de estos son habituales para brindar una posible explicación a las bioactividades observadas.

#### **5.7.1. Determinación de Compuestos Fenólicos Totales**

De los extractos antes indicados se cuantificó el contenido de compuestos fenólicos totales mediante el método de Folin-Ciocalteu, siguiendo la metodología propuesta por López-Martínez *et al.*, (2014). Se mezclaron los extractos etanólicos, metanólicos y acuosos con 20 µL de carbonato

de sodio, 20  $\mu\text{L}$  del reactivo Folin-Ciocalteu, 125  $\mu\text{L}$  de agua destilada. Se midió la absorbancia de las muestras a 790 nm empleando un lector de microplacas Thermo Scientific Multiskan GO. El ensayo se realizó por duplicado y los resultados se expresaron en miligramos de equivalentes de ácido gálico por gramo de materia seca (mg EAG/gms).

### **5.7.2. Determinación de Capacidad Antioxidante de Harina y Galletas por Ensayo DPPH**

Se determinó la capacidad antioxidante de harinas y galletas empleando los ensayos DPPH (2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo) y ABTS (Ácido 2, 2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico). El radical DPPH se preparó a una concentración de 60  $\mu\text{M}$ , de acuerdo con la metodología de López-Martínez *et al.*, (2014). Se mezclaron 7  $\mu\text{L}$  de extracto (etanólico, metanólico o acuoso) con 193  $\mu\text{L}$  de muestra. La mezcla se dejó reaccionar en oscuridad durante 30 minutos y se leyó. La absorbancia se midió a una longitud de onda de 517 nm en un lector de microplacas (Thermo Scientific Multiskan GO). Además de las muestras, se leyeron un control (DPPH-etanol) y un blanco (Etanol). Los análisis se realizaron por duplicado, y los resultados se expresaron en miligramos de equivalentes Trolox por gramo de materia seca (mg ET/gms).

### **5.7.3. Determinación de Capacidad Antioxidante de Harina y Galletas por Ensayo ABTS**

La actividad antioxidante por el método ABTS se realizó de la siguiente manera: el radical se preparó a una concentración de 7  $\mu\text{M}$ , y se mezcló con persulfato de potasio a partes iguales. La mezcla se dejó reaccionar durante 16 horas en un frasco ámbar a temperatura ambiente. La solución se ajustó con etanol hasta obtener una absorbancia de 0.8-0.9 nm. Para el ensayo, se colocaron 10  $\mu\text{L}$  de extracto y 190  $\mu\text{L}$  de solución ABTS, dejando reaccionar durante 1 minuto. Se realizó la lectura a 734 nm en un lector de microplacas Thermo Scientific Multiskan GO (López-Martínez *et al.*, 2014). Para este ensayo, se leyó un control (ABTS) y un blanco (Etanol). Los análisis se realizaron por duplicado y los resultados se expresaron en miligramos de equivalentes Trolox por gramo de materia seca (mg ET/gms).

## 5.8. Ultraestructura de Galletas con Harinas de *P. aquatica* por Microscopia Electrónica de Barrido

Las muestras se liofilizaron por 24 h, y se molieron en un mortero. El resultante se fijó en una película de oro con un grosor de 25 nm. Las películas se observaron a una distancia de operación de 8 mm y a una aceleración de voltaje de 5 kV en un microscopio electrónico de barrido JEOL IT300. Se obtuvieron imágenes por electrones dispersos y condensados. Las imágenes se tomaron por triplicado, para posteriormente seleccionar la mejor (Rathore *et al.*, 2019).

## 5.9. Análisis de Textura de Galletas con Harinas de *P. aquatica*

Para la evaluación de las propiedades de textura en las galletas se utilizó un analizador de textura Stable Micro Systems TAXTPlus con una celda de carga de 30 kg. Los ensayos de compresión se realizaron con una sonda cilíndrica P/25 ( $\varnothing = 25$  mm) a una velocidad de descenso de 1 mm/s con una fuerza de 10 g. Los parámetros medidos son: dureza (g), definida como el valor máximo de la fuerza requerido para romper la galleta y la distancia lineal a la fuerza de ruptura se tomó como una referencia de la fracturabilidad (mm) calculada como área bajo la curva. Además, se midió el área bajo la curva como una medida del trabajo (g · s) realizado en el ensayo (Di Cairano *et al.*, 2021).

## 5.10. Análisis Sensorial de Galletas con Harinas de *P. aquatica*

El análisis sensorial se realizó bajo el esquema de prueba afectiva con panel de consumidores, siguiendo lo propuesto por Benítez *et al.*, (2008), con algunas modificaciones. El análisis se llevó a cabo alrededor de las 11 am, procurando un lapso de 1.5 a 2 horas tras la última ingesta de alimento de una población de 70 individuos seleccionados al azar de distintos puntos de la ciudad de Delicias, Chihuahua. Se determinó el nivel de aceptación del producto empleando una escala

hedónica de 9 niveles, evaluando color, olor, sabor, textura, sensación en boca y aceptabilidad general. Se evaluaron además los factores de sexo y edad, con el fin de poder realizar un perfil de consumidor.

#### 5.11. Digestibilidad de Proteínas de Galletas con Harinas de *P. aquatica*

Se determinó el porcentaje de proteína tras someter las muestras a una simulación de digestión gastrointestinal. Para esto, se cuantificó la proteína en los sobrenadantes de la fase intestinal según la metodología propuesta por Xie *et al.*, (2022). La proteína en las muestras se determinó utilizando el kit BCA Protein Assay Kit (Pierce, Rockford, IL, EUA) siguiendo las instrucciones indicadas por el fabricante. La digestibilidad de las proteínas se calculó mediante la Ecuación 1.

$$Digestibilidad (\%) = \frac{W0 - W1}{W0} \times 100 \quad (Ec. 1)$$

Donde W0 es el contenido de proteína en las muestras antes de la digestión (análisis nutrimental) y W1 es el contenido de proteína después de la fase intestinal (cuantificada por el método de BCA).

#### 5.12. Diseño Experimental

Para todos los casos se manejó un diseño completamente al azar. El arreglo específico se detalla a continuación, según la etapa y análisis realizado.

##### 5.12.1 Etapa 1: Análisis Previos de las Harinas

5.12.1.1 Análisis nutrimental y tecnofuncional de las harinas: El análisis nutrimental y tecnofuncional se realizó siguiendo la metodología indicada. Para ello, se empleó un diseño completamente al azar, con un arreglo factorial 3x2, como se observa en el Cuadro 2 y Cuadro 3.

**Cuadro 2.** Diseño 3x2 para análisis nutrimental

| Harina  | Estado de madurez |       |        |
|---------|-------------------|-------|--------|
|         | Verde             | Sazón | Maduro |
| Pulpa   | P1                | P2    | P3     |
| Semilla | S1                | S2    | S3     |

**Cuadro 3.** Matriz Box-Behnken para análisis nutrimental

| Secuencia | Factores |                   |
|-----------|----------|-------------------|
|           | Harina   | Estado de madurez |
| 1         | -1       | -1                |
| 2         | 1        | 0                 |
| 3         | -1       | 0                 |
| 4         | 1        | -1                |
| 5         | 1        | 1                 |
| 6         | -1       | 1                 |

Donde 1: pulpa; -1: semilla para la columna de harina, mientras que -1: verde; 0: sazón; 1: maduro para la columna de estado de madurez.

Todos los análisis fueron realizados en orden aleatorio, el cual fue obtenido mediante números aleatorios (Excel), con tres repeticiones por cada medición.

5.12.1.2 Diseño experimental para determinación de capacidad antioxidante de las harinas: La capacidad antioxidante fue realizada siguiendo la metodología indicada, teniendo como factores la fracción del fruto, el estado de madurez de este y el solvente empleado para la extracción. De acuerdo con lo anterior, se empleó un diseño factorial 3x2x3 para la preparación de los extractos, los cuales serán analizados por los métodos ABTS, DPPH, así como la determinación de fenoles totales, tal y como se indica en los Cuadros 4 y 5.

**Cuadro 4.** Diseño 3x2x3 para determinación de capacidad antioxidante de las harinas

| <b>Muestra</b> | <b>Estado de madurez</b> | <b>Solvente</b> |                |             |
|----------------|--------------------------|-----------------|----------------|-------------|
|                |                          | <b>Etanol</b>   | <b>Metanol</b> | <b>Agua</b> |
| <b>Pulpa</b>   | <b>Verde</b>             | PVE             | PVM            | PVA         |
|                | <b>Sazón</b>             | PSE             | PSM            | PSA         |
|                | <b>Maduro</b>            | PME             | PMM            | PMA         |
| <b>Semilla</b> | <b>Verde</b>             | SVE             | SVM            | SVA         |
|                | <b>Sazón</b>             | SSE             | SSM            | SSA         |
|                | <b>Maduro</b>            | SME             | SMM            | SMA         |

Las etiquetas mostradas se conforman: Primera letra de muestra (P, S); primera letra de estado de madurez (V, S, M); primera letra de solvente empleado (E, M, A).

**Cuadro 5.** Matriz Box-Behnken, diseño factorial 3<sup>3</sup> etapa 1

| <b>Secuencia</b> | <b>Factores</b> |                          |                 |
|------------------|-----------------|--------------------------|-----------------|
|                  | <b>Harina</b>   | <b>Estado de madurez</b> | <b>Solvente</b> |
| <b>1</b>         | -1              | -1                       | -1              |
| <b>2</b>         | -1              | 0                        | -1              |
| <b>3</b>         | -1              | 1                        | -1              |
| <b>4</b>         | -1              | -1                       | 0               |
| <b>5</b>         | -1              | 0                        | 0               |
| <b>6</b>         | -1              | 1                        | 0               |
| <b>7</b>         | -1              | -1                       | 1               |
| <b>8</b>         | -1              | 0                        | 1               |
| <b>9</b>         | -1              | 1                        | 1               |
| <b>10</b>        | 1               | -1                       | -1              |
| <b>11</b>        | 1               | 0                        | -1              |
| <b>12</b>        | 1               | 1                        | -1              |
| <b>13</b>        | 1               | -1                       | 0               |
| <b>14</b>        | 1               | 0                        | 0               |
| <b>15</b>        | 1               | 1                        | 0               |
| <b>16</b>        | 1               | -1                       | 1               |
| <b>17</b>        | 1               | 0                        | 1               |
| <b>18</b>        | 1               | 1                        | 1               |

Donde 1: pulpa; -1: semilla para la columna de harina; -1: verde; 0: sazón; 1: maduro para la columna de estado de madurez; -1: etanol; 0: metanol; 1: agua para la columna de solvente.

Todos los análisis fueron realizados en orden aleatorio, el cual fue obtenido mediante números aleatorios (Excel), con tres repeticiones por cada medición.

### 5.12.2 Etapa 2: Composición Nutrimental de las Galletas

5.12.2.1 Diseño experimental para análisis nutrimental de las galletas: Se diseñaron 13 diferentes formulaciones con diferentes grados de sustitución, y se evaluó la composición nutrimental de las mismas bajo un diseño completamente al azar, de un solo factor con 13 niveles, el cual se detalla en el Cuadro 6.

**Cuadro 6.** Diseño de formulaciones de galletas parcialmente sustituidas

| <b>Etiqueta</b> | <b>Harina de trigo</b> | <b>Harina de maíz</b> | <b>Harina <i>P. aquatica</i></b> | <b>Harina <i>P. aquatica</i> sin pulpa</b> |
|-----------------|------------------------|-----------------------|----------------------------------|--------------------------------------------|
| <b>A0</b>       | 100%                   | 0%                    | 0%                               | 0%                                         |
| <b>A1</b>       | 30%                    | 0%                    | 70%                              | 0%                                         |
| <b>A2</b>       | 50%                    | 0%                    | 50%                              | 0%                                         |
| <b>A3</b>       | 70%                    | 0%                    | 30%                              | 0%                                         |
| <b>B0</b>       | 0%                     | 100%                  | 0%                               | 0%                                         |
| <b>B1</b>       | 0%                     | 30%                   | 70%                              | 0%                                         |
| <b>B2</b>       | 0%                     | 50%                   | 50%                              | 0%                                         |
| <b>B3</b>       | 0%                     | 70%                   | 30%                              | 0%                                         |
| <b>B4</b>       | 0%                     | 0%                    | 100%                             | 0%                                         |
| <b>C1</b>       | 0%                     | 30%                   | 0%                               | 70%                                        |
| <b>C2</b>       | 0%                     | 50%                   | 0%                               | 50%                                        |
| <b>C3</b>       | 0%                     | 70%                   | 0%                               | 30%                                        |
| <b>C4</b>       | 0%                     | 0%                    | 0%                               | 100%                                       |

Todos los análisis fueron realizados en orden aleatorio, el cual fue obtenido mediante números aleatorios (Excel), con tres repeticiones por cada medición.

### 5.12.3 Etapa 3: Análisis Estructurales y de Aceptación

5.12.3.1 Diseño experimental para análisis de ultraestructura por MEB: Se obtuvieron micrografías de las 5 mejores formulaciones. Se empleó un diseño completamente al azar, de un solo factor con 5 niveles. Las micrografías fueron realizadas de forma aleatoria, con 3 repeticiones por tratamiento,

empleando 2 diferentes aumentos y dos métodos de fotografía. Únicamente son presentadas las mejores micrografías, bajo las mejores condiciones.

5.12.3.2 Diseño experimental para análisis de perfil de textura: Se obtuvo el perfil de textura de las 5 mejores formulaciones, empleando un diseño completamente al azar, de un solo factor con 5 niveles. Las pruebas de textura fueron realizadas de forma aleatoria, con 6 repeticiones por tratamiento.

5.12.3.3. Diseño experimental para análisis de aceptación sensorial: Se obtuvo el perfil de aceptación de las 5 mejores formulaciones, empleando un diseño completamente al azar, de un solo factor con 5 niveles. Las pruebas de percepción sensorial fueron realizadas a una muestra seleccionada de forma aleatoria, con 70 individuos (repeticiones).

#### **5.12.4. Etapa 4: Propiedades Funcionales y Digestibilidad**

5.12.4.1. Diseño experimental para determinación de capacidad antioxidante de las galletas: La determinación de capacidad antioxidante se llevará a cabo empleando un diseño factorial 5x3 para la preparación de los extractos, los cuales serán analizados por los métodos ABTS, DPPH, así como la determinación de fenoles totales siguiendo la metodología indicada en la sección correspondiente, tal y como se observa los Cuadros 7 y 8.

**Cuadro 7.** Diseño factorial 5x3 para determinación de capacidad antioxidante de galletas

| <b>Formulación</b> | <b>Solvente</b> | <b>Método de extracción</b> |                   |
|--------------------|-----------------|-----------------------------|-------------------|
|                    |                 | <b>Ultrasonido</b>          | <b>Maceración</b> |
| <b>B0</b>          | <b>Etanol</b>   | B0EU                        | B0EM              |
|                    | <b>Metanol</b>  | B0MU                        | B0MM              |
|                    | <b>Agua</b>     | B0AU                        | B0AM              |
| <b>B1</b>          | <b>Etanol</b>   | B1EU                        | B1EM              |
|                    | <b>Metanol</b>  | B1MU                        | B1MM              |
|                    | <b>Agua</b>     | B1AU                        | B1AM              |
| <b>B2</b>          | <b>Etanol</b>   | B2EU                        | B2EM              |
|                    | <b>Metanol</b>  | B2MU                        | B2MM              |
|                    | <b>Agua</b>     | B2AU                        | B2AM              |
| <b>B3</b>          | <b>Etanol</b>   | B3EU                        | B3EM              |
|                    | <b>Metanol</b>  | B3MU                        | B3MM              |
|                    | <b>Agua</b>     | B3MU                        | B3MM              |
| <b>B4</b>          | <b>Etanol</b>   | B4EU                        | B4EM              |
|                    | <b>Metanol</b>  | B4MU                        | B4MM              |
|                    | <b>Agua</b>     | B4AU                        | B4AM              |

**Cuadro 8.** Matriz Box-Benhken para determinación de capacidad antioxidante

| Secuencia | Factores    |          |                      |
|-----------|-------------|----------|----------------------|
|           | Formulación | Solvente | Método de extracción |
| 1         | -2          | -1       | -1                   |
| 2         | -2          | 0        | -1                   |
| 3         | -2          | 1        | -1                   |
| 4         | -2          | -1       | 1                    |
| 5         | -2          | 0        | 1                    |
| 6         | -2          | 1        | 1                    |
| 7         | -1          | -1       | -1                   |
| 8         | -1          | 0        | -1                   |
| 9         | -1          | 1        | -1                   |
| 10        | -1          | -1       | 1                    |
| 11        | -1          | 0        | 1                    |
| 12        | -1          | 1        | 1                    |
| 13        | 0           | -1       | -1                   |
| 14        | 0           | 0        | -1                   |
| 15        | 0           | 1        | -1                   |
| 16        | 0           | -1       | 1                    |
| 17        | 0           | 0        | 1                    |
| 18        | 0           | 1        | 1                    |
| 19        | 1           | -1       | -1                   |
| 20        | 1           | 0        | -1                   |
| 21        | 1           | 1        | -1                   |
| 22        | 1           | -1       | 1                    |
| 23        | 1           | 0        | 1                    |
| 24        | 1           | 1        | 1                    |
| 25        | 2           | -1       | -1                   |
| 26        | 2           | 0        | -1                   |
| 27        | 2           | 1        | -1                   |
| 28        | 2           | -1       | 1                    |
| 29        | 2           | 0        | 1                    |
| 30        | 2           | 1        | 1                    |

Todos los análisis fueron realizados en orden aleatorio, el cual fue obtenido mediante números aleatorios (Excel), con cuatro repeticiones por cada medición.

#### 5.12.5. Análisis de Datos

Los datos obtenidos se analizaron empleando el software estadístico SAS Versión Online,

obteniendo las medidas de estadística descriptiva y de dispersión. Se llevó a cabo una prueba ANOVA de una vía, así como una separación de medias por los métodos Dunnet y Tukey, para conocer las diferencias entre cada una de las formulaciones, así como contra el testigo. Los análisis antes mencionados se realizaron con un  $\alpha \leq 0.05$ .

## 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1. Composición Nutrimental de las Semillas, Cubierta de Semilla, Pulpa y Cáscara de *P. aquatica* en Distintos Estados de Madurez.

Se recolectaron 30 frutos en el municipio de Escuintla, Chiapas, a saber, 10 frutos en cada estado de madurez a analizar (verde, sazón, maduro), los cuales se emplearon para la caracterización nutrimental, donde se evaluó el contenido de humedad, cenizas totales, lípidos, proteína y fibra cruda. Entre los resultados obtenidos destacan los correspondientes al fruto maduro, donde se obtuvo  $10.36 \pm 0.28\%$  de lípidos para semilla, así como  $34.50 \pm 1.50\%$  para fibra en pulpa de fruto verde, resultados que se separan significativamente de los obtenidos para las mismas partes en los otros estadios de madurez, Cuadros 9 y 10.

**Cuadro 9.** Composición nutrimental de pulpa de *P. aquatica*

| Tratamientos | %Humedad              | %Cenizas          | % Lípidos         | % Proteína         | % Fibra            |
|--------------|-----------------------|-------------------|-------------------|--------------------|--------------------|
| <b>P1</b>    | $85.49 \pm 0.20^{ab}$ | $5.04 \pm 0.11^c$ | $0.87 \pm 0.06^a$ | $10.42 \pm 0.41^a$ | $27.33 \pm 0.53^b$ |
| <b>P2</b>    | $85.11 \pm 0.13^b$    | $6.12 \pm 0.18^b$ | $1.06 \pm 0.25^a$ | $10.31 \pm 0.48^a$ | $24.09 \pm 1.56^c$ |
| <b>P3</b>    | $85.65 \pm 0.25^a$    | $6.61 \pm 0.17^a$ | $0.69 \pm 0.13^a$ | $9.76 \pm 0.67^a$  | $34.50 \pm 1.50^a$ |

\*P1 (pulpa fruto verde), P2 (pulpa fruto sazón), P3 (pulpa fruto maduro). Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadística ( $p < 0.05$ ).

El análisis nutrimental de las partes del fruto de *P. aquatica* demostró los resultados mostrados en las Cuadros 9 y 10. Tras el análisis de humedad, los resultados observados en los cuadros, para el caso semilla, las muestras de fruto sazón y maduro no muestran diferencia estadística, sin embargo, se encuentra diferencia con respecto a la muestra de fruto verde. Los valores encontrados para pulpa presentan diferencia estadística entre cada estadio de madurez. Los valores concuerdan con los esperados para un fruto, encontrándose entre los rangos normales para frutas (70%-95%). Destaca sobre todo el alto contenido de humedad presente en la semilla.

**Cuadro 10.** Composición nutrimental de semilla de *P. aquatica*

| Tratamientos | %Humedad                | %Cenizas               | % Lípidos               | % Proteína              | % Fibra                 |
|--------------|-------------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| <b>S1</b>    | 78.10±0.63 <sup>a</sup> | 6.05±0.12 <sup>a</sup> | 9.44±0.29 <sup>b</sup>  | 14.53±1.30 <sup>a</sup> | 6.18±0.22 <sup>a</sup>  |
| <b>S2</b>    | 72.11±0.66 <sup>b</sup> | 5.72±0.12 <sup>a</sup> | 8.97±0.33 <sup>b</sup>  | 5.47±0.73 <sup>c</sup>  | 4.89±0.83 <sup>ab</sup> |
| <b>S3</b>    | 72.14±0.53 <sup>b</sup> | 5.22±0.20 <sup>b</sup> | 10.36±0.28 <sup>a</sup> | 8.40±0.31 <sup>b</sup>  | 4.47±0.47 <sup>b</sup>  |

\*S1 (semilla fruto verde), S2 (semilla fruto sazón), S3 (semilla fruto maduro). Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadística ( $p < 0.05$ )

Los resultados para lípidos presentan una gran diferencia según la parte del fruto analizada, destacando en gran medida el contenido encontrado para semilla,  $9.44 \pm 0.29\%$ ,  $8.97 \pm 0.33\%$ ,  $10.36 \pm 0.28\%$  para verde, sazón y maduro, respectivamente. Con un método de extracción adecuado, esto representaría una fuente alternativa de lípidos, principalmente ácido palmítico, esteárico y oleico.

El contenido proteico encontrado, de acuerdo con los resultados obtenidos, varía notablemente durante la maduración del fruto, destacando el porcentaje de proteína encontrado en la semilla en estado verde,  $14.53 \pm 1.30\%$ .

El contenido de fibra se presenta en un amplio rango según la parte analizada, siendo la semilla la que presenta un menor contenido de esta, con  $6.18 \pm 0.22\%$ ,  $4.89 \pm 0.83\%$ ,  $4.47 \pm 0.47\%$  para estado verde, sazón y maduro, respectivamente; por otro lado, el contenido de fibra más alto se presenta en la pulpa,  $27.33 \pm 0.53\%$ ,  $24.09 \pm 1.56\%$ ,  $34.50 \pm 1.50\%$ , para estado verde, sazón y maduro respectivamente, siendo el estado maduro el que presenta una mayor cantidad. El alto contenido de fibra en la pulpa apunta a un posible uso de este en el ámbito alimenticio y nutricional.

Los resultados correspondientes a la parte identificada como pulpa no pueden ser contrastados debido a la falta de investigaciones al respecto, para el caso de la semilla, Pereira-Rodrigues, *et al*, (2019), reportaron un contenido de  $5.33 \pm 0.07\%$  para humedad,  $4.16 \pm 0.11\%$  para cenizas,  $43.42 \pm 1.57\%$  para lípidos,  $12.06 \pm 1.08\%$  para proteína, y  $12.38 \pm 2.15\%$  para fibra. Estos resultados, en el caso de lípidos y humedad, presentan diferencia con respecto a los obtenidos en la presente investigación, lo cual se atribuye a una diferencia en la variedad de *P. aquatica*, producto del bajo control en la propagación y clasificación, así como a las condiciones climáticas y de suelo de la región del estudio.

## 6.2. Propiedades Tecnofuncionales de Harinas de Semilla y Pulpa de *P. aquatica*

Las fracciones correspondientes a pulpa y semilla del fruto maduro fueron deshidratadas y molidas para elaborar harinas. Las harinas obtenidas de estas fracciones fueron sometidas a un análisis de propiedades tecnofuncionales, con el fin de determinar el comportamiento de estas en presencia de agua y aceite, y determinar la viabilidad de su empleo en un alimento. Los resultados obtenidos tras llevar a cabo las pruebas de hinchamiento, absorción de agua, retención de agua y absorción de aceite se presentan en el Cuadro 11.

**Cuadro 11.** Propiedades tecnofuncionales de harina de pulpa y semilla de *P. aquatica*.

| Propiedad  | Valor promedio semilla | Valor promedio pulpa |
|------------|------------------------|----------------------|
| Sw (mL/g)  | 4.99±0.001             | 16.97±0.006          |
| WAC (g/g)  | 5.25±0.024             | 11.81±0.106          |
| WRC (g/g)  | 2.99±0.073             | 15.26±0.425          |
| ORC (mL/g) | 1.45±0.129             | 4.36±0.141           |

\*Sw (hinchamiento), WAC (Absorción de agua), WRC (Retención de agua), ORC (Absorción de aceite).

Entre las propiedades tecnofuncionales analizadas, destacan los resultados obtenidos para la fracción de pulpa, los cuales son notoriamente superiores a los encontrados para la semilla. Es importante destacar el valor de hinchamiento ( $16.97 \pm 0.007$  mL/g), el cual indica la capacidad de crecimiento de un gramo de material seca al ser expuesto a una determinada cantidad de agua.

De la mano con esta propiedad, se encuentran elevadas capacidades de absorción y retención de agua,  $11.81 \pm 0.106$  y  $15.26 \pm 0.425$  g/g respectivamente. Tales capacidades en las propiedades anteriormente descritas se atribuyen a la elevada cantidad de fibra cruda, y posiblemente de fibra soluble presente en la pulpa de *P. aquatica*. Las fibras presentes actúan como absorbentes y fijadoras del agua en el medio.

Con respecto a esto, Canalis *et al.* (2016) analizaron la propiedad de retención de agua de la inulina y fibra de avena como una alternativa para adicionar fibra a mezcla para galletas. Sus resultados arrojaron que la inulina y fibra de avena presentan capacidad de retención de agua de  $3.75 \pm 0.11$  y  $2.90 \pm 0.10$  g/g.

De forma similar a lo realizado en el estudio anteriormente citado, Mancebo *et al.* (2017) realizaron un estudio acerca de las propiedades de absorción de agua y aceite de harina de bambú de grano fino y grano grueso. Los valores obtenidos para las variables evaluadas son 8.42 g/g y 13.75 g/g de absorción de agua para grano fino y grueso, respectivamente. Para absorción de aceite, se obtuvieron los valores de 2.10 y 2.15 para grano fino y grueso, respectivamente.

Las propiedades encontradas para la semilla se compararon con otros valores encontrados para la harina de trigo. Tharise *et al.* (2014), reportaron valores de 7.13 mL/g, 2.12 g/g y 2.02 g/g para capacidad de hinchamiento, absorción de agua, y absorción de aceite, respectivamente. No se cuenta con datos de capacidad de retención de agua.

Los valores encontrados para harina de semilla de *P. aquatica* resultan inferiores a los reportados por Tharise *et al.* (2014). En particular, la propiedad de absorción de aceite es de interés, puesto que está desempeña un papel fundamental en la percepción de los sabores de un alimento. La carencia de propiedades tecnofuncionales adecuadas para la panificación en la semilla de *P. aquatica*, puede ser corregida mediante el empleo de una harina compuesta semilla-pulpa.

### 6.3. Perfil de Compuestos Fenólicos de Harina de Semilla de *P. aquatica*

La harina de semilla de *P. aquatica* en estado maduro se analizó empleando UHPLC con el fin de determinar y cuantificar los compuestos fenólicos presentes en la misma y confirmar lo sugerido en la literatura estudiada, donde se cita a esta especie como una fuente importante de compuestos fenólicos de interés. El perfil de compuestos fenólicos permite establecer un marco de referencia sobre las bioactividades esperables en la matriz alimentaria, y explicar el origen de las mismas. Los compuestos fenólicos identificados en la harina de semilla, así como las concentraciones encontradas para los mismos, se muestran en el Cuadro 12.

**Cuadro 12.** Compuestos fenólicos identificados en harina de semilla de *P. aquatica*

| Compuesto         | Fracción libre (mg/mL) | Fracción alcalina (mg/mL) | Fracción ácida (mg/mL) | Total (mg/mL) |
|-------------------|------------------------|---------------------------|------------------------|---------------|
| Ácido clorogénico | 105.14±8.96            | 1135.13±124.81            | NI                     | 1240.27       |
| Ácido p-cumárico  | NI                     | 93.49±11.93               | NI                     | 93.49         |
| Ácido ferúlico    | NI                     | 8.81±1.12                 | NI                     | 8.81          |

\*NI: No identificado

Como puede verse en el Cuadro 12, los compuestos identificados corresponden a los ácidos clorogénico, *p*-cumárico y ferúlico, los cuales forman parte de los ácidos hidroxicinámicos. El primero de estos compuestos se encontró en mayor concentración: 1240.27 mg/mL.

El ácido clorogénico es un éster de ácidos hidroxicinámicos encontrado de forma natural en algunas especies vegetales, como el yacón (*Smallanthus sonchifolius*) y el bambú (*Phyllostachys edulis*). Este compuesto presenta diversas bioactividades, tales como antioxidante, antiinflamatoria, antibacterial y anticarcinogénica. Además de lo anterior, contribuye a la regulación del metabolismo de carbohidratos y lípidos (Ferreira *et al.*, 2023).

La diferencia entre las concentraciones encontradas para los diferentes componentes puede explicarse dada la naturaleza propia del ácido clorogénico. Los ácidos clorogénicos conforman un grupo de esteres de ácidos hidroxicinámicos, entre ellos, el ácido *p*-cumárico y el ácido ferúlico (Clifford *et al.*, 2003). Los ácidos *p*-cumárico y ferúlico, por su parte, se encuentran ampliamente en la pared celular vegetal, comúnmente (pero no de forma exclusiva) en la corteza de las plantas y cascara de frutos. El procesado térmico realizado a la semilla puede llevar a la liberación de los ácidos precursores y llevar a la formación del éster ácido clorogénico, dejando únicamente pequeñas porciones de los ácidos *p*-cumárico y ferúlico.

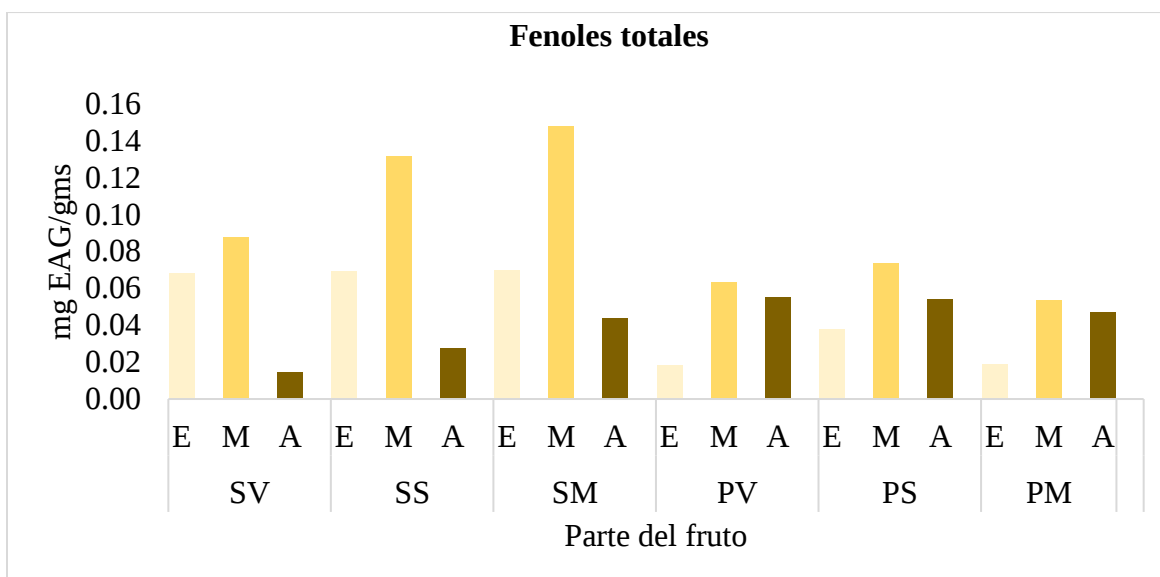
De igual forma que en este estudio, Rodrigues *et al.* (2019) estudiaron el perfil de compuestos fenólicos de semillas de *P. aquatica* crudas. Reportaron la presencia de distintos grupos de compuestos fenólicos, tales como, flavanoles, flavonoles, ácidos hidroxibenzoicos y ácidos hidroxicinámicos. Entre los ácidos hidroxicinámicos encontrados se reportó la presencia de los ácidos clorogénico, cafeico, *p*-cumárico, vainílico y ferúlico, en concentraciones de 58.82±0.85 mg/mL, 445.54±53.96 mg/mL, 26.33±2.42 mg/mL, 2.90±0.33 mg/mL, 116.07±22.09 mg/mL, respectivamente.

El presente estudio guarda una coherencia parcial con los datos reportados por Rodrigues *et al.*, (2019) Los ácidos fenólicos sin identificar pudieron sufrir degradación térmica o no se identificaron como consecuencia de las condiciones de análisis cromatográfico.

El perfil de compuestos fenólicos encontrado para la semilla de *P. aquatica* sugiere que la misma puede ser empleada como matriz principal para formular un alimento con propiedades funcionales, tales como las sugeridas para el ácido clorogénico, su componente mayoritario.

#### 6.4. Determinación de Polifenoles Totales de Semilla y Pulpa de *P. aquatica* en Diferentes Estados de Madurez

Tras la identificación de los compuestos fenólicos presentes en la harina de semilla de *P. aquatica* (componente mayoritario de la harina compuesta), las fracciones correspondientes a pulpa y semilla en distintos estados de madurez fueron sometidas a una determinación del contenido de fenoles, con el fin de obtener la cantidad presente de estos compuestos en relación con la masa total de la muestra. Esta determinación se llevó a cabo por el método de Folin-Ciocalteu, expresando los resultados en mg EAG/gms (miligramos equivalentes de ácido gálico por gramo de materia seca). Los contenidos alcanzados para los tres estados de madurez para ambas fracciones se muestran en la Figura 9, encontrándose diferencias claras entre los tratamientos según el solvente empleado y la fracción del fruto analizada.



**Figura 9.** Gráfica de fenoles totales de semilla y pulpa de *P. aquatica* en distintos estados de madurez. Donde E: etanol, M: metanol, A: agua

Donde E: etanol, M: metanol, A: agua; SV: semilla verde, SS: semilla sazona, SM: semilla madura, PV: pulpa verde, PS: pulpa sazona, PM: pulpa madura. Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadística ( $p \leq 0.05$ )

Por inspección de la Figura 9, son evidentes los efectos de los diferentes solventes de extracción y los estados de madurez de las fracciones analizadas. La mayor concentración de fenoles se encontró para el extracto metanólico de la semilla en estado maduro ( $0.1478 \pm 0.0028$  mg EAG/gms).

En la Figura 9 puede observarse que los extractos metanólicos permiten alcanzar los rendimientos más altos en todas las condiciones evaluadas, mientras que en el caso de los extractos etanólicos y acuosos, el contenido fenólico depende de la fracción en cuestión: el etanol permitió mejores contenidos en semilla y el agua en pulpa.

En la misma línea, Tavares da Silva *et al.*, (2020) analizó la cantidad de fenoles totales presentes en semillas crudas, cocidas y tostadas de *P. aquatica* (sin indicar estado de madurez), obteniendo como resultados  $4.31 \pm 0.51$  mg EAG/100g para la semilla cruda,  $6.21 \pm 0.42$  mg EAG/100g para la semilla cocida y  $11.91 \pm 0.11$  mg EAG/100g para la semilla tostada. Es importante mencionar las unidades en que se expresan los resultados obtenidos, debido a que en el presente estudio se emplea una proporción a 1 g. Realizando los ajustes pertinentes a los datos obtenidos en este estudio, se obtiene un contenido de fenoles de 14.78 mg EAG/gms para el extracto metanólico de la semilla cruda en estado maduro, cantidad notoriamente mayor que la reportada por Tavares da Silva *et al.*, para la semilla en el mismo estado.

La diferencia encontrada entre los resultados ofrecidos en el presente estudio y los reportados por Tavares da Silva, *et al.*, (2020), se atribuye al solvente empleado, así como al hecho de que en el estudio anteriormente mencionado no se menciona el estado de madurez de la semilla empleada para la determinación.

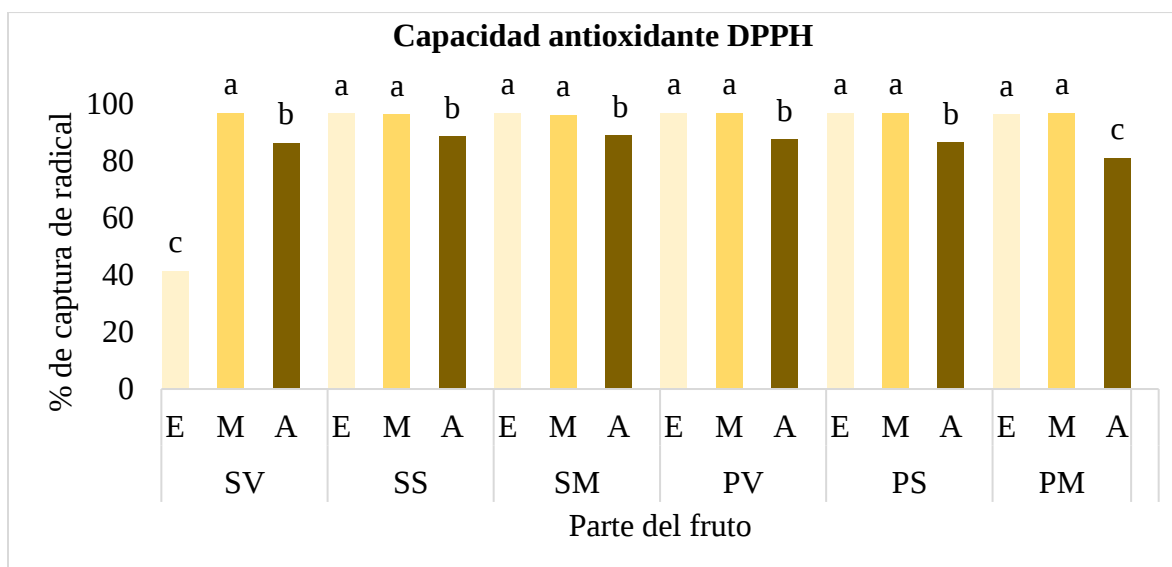
El extracto de etanólico, metanólico y acuoso de la semilla del fruto maduro presentó los valores más elevados de fenoles totales de las partes analizadas. Lo anterior es un indicador de que la semilla de *P. aquatica* madura es ideal para su aprovechamiento en la formulación de un alimento funcional.

#### 6.5. Determinación de la Capacidad Antioxidante en Pulpa y Semilla de *P. aquatica*

Como ha sido reportado en la literatura, *P. aquatica* ha sido identificada como una fuente potencial de compuestos bioactivos, mismos que pueden presentar actividades antioxidantes, antimicrobianas, entre otras. Por ello, se emplearon los ensayos DPPH y ABTS para evaluar estas actividades en pulpa y semilla en distintos estados de madurez y diferentes solventes para la extracción y recuperación de estos.

En la Figura 10 se muestra el comportamiento de la capacidad antioxidante de estos extractos por el ensayo DPPH, observándose homogeneidad en el porcentaje de captura del radical independientemente del solvente de extracción o el estado de madurez del fruto. Con excepción del extracto etanólico de la semilla en estado verde, los demás extractos alcanzaron un porcentaje de captura superior al 80% del radical DPPH.

El extracto metanólico de pulpa en estado verde presenta la mayor eficacia al inhibir al radical DPPH ( $96.8159 \pm 0.015\%$ ), sin embargo, sin diferencia estadísticamente significativa ( $p \leq 0.05$ ) con SVM, SSE, SSM, SME, SMM, PVE, PSE, PSM, PME y PMM.

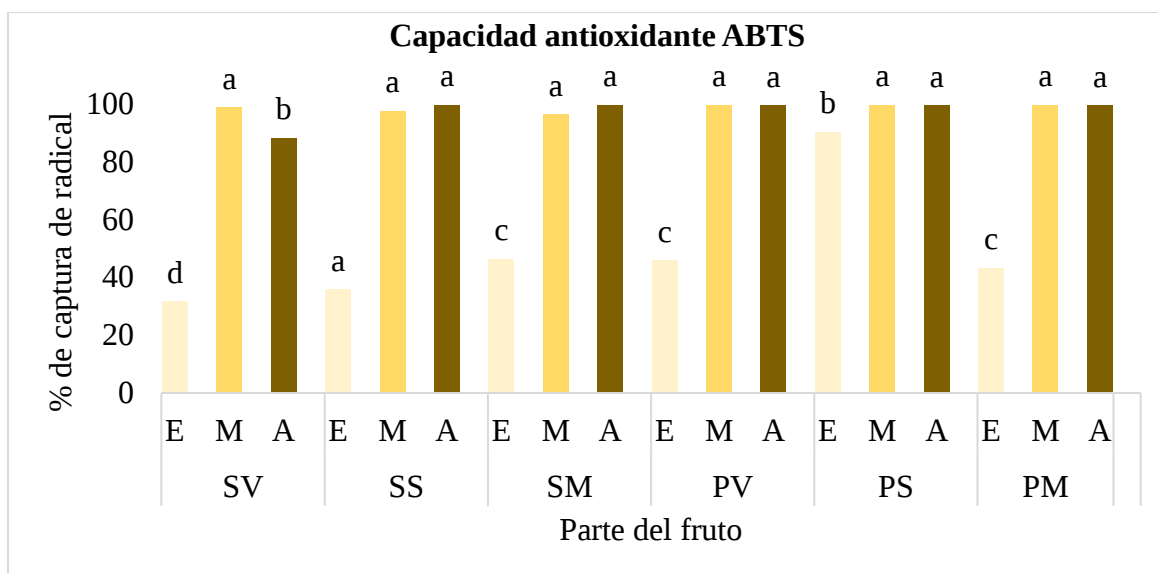


**Figura 10.** Gráfica de capacidad antioxidante DPPH para pulpa y semilla de *P. aquatica* en distintos estados de madurez.

Donde E: etanol, M: metanol, A: agua; SV: semilla verde, SS: semilla sazón, SM: semilla madura, PV: pulpa verde, PS: pulpa sazón, PM: pulpa madura. Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadística ( $p \leq 0.05$ )

De forma similar a lo realizado en el presente estudio, Teixeira *et al.* (2021) investigaron el efecto de la extracción empleando dióxido de carbono supercrítico y etanol presurizado sobre la extracción de lípidos y compuestos fenólicos de semillas de *P. aquatica*. Sus resultados señalan que los extractos etanólicos de la semilla cruda de *P. aquatica* logran inhibir al radical DPPH en un  $10.84 \pm 1.65\%$ , llegando a un máximo de  $61.58 \pm 5.19\%$  al emplear la extracción por medio de dióxido de carbono supercrítico. Por otro lado, Raiser *et al.* (2018) evaluaron la capacidad antioxidante del aceite de semilla de *P. aquatica* para emplearlo en emulsiones cosméticas. Sus resultados señalan que el aceite de semilla tiene la capacidad de inhibir al radical DPPH en un 25%. A diferencia de estos trabajos, en la presente investigación resultan evidentes los efectos del método de extracción empleado y las fracciones evaluadas, así como las condiciones de extracción sobre la cantidad de compuestos fenólicos encontrada.

Con respecto al ensayo por ABTS, el % de captura se ve afectado por el solvente de extracción empleado (ver Figura 11). Los resultados muestran también un % de captura superior al 80%, exceptuando los correspondientes a la extracción etanólica. El extracto metanólico de pulpa en estado sazón presenta la mayor eficacia al inhibir al radical ABTS ( $99.5741 \pm 0.2074\%$ ), sin embargo, sin diferencia estadísticamente significativa ( $p \leq 0.05$ ) con SVM, SSM, SMM, y PMM.



**Figura 11.** Gráfica de capacidad antioxidante ABTS para pulpa y semilla de *P. aquatica* en distintos estados de madurez.

Donde E: etanol, M: metanol, A: agua; SV: semilla verde, SS: semilla sazona, SM: semilla madura, PV: pulpa verde, PS: pulpa sazona, PM: pulpa madura. Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadística ( $p \leq 0.05$ )

Tras una búsqueda en la mejor de la posibilidad del equipo de investigación, no se encontraron estudios realizados en pulpa y semilla de *P. aquatica* o especies cercanas que analicen su capacidad antioxidante mediante el método ABTS en las unidades presentadas en este estudio.

Los resultados obtenidos por medio los ensayos antioxidantes DPPH y ABTS sugieren que la semilla y pulpa de *P. aquatica* pueden ser empleadas para desarrollar alimentos con propiedades funcionales. Ya que no existe diferencia estadísticamente significativa entre la mayoría de los diferentes tratamientos, el estado de madurez seleccionado no tendrá influencia en la capacidad antioxidante del producto final. Sin embargo, según lo observado en la sección anterior (Figura 10), la semilla en estado maduro resulta la mejor elección para la elaboración del alimento planteado, complementado con la pulpa en estado madura, para promover el aprovechamiento integral del fruto.

## 6.6. Análisis Nutricional de Galletas de Maíz y Trigo con Diferentes Grados de Sustitución con Harina de Semilla y Pulpa de *P. aquatica*

Con base en los resultados obtenidos, se seleccionó a la semilla y pulpa en estado maduro como la base para la elaboración de galletas funcionales. Para lograr lo anterior, se plantearon 13 diferentes formulaciones con diferentes niveles de sustitución con harina compuesta de semilla y pulpa y *P. aquatica* en una proporción 87.5/12.5 (semilla/pulpa), empleando como base las harinas de maíz y trigo. Las galletas elaboradas fueron sometidas a un análisis de su composición nutrimental con el fin de determinar la composición de macronutrientes de las mismas, y proceder a la selección del tratamiento más equilibrado.

Los resultados obtenidos del análisis de composición nutrimental de las galletas elaboradas se presentan en el Cuadro 13. Los resultados obtenidos demuestran un claro efecto tras la sustitución con harinas de *P. aquatica*, con un claro incremento del contenido proteico y de fibra, destacando principalmente los resultados correspondientes a los tratamientos Bx.

**Cuadro 13.** Composición nutrimental de galletas parcialmente sustituidas con harina de *P. aquatica*.

| Tratamiento | Humedad%           | Cenizas%            | Proteína%          | Grasa%              | Fibra%             |
|-------------|--------------------|---------------------|--------------------|---------------------|--------------------|
| <b>A0</b>   | 3.75 <sup>b</sup>  | 2.09 <sup>e</sup>   | 4.76 <sup>d</sup>  | 5.41 <sup>d</sup>   | 2.56 <sup>f</sup>  |
| <b>A1</b>   | 3.51 <sup>bc</sup> | 3.55 <sup>d</sup>   | 4.97 <sup>cd</sup> | 6.95 <sup>cd</sup>  | 4.46 <sup>de</sup> |
| <b>A2</b>   | 2.64 <sup>d</sup>  | 4.28 <sup>bcd</sup> | 5.62 <sup>bc</sup> | 17.85 <sup>a</sup>  | 3.91 <sup>c</sup>  |
| <b>A3</b>   | 2.76 <sup>d</sup>  | 3.69 <sup>cd</sup>  | 5.59 <sup>bc</sup> | 14.85 <sup>ab</sup> | 5.11 <sup>b</sup>  |
| <b>B0</b>   | 3.39 <sup>c</sup>  | 3.74 <sup>cd</sup>  | 6.41 <sup>a</sup>  | 16.13 <sup>ab</sup> | 3.78 <sup>cd</sup> |
| <b>B1</b>   | 3.27 <sup>c</sup>  | 5.33 <sup>ab</sup>  | 6.34 <sup>ab</sup> | 16.02 <sup>b</sup>  | 4.21 <sup>c</sup>  |
| <b>B2</b>   | 4.74 <sup>a</sup>  | 4.81 <sup>abc</sup> | 6.18 <sup>ab</sup> | 13.17 <sup>ab</sup> | 5.20 <sup>b</sup>  |
| <b>B3</b>   | 4.54 <sup>a</sup>  | 5.72 <sup>a</sup>   | 6.85 <sup>a</sup>  | 14.60 <sup>ab</sup> | 5.78 <sup>a</sup>  |
| <b>B4</b>   | 2.83 <sup>d</sup>  | 5.71 <sup>a</sup>   | 6.41 <sup>a</sup>  | 14.97 <sup>ab</sup> | 5.79 <sup>a</sup>  |
| <b>C1</b>   | 3.96 <sup>b</sup>  | 5.32 <sup>ab</sup>  | 5.24 <sup>cd</sup> | 9.66 <sup>c</sup>   | 3.44 <sup>de</sup> |
| <b>C2</b>   | 3.93 <sup>b</sup>  | 4.36 <sup>bcd</sup> | 6.29 <sup>ab</sup> | 9.57 <sup>c</sup>   | 3.31 <sup>e</sup>  |
| <b>C3</b>   | 3.87 <sup>b</sup>  | 4.44 <sup>bcd</sup> | 6.25 <sup>ab</sup> | 9.38 <sup>cd</sup>  | 3.15 <sup>e</sup>  |
| <b>C4</b>   | 4.48 <sup>a</sup>  | 4.50 <sup>bcd</sup> | 6.43 <sup>a</sup>  | 8.03 <sup>c</sup>   | 2.16 <sup>f</sup>  |

\* A0: 100% trigo; A1: 30% trigo, 70% *P. aquatica*; A2: 50% trigo, 50% *P. aquatica*; A3: 70% trigo, 30% *P. aquatica*; B0: 100% maíz; B1: 30% maíz, 70% *P. aquatica*; B2: 50% maíz, 50% *P. aquatica*; B3: 70% maíz, 30% *P. aquatica*; B4: 0% maíz, 100% *P. aquatica*; C1: 30% maíz, 70% *P. aquatica* (sin pulpa); C2: 50% maíz, 50% *P. aquatica* (sin pulpa); C3: 70% maíz, 30% *P. aquatica* (sin pulpa); C4: 0% maíz, 100% *P. aquatica* (sin pulpa). Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadística ( $p \leq 0.05$ ).

Como puede verse en el Cuadro 13, existe una gran variabilidad para todos los macronutrientes evaluados. En el parámetro de humedad, los tratamientos B2, B3, Y C4 presentan los valores más elevados, sin diferencia estadística significativa ( $p \leq 0.05$ ), 4.74%, 4.54%, y 4.48%, respectivamente.

Las variaciones en el contenido de humedad pueden explicarse teniendo en cuenta las propiedades tecno funcionales de la harina de pulpa y semilla de *P. aquatica* analizadas en el presente estudio, así como las propiedades tecno funcionales de las harinas de maíz y trigo encontradas en la literatura existente (Mejia-Teran *et al.*, 2024; Tharise *et al.*, 2014). Se observa un incremento en la retención de agua tras el proceso de horneado de conforme incrementa el contenido de harina compuesta de *P. aquatica*.

Los tratamientos carentes de harina de pulpa de *P. aquatica* (Cx), presentan un menor contenido de humedad que aquellos que sus pares con esta harina (Bx), debido a la elevada capacidad de absorción de agua de la pulpa de *P. aquatica*.

Con el fin de comparar resultados, es posible citar a Kaur *et al.* (2017) evaluó el contenido nutrimental de galletas completas de trigo y parcialmente sustituidas con harina de linaza, reportando un contenido de 6.5% de humedad para las galletas parcialmente sustituidas. El valor reportado por Kaur *et al.*, (2017) resulta superior a todos los encontrados en el presente estudio. Lo anterior puede atribuirse a una diferencia en las capacidades de retención de agua en las harinas empleadas.

El contenido de cenizas totales más elevado se alcanzó con los tratamientos B4 y B3 (5.71% y 5.72%). Todos los tratamientos, con la excepción de A0 (100% trigo), presentan valores superiores al 3.5% de cenizas. Dhankhar *et al.*, (2019) realizaron un estudio sobre el desarrollo de un bisquet parcialmente sustituido con harina de garbanzo, obteniendo un máximo de 4.73% de cenizas para la formulación sustituida en un 40% con harina de garbanzo. Los valores resultan cercanos a los obtenidos en el presente estudio, sin embargo, la composición de dichas cenizas puede presentar variaciones al tratarse de matrices vegetales diferentes.

Las galletas formuladas con harina de trigo presentan los valores más bajos, ubicándose en los últimos tres grupos literales ( $p \leq 0.05$ ), contrario a las elaboradas con harina de maíz. Esto se explica por la composición nutrimental de las harinas empleadas, y al método de elaboración de estas, en el cual, en el caso del maíz, se incluye el grano completo. El alto contenido de minerales, puede atribuirse al proceso de nixtamalización del maíz incrementa su contenido de calcio y potasio (Rojas-Molina *et al.*, 2009).

En cuanto al contenido de proteína, B4, B0, B3 y C4 presentan el mayor contenido porcentual de proteína (6.41%, 6.41%, 6.85% y 6.43%, respectivamente). El contenido de proteína en B4 y C4 se atribuye al contenido proteico de la harina compuesta de *P. aquatica*. Las similitudes entre B0 y B3 con los demás tratamientos se explica según el contenido nutrimental reportado para la marca de harina de maíz M, el cual es de 7 g por cada 100 g; en las mezclas realizadas, el contenido proteico de la harina de maíz M es complementado por el similar contenido de proteínas en la harina compuesta de *P. aquatica*.

Nuevamente, Dhankhar *et al.*, (2019) investigaron sobre el efecto de la sustitución parcial de galletas de trigo con harina de garbanzo y polvo de dátiles. Las galletas obtenidas presentaron un contenido de proteína de  $12.21 \pm 0.43\%$  para el control, y  $17.79 \pm 0.14\%$  para la galleta con el mayor nivel de sustitución (40% garbanzo, 40% dátil). Lo anterior representa un incremento de 45.7% con respecto al control. Las galletas analizadas en el presente trabajo presentaron un incremento máximo en el contenido de proteína del 17.43% contra los controles. Esta discrepancia entre los niveles de aumento se atribuye a las diferencias entre la receta base y la matriz vegetal empleada. En términos generales, los tratamientos que contienen maíz en su formulación presentan un porcentaje de proteínas superior, con la excepción de C1, al carecer este del aporte proteico de la pulpa y ser el zapotón la parte mayoritaria. Los tratamientos de harina de trigo presentan valores inferiores ( $p \leq 0.05$ ).

Los tratamientos correspondientes a harina con adición de pulpa de zapotón (Ax y Bx) presentan los valores más elevados de porcentaje graso. Las diferencias contra los tratamientos carentes de pulpa pueden explicarse tomando en cuenta las propiedades tecno funcionales de la pulpa de zapotón reportadas en el presente estudio.

La formulación A2 ofrece el mayor contenido de grasas con diferencia estadística significativa ( $p \leq 0.05$ ), con 17.85%. Los tratamientos sin adición de pulpa de *P. aquatica* presentan los valores más bajos en este macronutriente; la falta de pulpa en la formulación lleva a una baja capacidad de absorber y retener las grasas durante el proceso de amasado y horneado.

En un trabajo similar, Silva *et al.*, (2020) analizaron el efecto de la adición de grasas de semilla de *P. aquatica* y harina de semilla de *P. insignis* sobre la composición nutrimental de galletas de trigo y maíz. Los resultados correspondientes al contenido de grasa de estas galletas corresponden a un valor mínimo de  $36.53 \pm 0.74\%$  para la galleta control, y un valor máximo de  $42.39 \pm 0.14\%$  en la galleta sustituida 11% con harina de semilla de *P. insignis*.

Los valores encontrados en el presente estudio son significativamente menores a los reportados por

Silva *et al.*, (2020), sin embargo, el incremento porcentual del contenido de grasas es notoriamente mayor.

El contenido de fibra fue más elevado en aquellos tratamientos que fueron parcialmente sustituidos con harina de pulpa de *P. aquatica*. Los tratamientos correspondientes a maíz con adición de pulpa (Bx), presentan los valores más altos de aquellos que contemplan sustitución parcial de harinas. El contenido más elevado de fibra fue encontrado para B4 y B3, los cuales corresponden a la sustitución total por *P. aquatica* y una sustitución 70/30 (maíz/zapotón).

Por su parte, el equipo integrado por Kaur *et al.*, (2017) evaluó el contenido nutrimental de galletas completas de trigo y parcialmente sustituidas con harina de linaza, encontrándose un contenido máximo de fibra de  $1.42 \pm 0.02\%$  para una galleta con una sustitución de 30% con harina de linaza. El valor reportado por Kaur *et al.*, (2017) resulta inferior a todos los valores encontrados en el presente estudio para galletas con el mismo nivel de sustitución.

Finalmente, Norhidayah *et al.*, (2014) analizaron el contenido de fibra encontrado en galletas de trigo parcialmente sustituidas con harina de *Musa x paradisiaca* y *Musa x acuminata*, encontrando valores de  $1.65 \pm 0.06\%$  y  $1.06 \pm 0.07\%$  respectivamente. Los valores reportados por Norhidayah *et al* difieren de los obtenidos en el presente estudio, debido a la naturaleza de la matriz vegetal empleada.

Los tratamientos sin adición de pulpa en su formulación presentan valores de cenizas, grasas y fibra hasta porcentajes más bajos que sus iguales con adición de esta. Lo anterior confirma que la adición de esta fracción del fruto tuvo un efecto directo en el contenido nutrimental de las galletas elaboradas.

Los tratamientos correspondientes a la formulación maíz/zapotón con adición de pulpa, presentan los valores más elevados para todos los macronutrientes, siendo el único en el 15 de 20 observaciones de ubican dentro de los dos primeros grupos literales ( $p \leq 0.05$ ).

#### 6.7. Ultraestructura por Microscopía Electrónica de Barrido

Los tratamientos correspondientes a las formulaciones con maíz con adición de pulpa (Bx), se sometieron a un análisis de ultraestructura por microscopia electrónica de barrido, mediante el cual puede observarse la interacción entre los componentes de las harinas (Figura 13). Para la

formulación B0 (100% maíz; 0% *P. aquatica*), los glóbulos de almidón y el resto de los componentes conforman un bloque de estructura continua y sin forma definida, sin que se perciban espacios o puntos de fisura en la misma.

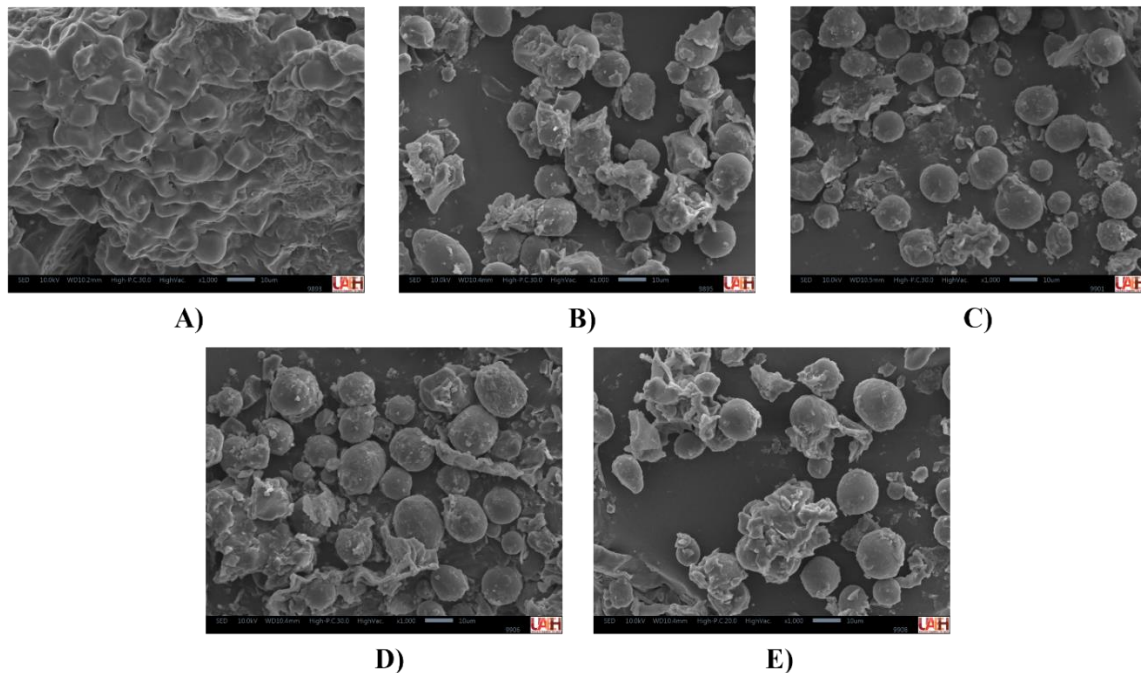


Figura 12. Micrografías de tratamientos Bx, incremento x1000: A)B0, B)B1, C)B2, D)B3, E)B4  
 \*B0: 100% maíz; B1: 30% maíz, 70% *P. aquatica*; B2: 50% maíz, 50% *P. aquatica*; B3: 70% maíz, 30% *P. aquatica*; B4: 0% maíz, 100% *P. aquatica*

En las imágenes correspondientes a los tratamientos parcialmente sustituidos, resulta notoria la interacción entre los glóbulos de almidón de maíz y de *P. aquatica*. Sin embargo, no se aprecia unión o fusión entre los mismos, lo cual puede indicar una menor resistencia estructural al carecer de uniones fuertes entre los componentes.

El tratamiento B4, correspondiente a una galleta 100% *P. aquatica*, presenta interacción entre los glóbulos de almidón observados y lo que se presume, corresponde a fracciones altas en fibra provenientes de la pulpa de *P. aquatica*. Al observar las micrografías pueden observarse ligeras deformaciones en las estructuras de los glóbulos de almidón, lo cual se atribuye la recristalización de estos tras pasar por el proceso de horneado, así como a la lixiviación de la amilosa, comportamiento reportado con anterioridad por Kulp *et al*, (1991). En una investigación similar

llevada a cabo por Rathore *et al.*, (2019), al formular galletas adicionadas con *Calocybe indica*, reportó que la adición de un contenido de fibra adicional, así como la interacción entre dos matrices diferentes, rompe la continuidad estructural de las galletas, disminuyendo la resistencia de estas. Pourmohammadi *et al.*, (2018) observó, de igual forma, irregularidades en la forma de los glóbulos de almidón, así como fugas de amilosa en los mismos, después de haber sometido galletas adicionadas con almidón resistente en galletas de trigo.

#### 6.8. Perfil de Textura de las Galletas Parcialmente Sustituidas con Harina de *P. aquatica*

Con el fin de confirmar los efectos de la interacción de los componentes de las harinas observada en la sección anterior, los tratamientos Bx (maíz/*P. aquatica*) fueron sometidos a un análisis de perfil de textura con el propósito de conocer las características texturales de las galletas: dureza, fracturabilidad y trabajo (ver Cuadro 14) siguiendo la metodología planteada en la sección correspondiente. Las formulaciones sometidas a este análisis presentan valores con gran variabilidad entre los mismos, observándose una tendencia similar a la observada en la interacción de los glóbulos de almidón.

**Cuadro 14.** Perfil de textura de formulaciones Bx

| Tratamiento | Dureza (g)       | Fracturabilidad (mm) | Trabajo (g · s)  |
|-------------|------------------|----------------------|------------------|
| <b>B0</b>   | 34464.14±357.45  | 1.96±0.02            | 30103.49±1109.08 |
| <b>B1</b>   | 17659.06±1168    | 1.92±0.05            | 16205.81±3957.16 |
| <b>B2</b>   | 15283.92±1840.17 | 1.93±0.04            | 11376.59±296.7   |
| <b>B3</b>   | 17893.91±2646.54 | 1.92±0.05            | 12450.20±291.98  |
| <b>B4</b>   | 27622.48±2250.27 | 1.95±0.02            | 25205.11±3064.15 |

\*B0: 100% maíz; B1: 30% maíz, 70% *P. aquatica*; B2: 50% maíz, 50% *P. aquatica*; B3: 70% maíz, 30% *P. aquatica*; B4: 0% maíz, 100% *P. aquatica*

Los tratamientos B1, B2 y B3, los cuales corresponden a formulaciones parcialmente sustituidas, obtuvieron los valores más bajos en el parámetro de dureza, contra aquellos que se componen únicamente por un tipo de harina (B0 y B4). Las diferencias en el parámetro de dureza de las

formulaciones se explican debido a la interacción entre dos tipos diferentes de glóbulos de almidón. La dureza de las galletas está relacionada positivamente con el contenido de proteínas y fibra, mientras que está relacionada negativamente con el contenido de amilopectina y almidón (Liu *et al.*, 2022).

Los valores obtenidos para el parámetro de trabajo (fuerza necesaria para la ruptura en el tiempo), siguen la misma tendencia que aquellos obtenidos para el parámetro de dureza. El valor más bajo, el cual indica un menor esfuerzo para romper la galleta, se encontró para el tratamiento B2 (11376 g•s).

En una línea similar, Handojo *et al.*, (2019) estudiaron el potencial de la adición de residuo de cáscara de cacao como fuente de fibra en galletas de trigo y avena, analizando el perfil de textura. Sus resultados reflejaron un incremento en la dureza con la adición de residuo de cacao, hasta un máximo de 1912 g para el parámetro de dureza, y 1431 g•s para el parámetro de trabajo en una galleta sustituida un 30% con harina de residuo de cacao. De forma parecida a lo anterior, Awobusuyi *et al.*, (2020) realizaron un análisis sobre la elaboración de galletas con sustitución de harina sorgo-insecto, evaluando los parámetros de textura. El estudio presentó resultados mínimos de fracturabilidad de 0.31 mm para la galleta control, y un máximo de 1.14 mm para la galleta con el mayor grado de sustitución (60%), siguiendo una tendencia lineal.

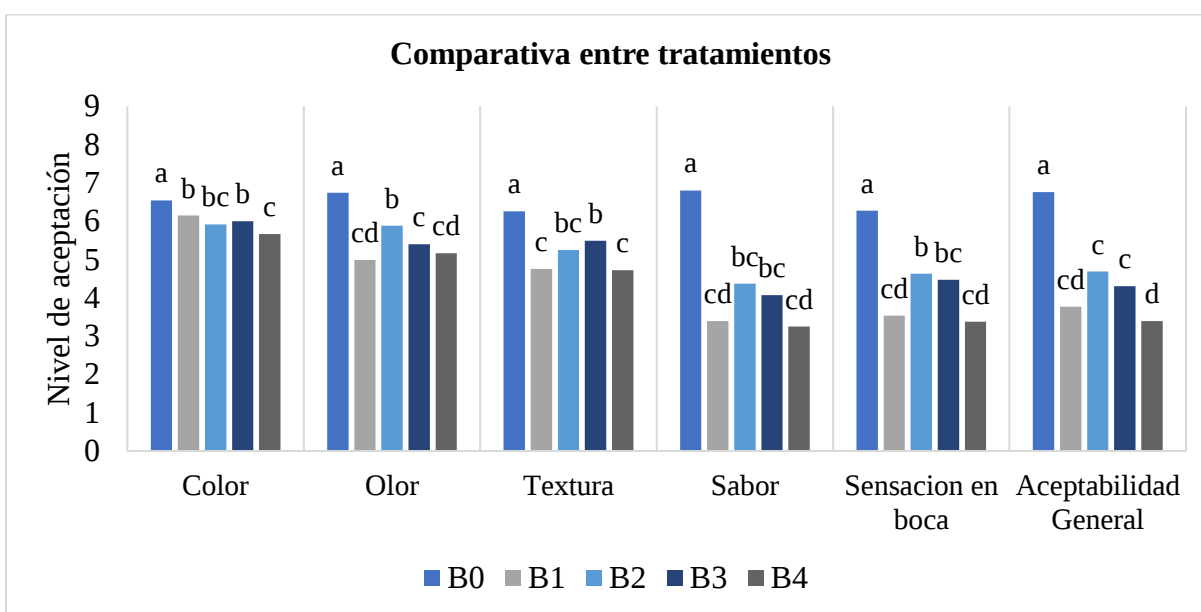
Finalmente, en un estudio llevado a cabo por Jung y Kang (2011) se analizó el parámetro de dureza para galletas parcialmente sustituidas con residuo de café, con sustituciones de 1, 3 y 5 %. Los valores obtenidos señalan durezas de  $1913.64 \pm 70.45$  g,  $1931.62 \pm 35.93$  g y  $2194.51 \pm 99.66$  g para los distintos niveles de sustitución.

Los resultados obtenidos en el presente estudio difieren de los obtenidos en el estudio de Handojo *et al.*, observándose una mayor dureza, y un menor trabajo requerido. Por otro lado, los valores de fracturabilidad de las galletas elaboradas en este trabajo, son cercanos a los obtenidos por Awobusuyi *et al.*, (2020) para galletas sorgo-insecto.

El tratamiento B2, el cual comprende 50% harina de maíz y 50% harina de *P. aquatica*, obtuvo los menores resultados en los parámetros de dureza y trabajo. Lo anterior señala a B2 como el tratamiento que ofrece mayor facilidad en el momento del consumo y la masticación.

## 6.9. Análisis de Percepción Sensorial de las Galletas Parcialmente Sustituidas con Harina de *P. aquatica*

El análisis de percepción o análisis sensorial ofrece información acerca del grado de aceptación que un producto alimenticio tiene por parte del consumidor objetivo; así pues, un nivel de aceptación adecuado resulta de gran importancia cuando se elabora un nuevo alimento. Por lo anterior, los tratamientos correspondientes a galleta de maíz parcialmente sustituida con harina de *P. aquatica* (Bx), se evaluaron sensorialmente con un panel de 70 consumidores no entrenados, empleando una escala hedónica de 9 niveles (Ver Figura 13).



**Figura 13.** Gráficos de aceptación sensorial de formulaciones Bx

B0: 100% maíz; B1: 30% maíz, 70% *P. aquatica*; B2: 50% maíz, 50% *P. aquatica*; B3: 70% maíz, 30% *P. aquatica*; B4: 0% maíz, 100% *P. aquatica*. Letras diferentes indican diferencia estadística entre tratamientos en una misma propiedad ( $p < 0.05$ )

La evaluación sensorial de las galletas parcialmente sustituida con harina de *P. aquatica*, alcanzó un valor superior a 3 en todos los casos. El parámetro con los valores más elevados es el color, el cual se ubica para todas las formulaciones entre los valores 5 y 6 de la escala hedónica, indicando un ligero gusto, en particular, el tratamiento B2 presenta valores más elevados, sin diferencia

significativa contra el control ( $p \leq 0.05$ ) con un valor de  $5.88 \pm 1.61$ .

Los valores obtenidos para olor colocan al tratamiento B2 como el más elevado contra los valores obtenidos para el control, con diferencia estadísticamente significativa ( $p \leq 0.05$ ) contra el resto de las formulaciones con sustitución parcial, y sin diferencia contra el control, con valor de  $5.91 \pm 1.70$ . Estos valores se ubican en el rango de “ni me gusta ni me disgusta – me gusta un poco”.

Las propiedades de sabor, sensación en boca y aceptabilidad general obtuvieron los valores más bajos. El tratamiento B2 obtuvo los valores más elevados en estas propiedades, comparado con los demás tratamientos, ubicándose en el rango “ni me gusta ni me disgusta – me disgusta un poco”, con valores de  $4.37 \pm 1.80$ ,  $4.62 \pm 1.99$  y  $4.68 \pm 1.69$ , respectivamente.

El tratamiento B2 presentó los valores más altos en 4 de 6 propiedades evaluadas con respecto al control con diferencia estadística significativa ( $p \leq 0.05$ ). En cuanto a la aceptabilidad general, B2 presenta el valor más cercano a 5 (no gusta ni disgusta), con 4.37 puntos en la escala.

La aceptabilidad del tratamiento B2 se encuentra debajo del máximo obtenido por el control, apuntando a una aceptación neutra. Lo anterior resulta en un buen punto de partida para obtener una formulación para este alimento funcional, una galleta a base de harinas de maíz y *P. aquatica*. Siguiendo la línea de aceptación sensorial de nuevos alimentos, De Souza y De Brito Silva (2022) analizaron la aceptación sensorial de un pan parcialmente sustituido con harina de *P. aquatica* en un 10%. Los autores antes mencionados obtuvieron valores de aceptación de 77% para sabor, 85.18% para textura, 81.47% para aroma y 85.17% para consistencia, empleando una escala de 5 niveles. Al realizar una transformación de los valores para concordar con la escala empleada en el presente estudio, se obtienen equivalencias de 6.93, 7.66, 7.33 y 7.66 respectivamente.

Por su parte, Silva *et al.* (2020) analizaron el perfil de aceptación sensorial de galletas elaboradas con adición de aceite de semilla de *P. aquatica* y harina de semilla de *Platonia insignis*, empleando diferentes grados de sustitución. Los resultados obtenidos señalan niveles de aceptación de  $7.82 \pm 0.82$ ,  $7.31 \pm 1.16$ ,  $7.52 \pm 1.31$ ,  $7.49 \pm 1.27$ ,  $7.58 \pm 1.15$  para olor, color, sabor, textura y aceptabilidad general, para la formulación correspondiente a 13.5% de aceite de *P. aquatica* y 5.5% de harina de *P. insignis*.

Los resultados obtenidos sobre la aceptación sensorial en el presente estudio se ubican por debajo de los reportados anteriormente. Esto se atribuye a un mayor grado de sustitución de las harinas, realzando el sabor propio de *P. aquatica*, sin embargo, dado que los valores se encuentran en el rango intermedio de aceptación (4-6), los resultados representan un buen punto de partida para la mejora a futuro.

## 6.10. Digestibilidad de Proteínas de Galletas Parcialmente Sustituidas con Harina de *P. aquatica*

La composición nutrimental de un alimento es de suma importancia, sin embargo, aún más importante resulta el conocer el porcentaje de aprovechamiento de este. En particular, el nivel de aprovechamiento de las proteínas varía según la fuente de estas. Las galletas correspondientes a los tratamientos Bx (maíz/*P. aquatica*) fueron sometidas a una determinación del porcentaje de digestibilidad siguiendo la metodología propuesta en la sección correspondiente. Los porcentajes de digestibilidad de proteínas se presentan en la Cuadro 15, donde se pueden observar las diferencias existentes entre los diferentes tratamientos, con una tendencia clara a favor de aquellos donde existe sustitución parcial.

**Cuadro 15.** Digestibilidad de proteína de los tratamientos Bx

| Muestra   | % Proteína previo a la digestión | % Proteína después de la digestión | % Digestibilidad   |
|-----------|----------------------------------|------------------------------------|--------------------|
| <b>B0</b> | 6.41                             | 1.53                               | 76.1 <sup>e</sup>  |
| <b>B1</b> | 6.34                             | 1.077                              | 83.01 <sup>c</sup> |
| <b>B2</b> | 6.18                             | 0.988                              | 84.01 <sup>b</sup> |
| <b>B3</b> | 6.85                             | 1.027                              | 85 <sup>a</sup>    |
| <b>B4</b> | 6.41                             | 1.522                              | 76.82 <sup>d</sup> |

\*B0: 100% maíz; B1: 30% maíz, 70% *P. aquatica*; B2: 50% maíz, 50% *P. aquatica*; B3: 70% maíz, 30% *P. aquatica*; B4: 0% maíz, 100% *P. aquatica*. Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadística ( $p < 0.05$ ).

El tratamiento B0 correspondiente a una galleta elaborada empleando únicamente harina de maíz, presenta una digestibilidad del 76.13%; del mismo modo, el tratamiento B4 resulta digerible en un 76.82%. La sustitución en un 30% con harina de semilla y pulpa de *P. aquatica* resultó en una digestibilidad del 85%, siendo el mayor nivel encontrado. Por otro lado, los niveles de sustitución de 50% y 70% presentaron niveles de digestibilidad de proteínas de 84.01 y 83.01% respectivamente. La adición de un 30% de harina de *P. aquatica* resulta en un incremento del nivel de digestibilidad de las proteínas, a la vez que ofrece el mayor contenido proteico de todos los tratamientos analizados ( $p < 0.05$ ). Los niveles de digestibilidad proteica de las galletas

corresponden parcialmente con lo observado en el contenido proteico de las sustituciones. Estas variaciones pueden ser atribuida a la presencia de tres distintas fuentes de proteína en la harina compuesta (maíz, semilla y pulpa de *P. aquatica*), así como al incremento de los niveles de proteína de estos, lo cual se relaciona con el grado de digestibilidad de estas (Chinma *et al.*, 2012).

Con respecto a lo analizado en esta sección, Kumar *et al.*, (2018) realizaron un estudio sobre la influencia de emplear una mezcla multigrano en un bísquet, sobre la digestibilidad de las proteínas de este. En el estudio anteriormente mencionado se reportó que los bísquets elaborados con una mezcla multigrano presentaron una mayor digestibilidad (71.73%) que aquellos elaborados empleando únicamente harina de sorgo (38.13%).

De forma similar, Kiin-Kabari y Giami (2015), estudiaron el porcentaje de digestibilidad proteica de galletas elaboradas con harina de plátano y un concentrado proteico de *Vigna subterranea*, reportando que el concentrado proteico puro es digerible en un 81.82%, mientras que las galletas con adición de este concentrado presentaron un incremento en la digestibilidad proporcional al grado de enriquecimiento con el mismo, desde 27.42% con un 0% de sustitución, hasta un máximo de 62.81% de digestibilidad al sustituir la harina de plátano en un 25%. De igual forma, este estudio reporta que una galleta elaborada enteramente con harina de trigo presenta una digestibilidad proteica del 63%.

Los resultados obtenidos en el presente estudio resultan en un mayor grado de digestibilidad que los encontrados en la literatura, lo cual se atribuye a la presencia de diferentes tipos de almidones en las galletas, lo cual puede incrementar o disminuir la digestibilidad de las proteínas al abrir las estructuras de estas por medio de la fijación de estas en la superficie de los glóbulos de almidón, lo cual incrementa el área de contacto de estas (Ghumman *et al.*, 2016).

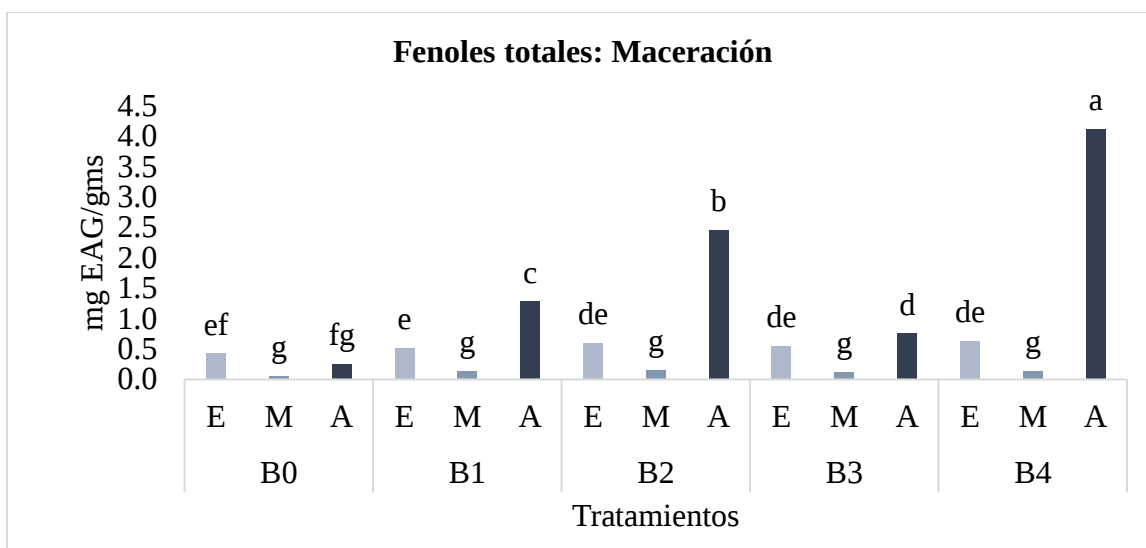
Las diferencias en la digestibilidad observadas entre los tratamientos pueden relacionarse con lo observado en la ultraestructura de estos (Figura 12), donde puede observarse que la adición de la harina de *P. aquatica* resulta en diferentes interacciones entre los glóbulos de almidón, siendo que B0 presenta una estructura compacta (menor superficie de los glóbulos de almidón disponible), mientras que los tratamientos sustituidos presentan glóbulos de almidón libres para interactuar con las proteínas.

### 6.11. Determinación de Propiedades Bioactivas de Galletas de *P. aquatica*

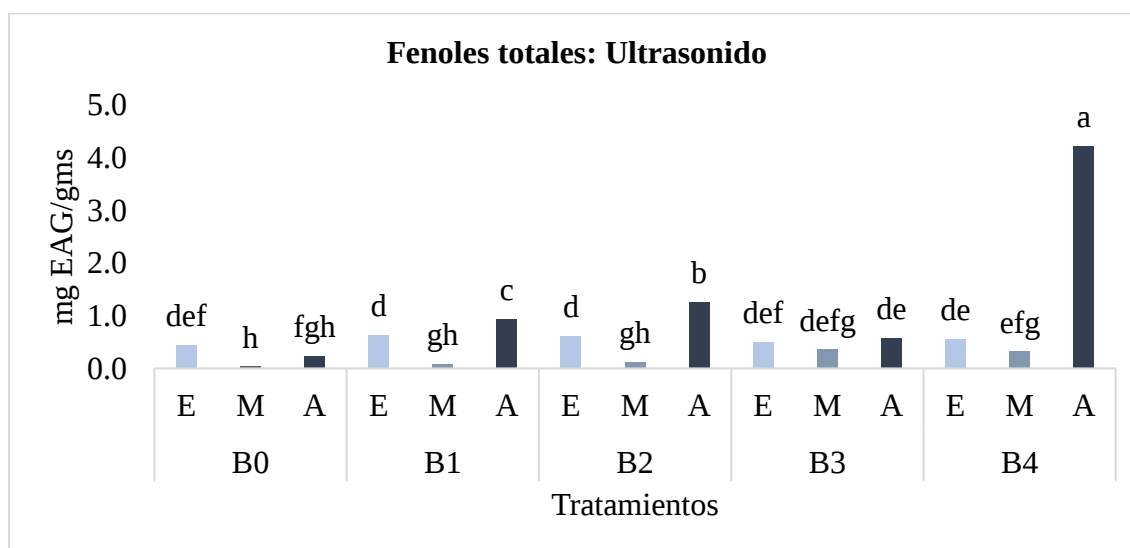
Tras la determinación del nivel de aceptación sensorial de las galletas correspondientes a los tratamientos Bx (maíz/*P. aquatica*) y el nivel de digestibilidad de estas, resulta necesario determinar sus propiedades funcionales. Las galletas fueron sometidas a una determinación de fenoles totales, así como de capacidad antioxidante por los ensayos ABTS y DPPH, siguiendo las metodologías propuestas en la sección correspondiente.

#### 6.11.1 Determinación de Compuestos Fenólicos Totales

Se determinó la cantidad de fenoles totales de los tratamientos seleccionados por medio del ensayo de Folin-Ciocalteu, empleando como métodos de extracción maceración y ultrasonido, y 3 solventes de extracción: etanol, metanol y agua. Los resultados obtenidos de estos extractos se muestran en las Figuras 14a y 14b, y se expresaron en mg EAG/gms (miligramos equivalentes de ácido gálico por gramo de materia seca).



**Figura 14a.** Gráfica de fenoles totales de los tratamientos Bx por maceración. Donde E: etanol, M: metanol, A: agua. B0: 100% maíz; B1: 30% maíz, 70% *P. aquatica*; B2: 50% maíz, 50% *P. aquatica*; B3: 70% maíz, 30% *P. aquatica*; B4: 0% maíz, 100% *P. aquatica*. Letras diferentes indican diferencia estadística significativa ( $p \leq 0.05$ )



**Figura 14b.** Gráfica de fenoles totales de los tratamientos Bx por ultrasonido. Donde E: etanol, M: metanol, A: agua. B0: 100% maíz; B1: 30% maíz, 70% *P. aquatica*; B2: 50% maíz, 50% *P. aquatica*; B3: 70% maíz, 30% *P. aquatica*; B4: 0% maíz, 100% *P. aquatica*. Letras diferentes indican diferencia estadística significativa ( $p \leq 0.05$ )

Tal y como se puede observar en las figuras, es evidente la presencia de compuestos fenólicos en las formulaciones seleccionadas, aún y cuando su concentración varía por los métodos y solventes de extracción empleados. La mayor concentración de fenoles se encontró para el extracto acuoso

de la formulación B4 (100% *P. aquatica*) en ambos métodos de extracción ( $4.1183 \pm 0.38$  mg y  $4.2286 \pm 0.1407$  mg EAG/gms en maceración y ultrasonido, respectivamente). Para todas las formulaciones, el extracto acuoso es el que más destaca.

Entre los tratamientos que contemplan la sustitución parcial de la harina convencional, el extracto acuoso de la formulación B2 presenta la mayor cantidad de compuestos, alcanzando concentraciones de  $2.4583 \pm 0.037$  y  $1.2638 \pm 0.066$  mg EAG/gms para maceración y ultrasonido, respectivamente. Para este tratamiento particular, el método de extracción por maceración ofrece un rendimiento 94.51% superior al encontrado para la extracción por ultrasonido.

El contenido de fenoles totales del extracto acuoso por maceración de B2 resulta 8.4 veces superior al obtenido para B0 (100% maíz) con el mismo método y solvente de extracción, y 0.33 veces inferior al rendimiento obtenido para B4 bajo las mismas condiciones de extracción.

Choi (2009) analizó el contenido de fenoles totales presente en galletas de trigo parcialmente sustituidas con harina de agujas de pino. Sus resultados indican una concentración mínima de  $70.31 \pm 0.46$  mg EAG/gms para el tratamiento testigo y una máxima de  $149.20 \pm 2.48$  mg EAG/g para la galleta con el máximo nivel de sustitución (5%). Es importante tener en cuenta que existe una diferencia entre la naturaleza del material vegetal empleado para la sustitución (hojas y fruto). En el estudio realizado por Hussain *et al.* (2022), se determinó el contenido de fenoles en bisquets parcialmente sustituidos con harina de cáscara, pulpa y semillas de calabaza. Los autores mencionan un contenido de  $82.49 \pm 0.61$  mg EAG/gms para un 15% de sustitución con pulpa y  $101.79 \pm 0.99$  mg EAG/gms para un bísquet con 15% de sustitución de semillas.

Los resultados obtenidos en esta tesis son menores a los reportados anteriormente. Esto puede explicarse por las diferencias funcionales del material vegetal empleado, las diferentes formulaciones, así como los diferentes métodos de extracción y tratamientos de las muestras.

La formulación B4 presenta los valores más elevados en contenido de fenoles totales, sin embargo, este tratamiento mostró la aceptación más baja en la evaluación sensorial, por lo que el tratamiento B2, cuyo contenido fenólico se encuentra en segundo lugar ( $p \leq 0.05$ ) es la mejor formulación para una galleta funcional.

### 6.11.2 Determinación de Capacidad Antioxidante por Ensayos DPPH y ABTS

Los extractos generados en la sección anterior se evaluaron también en los ensayos DPPH y ABTS para determinar su capacidad antioxidante mediante los métodos de extracción de maceración y ultrasonido.

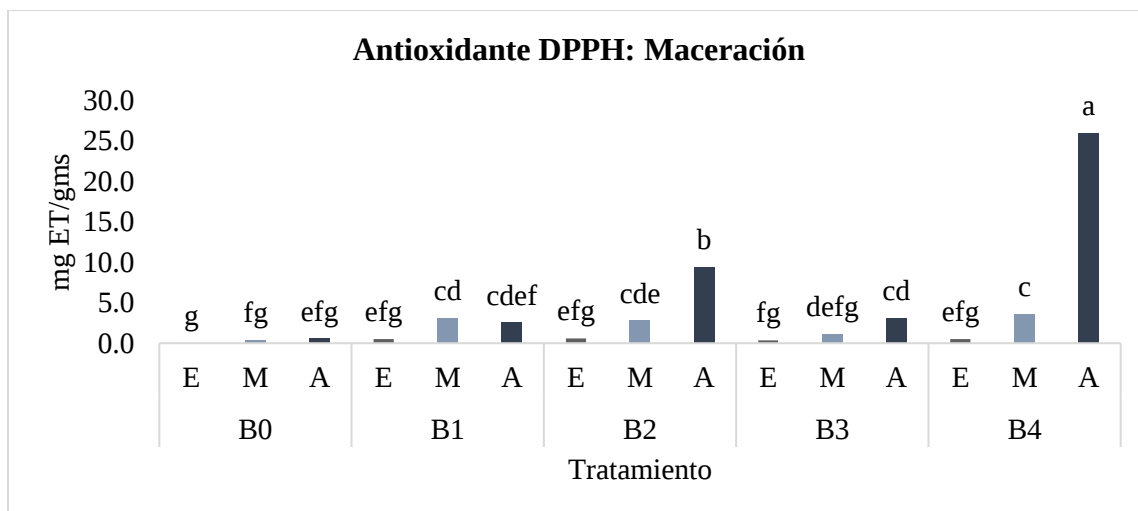
Los resultados obtenidos muestran que los extractos obtenidos poseen capacidad antioxidante, la cual varió según el solvente de extracción empleado, así como el tratamiento analizado, observándose una gran diferencia entre los controles positivo y negativo (B4 y B0) y las formulaciones parcialmente sustituidas (ver Figuras 15a y 15b).

En primer lugar, se realizó el ensayo DPPH para determinar la capacidad antioxidante. Tal como se observa en las figuras 15a y 15b la mayor capacidad antioxidante se encontró para el extracto acuoso de la formulación B4 (100% *P. aquatica*) en ambos métodos de extracción ( $25.8995 \pm 0.06101$  y  $18.0823 \pm 1.6584$  mg ET/gms para maceración y ultrasonido, respectivamente). De forma similar a los resultados obtenidos para fenoles totales, los extractos acuosos son los que presentaron una mayor capacidad antioxidante.

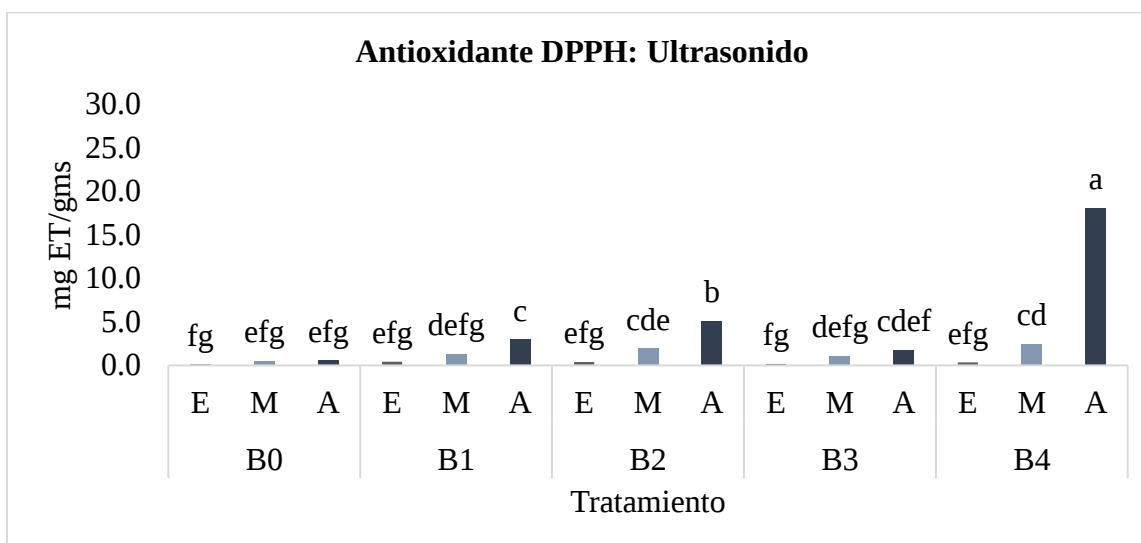
Entre los tratamientos parcialmente sustituidos, el extracto acuoso de la formulación B2 alcanzó la mayor capacidad antioxidante en ambos métodos de extracción:  $9.3614 \pm 0.4422$  y  $5.0835 \pm 0.3742$  mg ET/gms para maceración y ultrasonido, respectivamente. El método de extracción por maceración mostró un rendimiento 84.15% superior en comparación a la extracción por ultrasonido. La capacidad antioxidante del extracto acuoso por maceración de B2 resulta 78.84 veces superior al obtenido para B0 (100% maíz) con el mismo método y solvente de extracción, mientras que B4 es 1.76 veces superior Al mismo bajo las mismas condiciones de extracción.

En la misma línea que esta investigación, Han y Lee (2021) analizaron las bioactividades presentes en galletas americanas enriquecidas con residuos de café. Entre las bioactividades analizadas en su estudio, la capacidad antioxidante ensayada por DPPH alcanzó concentraciones de 27.05 y 24.66 mg ET/gms para extractos acuosos y etanólicos (80%), respectivamente.

Por otro lado, Kruczek *et al.* (2023) investigaron el contenido de fenoles totales en galletas suplementadas con residuos de manzana, obteniendo como resultados un rango de 1.15 mg ET/gms a 1.62 mg ET/gms, obteniéndose en menor valor en la galleta testigo, y el mayor valor en la galleta con mayor nivel de sustitución (60%).



**Figura 15a.** Gráfica de capacidad antioxidante DPPH de los tratamientos Bx por maceración. Donde E: etanol, M: metanol, A: agua. B0: 100% maíz; B1: 30% maíz, 70% *P. aquatica*; B2: 50% maíz, 50% *P. aquatica*; B3: 70% maíz, 30% *P. aquatica*; B4: 0% maíz, 100% *P. aquatica*. Letras diferentes indican diferencia estadística significativa ( $p \leq 0.05$ )



**Figura 15b.** Gráfica de capacidad antioxidante DPPH de los tratamientos Bx por ultrasonido. Donde E: etanol, M: metanol, A: agua. B0: 100% maíz; B1: 30% maíz, 70% *P. aquatica*; B2: 50% maíz, 50% *P. aquatica*; B3: 70% maíz, 30% *P. aquatica*; B4: 0% maíz, 100% *P. aquatica*. Letras diferentes indican diferencia estadística significativa ( $p \leq 0.05$ )

Los resultados obtenidos para la formulación B4 resultan cercanos a los reportados en el trabajo de Han y Lee, por otro lado, B2 resulta superior a los resultados reportados por Kruczek *et al.*, lo anterior se atribuye a una baja bioactividad por parte del residuo empleado y a la receta base.

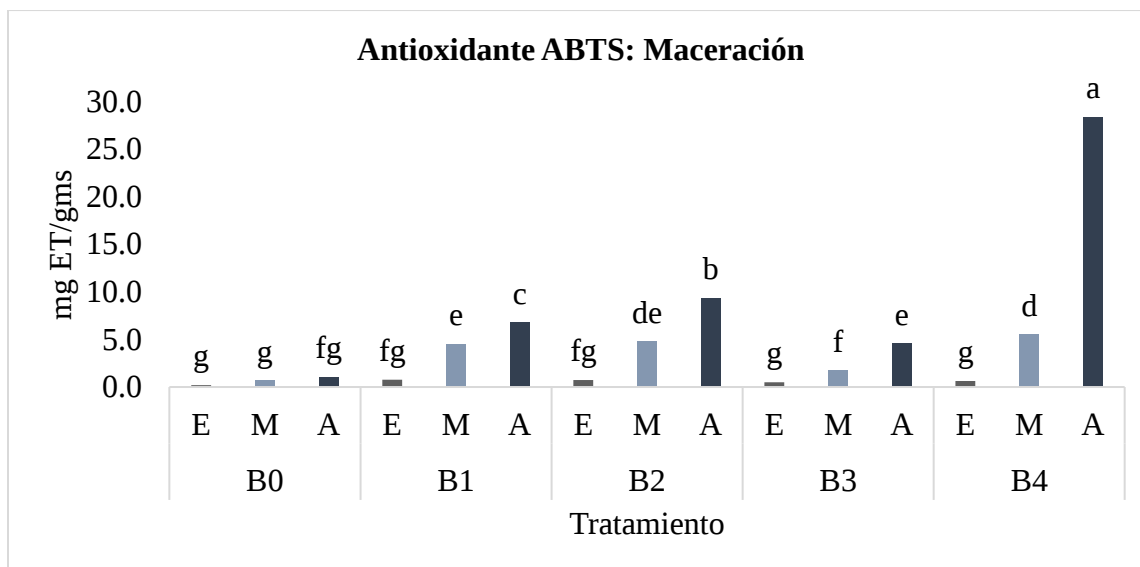
De manera similar al contenido de fenoles totales, la formulación B4 presenta los valores más elevados en cuanto a capacidad antioxidante por DPPH, seguida por B2, siendo que esta última tiene una mejor aceptación sensorial. Las gráficas de capacidad antioxidante siguen la misma tendencia observada en el contenido de fenoles totales, lo cual sugiere que la capacidad antioxidante de estas galletas puede ser atribuida a los compuestos fenólicos presentes en las mismas.

De forma similar se ensayó también la capacidad antioxidante por ABTS, y como en el caso anterior, tanto el solvente de extracción empleado como el tratamiento analizado, tuvieron efectos en los resultados obtenidos (Figuras 16a y 16b).

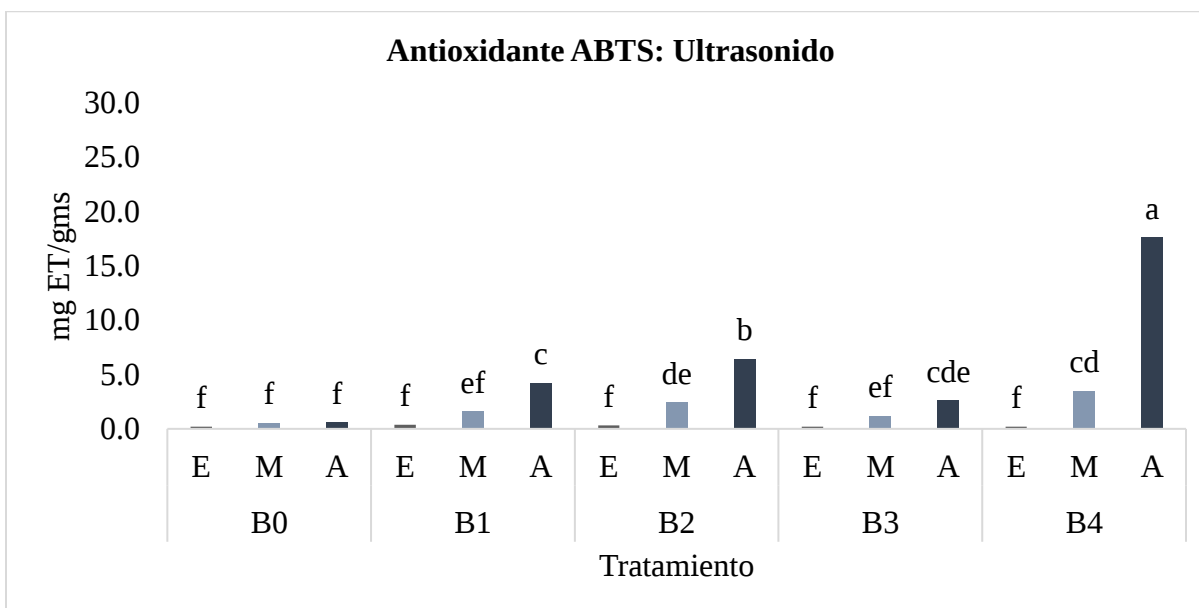
La mayor capacidad antioxidante se observó para el extracto acuoso de la formulación B4 (100% *P. aquatica*) en ambos métodos de extracción, maceración y ultrasonido ( $28.4016 \pm 1.0060$  y  $17.6335 \pm 1.4150$  mg ET/gms, respectivamente). De forma general, los extractos acuosos ofrecen la mayor capacidad antioxidante en el ensayo ABTS, mientras que los extractos metanólicos ofrecen en todos los casos la menor. Contrario a lo indicado en la literatura, el método de extracción por maceración ofrece en todos los casos un rendimiento superior al encontrado para extracción por ultrasonido.

Entre los tratamientos correspondientes a galletas formuladas con harina de *P. aquatica*, el extracto acuoso de la formulación B2 presenta la mayor capacidad antioxidante en ambos métodos de extracción:  $9.3473 \pm 0.4445$  y  $6.4095 \pm 0.5553$  mg ET/gms para maceración y ultrasonido, respectivamente. El método de extracción por maceración ofrece un rendimiento 45.83% superior al encontrado para extracción por ultrasonido.

La capacidad antioxidante del extracto acuoso por maceración de B2 resulta 43.53 veces superior al obtenido para B0 (100% maíz) con el mismo método y solvente de extracción, mientras que B4 es 2.03 veces superior a este tratamiento bajo las mismas condiciones.



**Figura 16a.** Gráfica de capacidad antioxidante ABTS de los tratamientos Bx por maceración. Donde E: etanol, M: metanol, A: agua. B0: 100% maíz; B1: 30% maíz, 70% *P. aquatica*; B2: 50% maíz, 50% *P. aquatica*; B3: 70% maíz, 30% *P. aquatica*; B4: 0% maíz, 100% *P. aquatica*. Letras diferentes indican diferencia estadística significativa ( $p \leq 0.05$ )



**Figura 156b.** Gráfica de capacidad antioxidante DPPH de los tratamientos Bx por ultrasonido. Donde E: etanol, M: metanol, A: agua. B0: 100% maíz; B1: 30% maíz, 70% *P. aquatica*; B2: 50% maíz, 50% *P. aquatica*; B3: 70% maíz, 30% *P. aquatica*; B4: 0% maíz, 100% *P. aquatica*. Letras diferentes indican diferencia estadística significativa ( $p \leq 0.05$ )

En esta misma corriente, Viana *et al.* (2023) realizaron un estudio acerca de la aplicación del fruto

barú (*Dipteryx alata*) en la formulación de galletas con la finalidad de incrementar sus propiedades funcionales. Con este fin, evaluaron la capacidad antioxidante de las galletas elaboradas por el método ABTS. Los resultados que reportaron señalan una capacidad antioxidante de  $3.2593 \pm 0.0325$  mg ET/gms para una galleta con 50% de sustitución con harina de barú.

Por otro lado, Kruczek *et al.* (2023) investigaron el contenido de fenoles totales en galletas suplementadas con residuos de manzana, siguiendo la tendencia observada en la anterior cita, obteniendo como resultados un rango de 2.7 mg ET/gms a 10.32 mg ET/gms, reportando el menor valor en la galleta testigo, y el mayor valor en la galleta con mayor nivel de sustitución (60%).

Los resultados obtenidos para la formulación B4 y B2 resultan mayores a los reportados en los trabajos previos, atribuyendo esta diferencia a las diferencias en el material vegetal empleado para la sustitución, así como al método de extracción, formulación y tratamiento previo de las muestras. De manera similar al contenido de fenoles totales y actividad antioxidante por DPPH, la formulación B4 presenta los valores más elevados en cuanto a capacidad antioxidante obtenida por el ensayo ABTS. Las gráficas de capacidad antioxidante siguen la misma tendencia observada en el contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante por DPPH, lo cual sugiere que la capacidad antioxidante de estas galletas puede ser atribuida a los compuestos fenólicos presentes en las mismas, así como que estos compuestos son mayormente hidrosolubles.

## 7. CONCLUSIONES

Con base en lo reportado por el análisis nutrimental el estado maduro es el óptimo para aprovechar el fruto de *P. aquatica*, tanto la fracción de pulpa como la fracción de semilla. Las propiedades nutrimentales encontradas en este estadio de madurez resultan deseables de cara a elaborar un producto de panificación.

Las propiedades tecnofuncionales encontradas para la harina de semilla de *P. aquatica* resultan bajas con respecto a lo encontrado en la literatura para harinas convencionales, sin embargo, esta carencia puede ser solucionada mediante la adición de harina de pulpa, lo cual lleva a la formulación de una harina compuesta de *P. aquatica*. Las propiedades funcionales, tales como el perfil de compuestos fenólicos dejan claro el potencial de *P. aquatica* para ser empleado en la elaboración de una galleta funcional. El contenido de fenoles totales de las fracciones de pulpa y semilla presentan una gran variación según el grado de madurez del fruto empleado. La capacidad antioxidante de pulpa y semilla permanece sin diferencia estadística significativa sin importar el grado de madurez del fruto.

Las formulaciones elaboradas con maíz como base presentan la mayor cantidad de proteínas, fibra y grasas. Estas formulaciones presentan el mayor potencial para ser empleadas como una opción saludable de alimentación.

La adición de las harinas de *P. aquatica* tuvo un efecto directo en las propiedades estructurales y texturales de las galletas, reduciendo la dureza y trabajo requerido al disminuir la cohesión entre las partículas que las conforman. La evaluación sensorial de las galletas sustituidas es inversamente proporcional al grado de sustitución, sobre todo en el parámetro de sabor. La combinación de harina de *P. aquatica* y harina convencional (maíz) incrementa, en todos los casos, los niveles de digestibilidad al compararse contra los tratamientos compuestos únicamente de harina de *P. aquatica* o maíz.

Las galletas elaboradas y analizadas conservan, aún después del horneado, las propiedades funcionales observadas en la semilla y pulpa. La sustitución parcial con harina de *P. aquatica* provocó un aumento significativo del contenido de fenoles totales y de la capacidad antioxidante, en especial en los extractos acuosos.

Con base en los resultados anteriores, se concluye que una galleta parcialmente sustituida con

harina de *P. aquatica* presenta propiedades nutrimentales y funcionales superiores a las encontradas en una elaborada con harina convencional. En el presente estudio, una sustitución al 50% con harina compuesta de *P. aquatica* ofrece el mejor balance entre propiedades nutrimentales, funcionales y aceptabilidad sensorial.

## 8. RECOMENDACIONES

Con base en los resultados obtenidos, se hacen las siguientes recomendaciones para trabajos futuros y/o complementarios:

- Determinación del perfil de compuestos fenólicos de la pulpa de *P. aquatica*
- Evaluar la capacidad antioxidante de las galletas y materia prima por otros métodos que puedan extrapolarse a un ambiente biológico.
- Realizar mejoras en la receta empleada con la finalidad de mejorar la aceptación sensorial sin comprometer la funcionalidad de esta.

## 9. REFERENCIAS

- A.O.A.C. (Association of Official Analytical Chemist). 2002. *Official Methods of Analysis* (18 ed.). Gaithersburg, Maryland, EE.UU.
- Abioye, V., Olatunde, S., & Elias, G. (2018). QUALITY ATTRIBUTES OF COOKIES PRODUCED FROM COMPOSITE FLOURS OF WHEAT, GERMINATED FINGER MILLET FLOUR AND AFRICAN YAM BEAN. *Zenodo (CERN European Organization for Nuclear Research)*. <https://doi.org/10.5281/zenodo.1845427>
- Aguilar-Paredes, O. A., Castillo-Guevara, C., Díaz-Godínez, R., Nieto-Camacho, A., & Méndez-Iturbide, D. 2018. Antioxidantes e inhibición de radicales libres: lipoperoxidación y carbonilación. *Mexican Journal of Biotechnology*, 3(1), 60–72. <https://doi.org/10.29267/mxjb.2018.3.1.60>
- Avello, M., & Suwalsky, M. 2006. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atenea*, 494. <https://doi.org/10.4067/s0718-04622006000200010>
- Awobusuyi, T. D., Siwela, M., & Pillay, K. 2020. Sorghum–Insect Composites for Healthier Cookies: Nutritional, Functional, and Technological Evaluation. *Foods*, 9(10), 1427. <https://doi.org/10.3390/foods9101427>
- Barberán, F. a. T. 2003. Los polifenoles de los alimentos y la salud. *ANS. Alimentación, Nutrición Y Salud*, 10(2), 41–53. <http://digital.csic.es/bitstream/10261/18042/3/lecturaPDF.pdf>
- Becker, M. M., Mandaji, C. M., Catanante, G., Marty, J. L., & Nunes, G. S. 2018. Mineral and bromatological assessment and determination of the antioxidant capacity and bioactive compounds in native Amazon fruits. *Brazilian Journal of Food Technology/Brazilian Journal of Food Technology*, 21(0). <https://doi.org/10.1590/1981-6723.02218>
- Benítez, B., Archile, A., Rangel, L., Ferrer, K., Barboza, Y., & Márquez, E. 2008. Composición proximal, evaluación microbiológica y sensorial de una galleta formulada a base de harina de yuca y plasma de bovino. *Interciencia*, 33(1), 61–65. [http://www.interciencia.org/v33\\_01/61.pdf](http://www.interciencia.org/v33_01/61.pdf)
- Bratosin, B. C., Martău, G. A., Ciont, C., Ranga, F., Simon, E., Szabo, K., Darjan, S., Teleky, B. E., & Vodnar, D. C. 2024. Nutritional and Physico-Chemical Characteristics of Innovative Bars Enriched with Aronia melanocarpa By-Product Powder. *Applied Sciences*, 14(6), 2338. <https://doi.org/10.3390/app14062338>
- Canalis, M. S. B., Steffolani, M. E., León, A. E., & Ribotta, P. D. (2016). Effect of different fibers on dough properties and biscuit quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture/Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(5), 1607–1615. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7909>
- Choi, H. Y. 2009. Antioxidant Activity and Quality Characteristics of Pine Needle Cookies. *Han'gug Sigpum Yeong'yang Gwahag Hoeji/Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 38(10), 1414–1421. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2009.38.10.1414>
- Clifford, M. N., Johnston, K. L., Knight, S., & Kuhnert, N. 2003. Hierarchical Scheme for LC-

- MSn Identification of Chlorogenic Acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(10), 2900–2911. <https://doi.org/10.1021/jf026187q>
- Compuestos fenólicos. Un análisis de sus beneficios para la salud.* (n.d.). <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-pdf-13063508>
- Costa, L. D., Trindade, R. P., Da Silva Cardoso, P., Colauto, N. B., Linde, G. A., & Otero, D. M. 2023. *Pachira aquatica* (Malvaceae): An unconventional food plant with food, technological, and nutritional potential to be explored. *Food Research International*, 164, 112354. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.112354>
- De Heredia María Rosario, B. 2016, May 1. *Alimentos funcionales*. Farmacia Profesional. <https://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-articulo-alimentos-funcionales-X0213932416546681#:~:text=Existen%20varias%20definiciones%20de%20alimento,riesgo%20de%20contraer%20ciertas%20enfermedades>.
- De Souza, M. G. C., & De Brito Silva, S. 2022. ANÁLISE SENSORIAL DE PRODUTO ELABORADO A PARTIR DA FARINHA DE MUNGUBA (*PACHIRA AQUATICA* AUBL.). SENSORY ANALYSIS OF PRODUCT ELABORATED FROM THE MUNGUBA FLOUR (*PACHIRA AQUÁTICA* AUBL.). In *Editora Científica Digital eBooks* (pp. 11–17). <https://doi.org/10.37885/220308329>
- Dendy, D. 1994. *Review of composite flour technology in the context of Tanzania. In: Presented at the workshop Sorghum and Millets Marketing and Utilization, Arusha, Tanzania. 3-5 May 1993. [abstract] Natural Resources Institute (NRI), University of Greenwich, UK.* <http://r4d.dfid.gov.uk/pdf/outputs/R5128b.pdf>
- Dhankhar, J., Vashistha, N., & Sharma, A. 2019. DEVELOPMENT OF BISCUITS BY PARTIAL SUBSTITUTION OF REFINED WHEAT FLOUR WITH CHICKPEA FLOUR AND DATE POWDER. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 8(4), 1093–1097. <https://doi.org/10.15414/jmbfs.2019.8.4.1093-1097>
- Ferrandiz, C. 2002. Regulation of fruit dehiscence in Arabidopsis. *Journal of Experimental Botany*, 53(377), 2031–2038. <https://doi.org/10.1093/jxb/erf082>
- Ferreira, S. M., Gomes, S. M., & Santos, L. 2023. The Chemistry Behind Biological Properties of Agro-industrial Portuguese By-Products. *Waste and Biomass Valorization*, 15(5), 2721–2733. <https://doi.org/10.1007/s12649-023-02366-3>
- Gao, Y., Xu, K., Peng, H., Jiang, J., Zhao, R., & Lu, J. 2018. Effect of Heat Treatment on Water Absorption of Chinese fir Using TD-NMR. *Applied Sciences*, 9(1), 78. <https://doi.org/10.3390/app9010078>
- Gerschman, R., Gilbert, D. L., Nye, S. W., Dwyer, P., & Fenn, W. O. 1954. Oxygen Poisoning and X-irradiation: A Mechanism in Common. *Science*, 119(3097), 623–626. <https://doi.org/10.1126/science.119.3097.623>
- Ghumman, A., Kaur, A., & Singh, N. 2016. Functionality and digestibility of albumins and globulins from lentil and horse gram and their effect on starch rheology. *Food Hydrocolloids*, 61, 843–850. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.07.013>
- H, M. C., León, S. V. Y., T, R. G., F, M. V., & Radilla, C. 2015. Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. *Revista Chilena De Nutrición*, 42(2), 206–212.

<https://doi.org/10.4067/s0717-75182015000200014>

- Han, I., & Lee, C. S. 2021. Quality properties and bioactivities of American cookies with coffee extract residues. *Lebensmittel-Wissenschaft + Technologie/Food Science & Technology*, 151, 112173. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112173>
- Handojo, L., Triharyogi, H., & Indarto, A. 2019. Cocoa bean shell waste as potential raw material for dietary fiber powder. *International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture*, 8(S1), 485–491. <https://doi.org/10.1007/s40093-019-0271-9>
- Hernández-Montero, J. R., & Sosa, V. J. 2015. Reproductive biology of *Pachira aquatica* Aubl. (Malvaceae: Bombacoideae): a tropical tree pollinated by bats, sphingid moths and honey bees. *Plant Species Biology*, 31(2), 125–134. <https://doi.org/10.1111/1442-1984.12096>
- Hussain, A., Kausar, T., Sehar, S., Sarwar, A., Ashraf, A. H., Jamil, M. A., Noreen, S., Rafique, A., Iftikhar, K., & Quddoos, M. Y. 2022. Determination of Total Phenolics, Flavonoids, Carotenoids,  $\beta$ -Carotene and DPPH Free Radical Scavenging Activity of Biscuits Developed with Different Replacement Levels of Pumpkin (*Cucurbita maxima*) Peel, Flesh and Seeds Powders. *Türk Tarım - Gıda Bilim Ve Teknoloji Dergisi*, 10(8), 1506–1514. <https://doi.org/10.24925/turjaf.v10i8.1506-1514.5129>
- Jamanca Gonzáles, N. C., & Alfaro Cruz, S. 2017. *Antioxidantes en los alimentos*. Universidad Nacional de Barranca. Lima, Perú: Editorial UNAB.
- Jamshidi-Kia, F., Wibowo, J. P., Elachouri, M., Masumi, R., Salehifard-Jouneghani, A., Abolhasanzadeh, Z., & Lorigooini, Z. 2020. Battle between plants as antioxidants with free radicals in human body. *Journal of Herbmmed Pharmacology*, 9(3), 191–199. <https://doi.org/10.34172/jhp.2020.25>
- Jáuregui, A. M. M., Ramos-Escudero, D. F., Ureta, C. a. O., & Castañeda, B. C. 2007. *Evaluación de la capacidad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos en recursos vegetales promisorios*. 73(3), 142–149. <http://www.redalyc.org/pdf/3719/371937606003.pdf>
- Jisha, S., Padmaja, G., Moorthy, S., & Rajeshkumar, K. 2008. Pre-treatment effect on the nutritional and functional properties of selected cassava-based composite flours. *Innovative Food Science and Emerging Technologies/Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9(4), 587–592. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2008.06.003>
- Jung, S., & Kang, W. W. 2011. Quality Characteristics of Cookies Prepared with Flour Partly Substituted by Used Coffee Grounds. *Han'gug Sigpum Jeojang Yu'tong Haghoeji/Han-guk Sikpum Jeojang Yutong Hakoeji*, 18(1), 33–38. <https://doi.org/10.11002/kjfp.2011.18.1.033>
- Kaur, M., Singh, V., & Kaur, R. 2017. Effect of partial replacement of wheat flour with varying levels of flaxseed flour on physicochemical, antioxidant and sensory characteristics of cookies. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 9, 14–20. <https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2016.12.002>
- Kiin-Kabari, D. B., & Giami, S. Y. 2015. Physico Chemical Properties and in-vitro Protein Digestibility of Non-Wheat Cookies Prepared From Plantain Flour and Bambara Groundnut Protein Concentrate. *Journal of Food Research*, 4(2), 78. <https://doi.org/10.5539/jfr.v4n2p78>
- Kruczek, M., Gumul, D., Korus, A., Buksa, K., & Ziobro, R. 2023. Phenolic Compounds and Antioxidant Status of Cookies Supplemented with Apple Pomace. *Antioxidants*, 12(2), 324.

<https://doi.org/10.3390/antiox12020324>

- Kulp, K., Olewnik, M., Lorenz, K., & Collins, F. 1991. Starch Functionality in Cookie Systems. *Stärke/Starch*, 43(2), 53–57. <https://doi.org/10.1002/star.19910430205>
- Kumar, K. A., Sharma, G. K., & Anilakumar, K. R. 2018. Influence of multigrain premix on nutritional, in-vitro and in-vivo protein digestibility of multigrain biscuit. *Journal of Food Science and Technology/Journal of Food Science and Technology*, 56(2), 746–753. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3533-z>
- Lawal, O. M., Sanni, O., Oluwamukomi, M., Fogliano, V., & Linnemann, A. R. 2021. The addition of fluted pumpkin (*Telfairia occidentalis*) leaf powder improves the techno-functional properties of cassava pasta. *Food Structure*, 30, 100241. <https://doi.org/10.1016/j.foostr.2021.100241>
- Lim, T. 2012. *Edible medicinal and non-medicinal plants Vol.1*. [https://perpustakaan.litbang.kemkes.go.id/index.php?p=show\\_detail&id=33080](https://perpustakaan.litbang.kemkes.go.id/index.php?p=show_detail&id=33080)
- Lima, A. A., Gonçalves, E. P., Viana, J. S., Souto, P. C., Da Rocha Gomes Ferreira, D. T., & Ralph, L. N. 2018. Desiccation of *Pachira aquatica* Aubl. Seeds. *Journal of Agricultural Science*, 10(11), 553. <https://doi.org/10.5539/jas.v10n11p553>
- Liu, L., Yang, T., Yang, J., Zhou, Q., Wang, X., Cai, J., Huang, M., Dai, T., Cao, W., & Jiang, D. 2022. Relationship of Starch Pasting Properties and Dough Rheology, and the Role of Starch in Determining Quality of Short Biscuit. *Frontiers in Plant Science*, 13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.829229>
- López-Martínez, L., Aguirre-Delgado, A., Saenz-Hidalgo, H., Buenrostro-Figueroa, J., García, H. S., & Baeza-Jiménez, R. 2022. Bioactive ingredients of huitlacoche (*Ustilago maydis*), a potential food raw material. *Food Chemistry. Molecular Sciences*, 4, 100076. <https://doi.org/10.1016/j.fochms.2022.100076>
- M, H., M, N., H, N., Zainol, M., & Jahurul, M. 2020. Functional properties of composite flour: a review. *Food Research*, 4(6), 1820–1831. [https://doi.org/10.26656/fr.2017.4\(6\).419](https://doi.org/10.26656/fr.2017.4(6).419)
- Machado, T. a. D. G., Pacheco, M. T. B., De Cássia Ramos Do Egypto Queiroga, R., Cavalcante, L. M., Bezerril, F. F., De Cássia Salvucci Celeste Ormenese, R., De Oliveira Garcia, A., Nabeshima, E. H., Pintado, M. M. E., & De Oliveira, M. E. G. 2021. Nutritional, physicochemical and sensorial acceptance of functional cookies enriched with xiquexique (*Pilosocereus gounellei*) flour. *PloS One*, 16(8), e0255287. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0255287>
- Mancebo, C. M., Rodríguez, P., Martínez, M. M., & Gómez, M. 2017. Effect of the addition of soluble (nutriose, inulin and polydextrose) and insoluble (bamboo, potato and pea) fibres on the quality of sugar-snap cookies. *International Journal of Food Science & Technology*, 53(1), 129–136. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13566>
- Mecha, E., Correia, V., Da Silva, A. B., Ferreira, A., Sepodes, B., Figueira, M. E., Patto, M. C. V., & Bronze, M. R. 2021. Improvement of wheat cookies' nutritional quality, by partial substitution with common bean and maize flours, sustained human glycemia and enhanced satiety perception. *Cereal Chemistry*, 98(5), 1123–1134. <https://doi.org/10.1002/cche.10460>
- Megias, M., Molist, P., & Pombal, M. 2019. Atlas de histología vegetal y animal. Órganos

vegetales. España: Universidad de Vigo. Obtenido de Atlas de histología vegetal y animal: [mmegias.webs.uvigo.es](http://mmegias.webs.uvigo.es)

- Mejía-Terán, A., Blanco-Lizarazo, C. M., Mateus, E. L., & Sotelo-Díaz, I. 2024. Techno-functional and physicochemical properties of corn flours as potential food ingredients. *Applied Food Research*, 100427. <https://doi.org/10.1016/j.afres.2024.100427>
- Melndez, P. M., Virginia, N. M., Ral, R. H., Jos, C. E., & Cristbal, N. A. 2014. A microassay for quantification of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging. *African Journal of Biochemistry Research*, 8(1), 14–18. <https://doi.org/10.5897/ajbr2013.0669>
- Mercado-Mercado, G., De La Rosa Carrillo, L., Wall-Medrano, A., Díaz, J. a. L., & Álvarez-Parrilla, E. 2013. [Polyphenolic compounds and antioxidant capacity of typically consumed species in Mexico]. *PubMed*, 28(1), 36–46. <https://doi.org/10.3305/nh.2013.28.1.6298>
- Norhidayah, M., Noorlaila, A., & Izzati, A. N. F. 2014. *Textural and sensorial properties of cookies prepared by partial substitution of wheat flour with unripe banana (Musa x paradisiaca var. Tanduk and Musa acuminata var. Emas) flour*. 21(6), 2133–2139. [http://www.ifrj.upm.edu.my/21%20\(06\)%202014/11%20IFRJ%2021%20\(06\)%202014%20Noshidayah%20203%20\(1\).pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/21%20(06)%202014/11%20IFRJ%2021%20(06)%202014%20Noshidayah%20203%20(1).pdf)
- Páez, A. L. C., Haro, E. F. G., & Moreno, I. C. O. 2020. Innovación y competitividad en el sector alimentario en tiempos de COVID-19: Alimentos funcionales nuevas oportunidades de negocio. *Repositorio De La Red Internacional De Investigadores En Competitividad*, 14(14). <https://www.riico.net/index.php/riico/article/view/1937>
- Pandey, K. B., & Rizvi, S. I. 2009. Plant Polyphenols as Dietary Antioxidants in Human Health and Disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2(5), 270–278. <https://doi.org/10.4161/oxim.2.5.9498>
- Pasqualone, A., Costantini, M., Labarbuta, R., & Summo, C. 2021. Production of extruded-cooked lentil flours at industrial level: Effect of processing conditions on starch gelatinization, dough rheological properties and techno-functional parameters. *Lebensmittel-Wissenschaft + Technologie/Food Science & Technology*, 147, 111580. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111580>
- Pérez-Jiménez, J. 2020. Potential of dietary extractable and non-extractable polyphenols in the prevention of cardiometabolic diseases. *Anales De La Real Academia Nacional De Medicina*, 136(03), 298–307. <https://doi.org/10.32440/ar.2019.136.03.rev11>
- Pourmohammadi, K., Abedi, E., Farahmandi, S., Mahmoudi, M. R., Hashemi, S. M. B., & Torri, L. (2018). Modeling the effects of corn and wheat resistant starch on texture properties and quality of resistant starch-enrichment dough and biscuit. *Journal of Food Process Engineering*, 42(2). <https://doi.org/10.1111/jfpe.12962>
- Quiñones, M., Miguel, M., & Aleixandre, A. 2012. *Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular*. 27(1), 76–89. <https://doi.org/10.3305/nh.2012.27.1.5418>
- Raiser, A. L., De Souza, A. M., Andrighetti, C. R., Ribeiro, E. B., & Valladao, D. M. S. 2018. Evaluation of Stability and Potential Antioxidant Activity of Munguba (Pachira aquática Aublet) Oil in Cosmetic Emulsions. *Latin America Journal of Pharmacy*, 8(37), 1491–1497.

- Rathore, H., Sehwal, S., Prasad, S., & Sharma, S. (2019). Technological, nutritional, functional and sensorial attributes of the cookies fortified with *Calocybe indica* mushroom. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13(2), 976–987. <https://doi.org/10.1007/s11694-018-0012-1>
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, 26(9–10), 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(98)00315-3)
- Rincón-Pérez, M. 2014. *Bosques de zapotonales (Pachira aquatica) en la Reserva de la Biosfera la Encrucijada, Chiapas, México*. D.F., México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Rodrigues, A. P., & Pastore, G. M. 2021. A review of the nutritional composition and current applications of monguba (*Pachira aquatica* Aubl.) plant. *Journal of Food Composition and Analysis*, 99, 103878. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.103878>
- Rodrigues, A. P., Pereira, G. A., Tomé, P. H. F., Arruda, H. S., Eberlin, M. N., & Pastore, G. M. 2019. Chemical Composition and Antioxidant Activity of Monguba (*Pachira aquatica*) Seeds. *Food Research International*, 121, 880–887. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.01.014>
- Rojas-Molina, I., Gutiérrez, E., Rojas, A., Cortés-Álvarez, M., Campos-Solís, L., Hernández-Urbíola, M., Arjona, J. L., Cornejo, A., & Rodríguez-García, M. E. 2009. Effect of Temperature and Steeping Time on Calcium and Phosphorus Content in Nixtamalized Corn Flours Obtained by Traditional Nixtamalization Process. *Cereal Chemistry*, 86(5), 516–521. <https://doi.org/10.1094/cchem-86-5-0516>
- Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. 1983. *NMX-F-006-1983: ALIMENTOS - GALLETAS*. SECOFI.
- Secretaria de Economía. 2023. *Galletas Dulces (Con Adición de Edulcorante): Intercambio comercial, compras y ventas internacionales, mercado y especialización | Data México*. Data México. Retrieved June 19, 2024, from <https://www.economia.gob.mx/datamexico/es/profile/product/sweet-cookies-with-added-sweetener>
- Servicio Forestal de los Estados Unidos de América. 2010. *Manual de Semillas de Árboles Tropicales*. (J. Vozzo, Ed.) EE.UU: Departamento de Agricultura de los Estados Unidos.
- Silva, K. B., Alves, E. U., Matos, V. P., & De Lucena Alcântara Bruno, R. 2012. Caracterização morfológica de frutos, sementes e fases da germinação de *Pachira aquatica* Aubl. (Bombacaceae). *Semina. Ciências Agrárias*, 33(3), 891–898. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2012v33n3p891>
- Silva, T. G., Kasemodel, M. G. C., Ferreira, O. M., Da Silva, R. C. L., Souza, C. J. F., & Sanjinez-Argandona, E. J. 2020. Addition of *Pachira aquatica* oil and *Platanus insignis* almond in cookies: Physicochemical and sensorial aspects. *Food Science & Nutrition*, 8(10), 5267–5274. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1368>
- Teixeira, G. L., Maciel, L. G., Mazzutti, S., Barbi, R. C. T., Ribani, R. H., Ferreira, S. R. S., & Block, J. M. 2021. Sequential green extractions based on supercritical carbon dioxide and pressurized ethanol for the recovery of lipids and phenolics from *Pachira aquatica* seeds.

- Journal of Cleaner Production*, 306, 127223. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.127223>
- Traynham, T. L., Myers, D. J., Carriquiry, A. L., & Johnson, L. A. 2007. Evaluation of Water-Holding Capacity for Wheat–Soy Flour Blends. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 84(2). <https://doi.org/10.1007/s11746-006-1018-0>
- Valencia-Aviles, E., Ignacio-Figueroa, I., Sosa-Martinez, E., Bartolomé-Camacho, M. C., Martinez-Flores, H.-E., & García-Pérez, M.-E. 2017. Polifenoles: Propiedades antioxidantes y toxicológicas. *Revista de la Facultad de Ciencias Químicas*(16), 15-29.
- Vargas, O. L. T., Salcedo, A. J. G., & Calderón, H. A. 2018. Physical-chemical characterization of quinoa (*Chenopodium quinoa Willd.*), amaranth (*Amaranthus caudatus L.*), and chia (*Salvia hispanica L.*) flours and seeds. *Acta Agronómica/Acta Agronómica*, 67(2), 215–222. <https://doi.org/10.15446/acag.v67n2.63666>
- Vásquez, F. M. F. F., & Fernández, H. Z. 2020. *Análisis proximal en alimentos Fundamentos teóricos y técnicas experimentales*. <http://colloquiumbiblioteca.com/index.php/web/article/view/43>
- Venereo-Gutierrez, J. R. 2002. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Revista Cubana de Medicina Militar*, 2(31), 126-133.
- Viana, H. N. a. C., Sganzerla, W. G., Castro, L. E. N., & De Lima Veeck, A. P. 2023. Characterization of baru (*Dipteryx alata Vog.*) and application of its agro-industrial by-product in the formulation of cookies. *Journal of Agriculture and Food Research*, 12, 100577. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2023.100577>
- Wong-Paz, J. E., Contreras-Esquivel, J. C., Rodríguez-Herrera, R., Carrillo-Inungaray, M. L., López, L. I., Nevárez-Moorillón, G. V., & Aguilar, C. N. 2015. Total phenolic content, in vitro antioxidant activity and chemical composition of plant extracts from semiarid Mexican region. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 8(2), 104–111. [https://doi.org/10.1016/s1995-7645\(14\)60299-6](https://doi.org/10.1016/s1995-7645(14)60299-6)
- Yoshikawa, T., & You, F. 2024. Oxidative Stress and Bio-Regulation. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(6), 3360. <https://doi.org/10.3390/ijms25063360>