

JBCT - JOURNAL OF BIOPROCESS AND CHEMICAL TECHNOLOGY, año 2019 Volumen 11, No 21 semestre enero – junio de 2019, es una publicación semestral editada por la Universidad Autónoma de Coahuila, a través de la Coordinación General de Estudios de Posgrado e Investigación. Edificio D planta alta Camporredondo, Saltillo, Coahuila, C.P. 25020, tels.: (844) 4-14-85-82 y 4-10-02-78.

www.biochemtech.uadec.mx/
Journal of Bioprocess and Chemical Technology

Editor Responsable Mónica L. Chávez González. Reserva de Derechos al uso exclusivo No. 04-2019-011112445500-203 **ISSN:** (*en trámite*), ambos otorgados por el Instituto Nacional del Derecho de Autor. Responsable de la última actualización de este Número, Departamento de Divulgación y Comunicación Digital de la Dirección de Investigación y Posgrado UA de C, Ing. Carlos F. Robledo Flores, Edificio “D” planta alta, unidad Camporredondo, Saltillo, Coahuila, C.P. 25280, fecha de última modificación, 01 de enero de 2019.

CONSEJO EDITORIAL

Editores en Jefe:

Dra. Mónica L. Chávez González
Dra. Adriana C. Flores Galleos
Dr. Juan A. Ascacio Valdes

Consejo Editorial:

Dr. Cristóbal N. Aguilar González, Dr. José Luis Martínez Hernández, Dr. David Castro Lugo.

Comité editorial:

Dra. Claudia Magdalena López Badillo, Dra. Anilu Rubio Ríos, Dra. Aidé Sáenz Galindo, Dr. Leonardo Sepúlveda Torre

Comité técnico editorial nacional e internacional

Dr. Damaso Navarro Rodríguez (**Materiales Avanzados Centro de Investigación en Química Aplicada**); Dr. Sylvain Guyot Agroquímica (**INRA-Unité de Recherches Cidricoles, Biotransformation des Fruits et Légumes. Francia**); Dra. Arely Prado Barragán (**Bioreactores y Fermentaciones Universidad Autónoma Metropolitana**); Dr. Deepak Kumar Verma (**Department of Agricultural and Food Engineering. Indian Institute of Technology**); Dra. Virginia Nevárez Moorillón (**Biotechnología Universidad Autónoma de Chihuahua**); Dr. Zainul Akmar Zakaria (**Chemistry & Engineering. Universiti Teknologi Malaysia**); Dra. Anna Iliina Dimitrevna (**Nanomateriales y Biotechnología Universidad Autónoma de Coahuila**); Dra. Liliana Serna (**Ciencia y Tecnología de Alimentos Universidad Nacional de Colombia**); Dr. Romeo Rojas Molina (**Ciencia y Tecnología de Alimentos Universidad Autónoma de Nuevo León**); Dra. Gisela Tubio (**Biotechnología Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad Nacional de Rosario**); Dr. José Juan Buenrostro Figueroa (**Ciencia y Tecnología de Alimentos Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C.**); Dr. Miguel Cerqueira (**Nanomateriales International Iberian Nanotechnology Laboratory. Portugal**); Dr. Miguel Ángel Aguilar González (**Materiales Centro de Investigación y de Estudios Avanzados-IPN**); Dr. Sócrates Palacios (**Revalorización de residuos Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL). Ecuador**); Dr. Miguel Velázquez Manzanares (**Química Analítica Universidad Autónoma de Coahuila**); Dra. Alessandra Napolitano (**Biomateriales University of Naples Federico II. Italia**); Dr. Nagamani Balagurusamy (**Catálisis enzimática y fermentaciones Universidad Autónoma de Coahuila**); Dr. José A. Teixeira (**Ingeniería Bioquímica University of Minho. Portugal**); Dr. Luis Víctor Rodríguez Durán (**Bioprocesos Universidad Autónoma de Tamaulipas**); Dr. Sevastianos Roussos (**Biotechnología y Biorremediación Université Paul Cezanne, Francia**); Dr. Jorge Enrique Wong Paz (**Bioprocesos Instituto Tecnológico de Ciudad Valles**); Dr. Luis Bermudez Humarán (**microbiología e Inmunología MICALIS Institute. INRA, Francia**); Dr. Shiburaj Sugathan (**Mirobiology Jawaharlal Nehru Tropical Botanic Garden and Research Institute. India.**); Dr. Sabu Abdulhameed (**Biotechnología y Microbiología. Kannur University**)

Journal of Bioprocess and Chemical Technology
Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila
Volumen 11, No. 21, Julio – Diciembre de 2019

Contenido

Editorial

Mónica L. Chávez González

Producción de esporas fúngicas por Fermentación en Medio Sólido bajo condición de estrés hídrico

Fungal Spores Production by solid-state fermentation under hydric stress condition
De la Cruz-Quiroz, R., Roussos, S., Tranier, M.T., Rodríguez-Herrera, R., Ramírez-Guzmán, N. and Aguilar, C.N.

Desarrollo e Innovación Tecnológica para Conservación de Carne de Cerdo

Development y Technological Innovation for Preservation of Pork Meat
Oropeza Nieto, D., Ventura-Sobrevilla, J. y Aguilar, C.N.

Rambután (*Nephelium lappaceum* L.): Una Revisión General

Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.): A General Review
D Hernández-Hernández C., Aguilar C.N., Rodríguez-Herrera R., Flores-Gallegos A. C., Morlett-Chávez J., Govea-Salas M., Ascacio-Valdés J.A.

Editorial

Al equipo Editorial de JBCT nos es grato presentarles el quinto número del Journal of BioProcess and Chemical Technology, en éste número encontrarán un artículo original en donde nos muestran el uso de agentes biológicos para coadyuvar en el control de plagas que afectan diversos cultivos. En un segundo documento de revisión, se presenta al fruto rambután como una fuente de compuestos químicos que poseen actividades biológicas, tanto nutricionales como funcionales y con diversas aplicaciones industriales. Y por último se encuentra una revisión sobre diversos métodos de conservación de carne de puerco, se comparan metodologías tradicionales con nuevas e innovadoras propuestas.

Esperamos que este quinto número de JBCT sea de su agrado.

Dra. Mónica L. Chávez González

Producción de esporas fúngicas por Fermentación en Medio Sólido bajo condición de estrés hídrico

Fungal Spores Production by solid-state fermentation under hydric stress condition

De la Cruz-Quiroz, R.¹, Roussos, S.², Tranier, M.T.^{1,2}, Rodríguez-Herrera, R.¹, Ramírez-Guzmán, N.¹ and Aguilar, C.N.^{1*}

¹Research Group of Bioprocesses and Bioproducts (DIA-UAdeC). School of Chemistry. Universidad Autónoma de Coahuila. Saltillo, México.

²Equipe Ecotechnologies et Bioremédiation, IMBE-UMR CNRS-7263/IRD-237, Case 421, Aix Marseille Université; Campus Etoile, Faculté St Jérôme; 13397 Marseille cedex 20; France

*Autor de correspondencia: crisobal.aguilar@uadec.edu.mx Tel: (844)416 12 38

Resumen

El control biológico se aplica en más de 30 millones hectáreas en todo el mundo para reducir las plagas que causan importantes pérdidas en la agricultura. Norteamérica tiene las mayores ventas de agentes de control biológico (ABC). Un fuerte crecimiento en el uso de ABC, particularmente de agentes microbianos, está teniendo lugar en América Latina, seguido por Asia. *Trichoderma harzianum* es un hongo importante como biopesticida, particularmente contra microorganismos patógenos de plantas. En el presente estudio, se evaluó la influencia de la tensión hídrica como estrategia para aumentar la producción de esporas y la viabilidad celular de *T. harzianum* por fermentación de estado sólido (SSF). El bagazo de caña de azúcar, el salvado de trigo y la pulpa de olivo fueron evaluados como apoyos del crecimiento fúngico y monitoreados por respirometría. La producción de esporas, la viabilidad y la actividad de la celulasa se monitorearon cinéticamente. Los resultados demostraron que la tensión hídrica aplicada en SSF no funcionó para aumentar la producción de esporas, pero aumentó la viabilidad de las esporas (1,3 x10⁹ espora/g de fuente de carbono, con 24,7% de viabilidad). Una buena funcionalidad de bagazo de caña de azúcar y del salvado de trigo fue encontrada como sustratos de SSF para producir las esporas y las celulasas de *T. harzianum*.

Palabras clave: estrés hídrico, fermentación de estado sólido, celulasas, esporas, *Trichoderma harzianum*.

Abstract

Biological control is applied in over 30 million hectares worldwide to reduce pests that cause significant losses in agriculture. North America has the largest sales of biological control agents (ABC). Strong growth in the use of ABC, particularly microbial agents, is taking place in Latin America, followed by Asia. *Trichoderma harzianum* is an important fungus as a biopesticide, particularly against pathogenic microorganisms of plants. In the present study, the influence of water tension was evaluated as a strategy to increase the production of spores and the cellular viability of *T. harzianum* by solid state fermentation (SSF). Sugar cane bagasse, wheat bran and olive pulp were evaluated as support for fungal growth and monitored by manometric. Spore production, viability and cellulase activity were monitored kinetically. The results showed that the water stress applied in SSF did not work to increase the production of spores but increased the viability of the spores (1.3 x10⁹ spore/g of carbon source, with 24.7% viability). A good functionality of sugar cane bagasse and wheat bran was found as SSF substrates to produce spores and cellulase of *T. harzianum*.

Keywords: Hydric stress, solid-state fermentation, cellulases, spores, *Trichoderma harzianum*.

INTRODUCTION

Biological control is an environmentally friendly strategy and effective tool to reduce, or mitigate the pests and pest effects using natural enemies, including the excessive use and the effect of chemical pesticides, since these generate resistance of pathogenic microorganisms, high environmental damages and human health among other negative effects¹. Some fungi can be considered as biological control agents (BCA), because they act as natural enemies of plant pathogens²; particularly, the filamentous fungus *Trichoderma harzianum* has physiological, enzymatic and biochemical properties, which give it the capacity to grow on low water activity substrates^{3,4}. Also, it is industrially used to produce cellulase, antibiotics, flour protein enrichment, flavored compounds and biopesticides^{5,6}. *T. harzianum* inhibits the species of *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea*, *Crinipellis perniciosa*, *Rhizoctonia solani*, etc.⁷⁻¹⁰.

BCA can be produced by SSF, which is a microbial process carried out on solid materials surface in the absence of free water. The materials should have the property to absorb the water with, or without soluble nutrients, since the substrate must have enough water for supporting the microbial growth and metabolism^{11,12}. A fundamental step of SSF is the selection of substrate with low cost and good availability. All the substrates have a common feature, a basic macromolecular structure of starch, cellulose, lignocellulose, pectin, or other polysaccharides. Generally, the substrates for SSF are agricultural products, or agroindustrial wastes, which have heterogeneous composition, and offer attractive advantages for applications in fermentation processes¹³.

There are several uses of the SSF such as biomass production, enzyme production and secondary metabolites production, like mycotoxins, or fragrances, etc. The SSF can be used for BCA production, including spores, biocatalysts, inoculum and biomasses, facilitating the biopesticide application on the field crops. However, it has been proposed that the desirable quality of a BCA can be significantly improved through the application of hydric stress, because it could promote the virulence and viability for a stock long time^{1,14}. Nevertheless, it is necessary to demonstrate such effectively of hydric stress. Hence, this study was carried out to evaluate the influence of hydric stress to increase the spore production by *Trichoderma harzianum* in SSF using sugarcane bagasse, wheat bran, olive pulp and potatoes flour in column bioreactors.

MATERIALS AND METHODS

Microorganisms and culture conditions

The fungal strain of *T. harzianum* IRDT22C was provided by the Institute Mediterranean of Biodiversity and Marine Ecology and Continental (IMBE), Aix-Marseille University, France. The strain was inoculated and cultured on potato dextrose agar (PDA) and incubated at 29°C for five days. Spores suspension was prepared by adding 20 mL of Tween 80 (0.1 g/L) in the flask; the spores were counted in a cell counter chamber (Malassez).

Spore germination

A kinetic study of spore germination was carried out using sterile mix (70:30, w/w) of sugarcane bagasse and wheat bran substrate of SSF at 75% of humidity, 29°C and 2×10^7 spore/g inoculum³. The spore germination kinetics was done through direct observation at microscope, each hour during two days until germination of all the spores. The results are shown as the percentage of spores germination. A germinated spore is when the germinated tube is equal, or higher at the diameter of spore¹⁵.

Solid-state fermentation (SSF)

The fermentations were done in column bioreactors¹⁶. Several treatments were conducted to evaluate the fungal spores production comparing several solid substrates as supports of SSF. The fermentations were coded as SSF-1, SSF-2, SSF-3 and SSF-4. Each treatment was done in triplicates and monitored kinetically to evaluate the physiology of *T. harzianum*. The material used was sugarcane bagasse (SCB), wheat bran (WB), olive pulp (OP) and potatoes flour (PF). The material was sterilized at 120°C for 30 min. After inoculation (2×10^7 spore/g of support), bioreactors were incubated at 29°C. Culture conditions are showed on table 1. The Czapeck Dox medium containing (g/L) NaNO₃ 3.0, KH₂PO₄ 1.0, MgSO₄ 0.5 and KCl 0.5 g/L were the mineral solution used in SSF-1.

Table 1- Culture conditions of the solid-state fermentations.

SSF	Solid substrates (%)				Mineral solution	pH	Moisture (%)	Packed material (g)	Flow (mL/min)	
	SCB	WB	OP	PF					Initial	Final
1	70	20	10	---	Added	4.4	75	30	25	25
2	50	30	---	20	-----	5.6	66	20	25	35
3	50	30	---	20	-----	5.6	66	20	25	40
4	50	30	---	20	-----	5.6	66	20	25	100

* The mineral solution was 9.7 g of (NH₄)₂SO₄, 2.4 g of urea and 5 g of KH₂PO₄, for each 100 g of substrate.

Sampling, treatment and analytical determinations

After the fermentation, 5.0 g of sample was withdrawn from each column and placed in conical tubes (50 mL), and then were frozen for post-analysis. The remainder of the sample was used to check the moisture and, pH and to make morphological observations on fungal growth in function of the time. The values of air-flow, temperature, humidity percentage and CO₂ of SSF were monitored through respirometry using the PNEO equipment¹⁷.

Kinetic sporulation of *T. harzianum* on SSF

One gram of each sample from the fermented material was placed in an Erlenmeyer flask with 100 mL of Tween 80 at 0.01 % and stirred for 10 min. The spore counting was done every 12 h, using the cell counter chamber (Malassez). The results were expressed as the spores number per gram of carbon source

initially present in the culture media (spore/g CS). A culture of *T. harzianum* on PDA medium was used as control.

Spores viability of *T. harzianum* under different stock conditions

Four warehouse conditions were evaluated to observe the spore viability. The lyophilized sample (LSS), frozen sample (FSS), dry sample (DSS) and PDA sample (PSS). The samples DSS (0.5 g), LSS (0.5 g) and FSS (1.0 g) were placed in a conical tube with 40 mL of Tween 80 at 0.1% and stirred. 10 mL of PSS were added in the flask; after this, the samples were diluted and each one was inoculated (0.2 mL) on Petri plates with PDA/ rose Bengal. Colonies were counted and calculated to know the viable spores number per gram of the sample³.

Cellulase determination of *T. harzianum*

Defrosted samples (5.0 g wet weight) were mixed with 50 mL of distilled water, the suspension was homogenized using an Ultra-turrax for 1 min and then pH was measured. Several dilutions were done (1/2, 1/5, 1/10) for other analysis. Reducing sugars were spectrophotometrically determined by the Miller method¹⁸. Samples (2.0 mL) and DNS reagent (3.0 mL) were taken in a test tube, vortexed and placed in a bath at 100 °C for 5 min. Reaction was stopped by placing the tube in an ice frozen bath. Calibration curve was made from 0 to 1 g/L of glucose and the absorbance was measured at 575 nm. The carboxymethyl cellulase (CMCA, endo 1,4-β-D-glucanase, EC 3.2.1.4) and filter paper (FPA, exo 1,4-β-D-glucanase, EC 3.2.1.91) were determined by the methodology of Mandels¹⁹ and expressed as international unit (IU). One IU of cellulase activity was the amount of enzyme to release a micromole of glucose per minute of the reaction.

Experimental design and data analysis

For each fermentation process, an experimental design with mono-factorial arrangement was used to evaluate each response as the function of time. The ANOVA was done by the software UANL version 2.5 and the mean comparison tests by the Tukey test.

RESULTS AND DISCUSSION

The aim of this study was the production of spores of *T. harzianum* in SSF and to compare this conventional fermentation conditions under the hydric stress conditions. The sporulation kinetic showed a highest value (8.6x10⁹ spores/ g CS) at 147 h. After this time, the sporulation level was stable with a slowly decrease (Table 2). The behavior of the kinetic spore production on SSF-1 and SSF-2 was similar. The moisture and pH were stable in both the cases and after 48 h, the pH increased until neutral levels. The maximum concentration of CO₂ released was 2% at 48 h, and then it was decreased at 0% at the end of SSF. The spores concentration obtained on SSF-1 reached a maximum value of 4.33x10⁹ spore/ g CS at 161 h, with a productivity of 2.7x10⁷ spore/ g * h. In the case of SSF-2, the sporulation was 8.90x10⁹ spore/ g CS at 120 h, with a productivity of 6.9x10⁷ spore/ g * h (Table 2).

Table 2. Spore production by *T. harzianum* on SSF.

Treatment	pH		Maximum % CO ₂	Spore /g CS	Maximum production (h)	Fase lag (h)	Productivity (spore/g * h)
	Initial	Final					
PDA	---	---	---	8.6x10 ⁹ b	147	96	5.6x10 ⁷ b
SSF1	4.42	7.12	2.062	4.3x10 ⁹ c	161	48	2.7x10 ⁷ c
SSF2	5.80	6.46	---	8.9x10 ⁹ b	120	32	6.9x10 ⁷ a
SSF3	5.96	6.34	1.29	1.03x10 ¹⁰ a	168	27	5.8x10 ⁷ b
SSF4	6.07	5.9	---	1.3x10 ⁹ d	115	67	1.1x10 ⁷ d

*Different letters in the same column are statistically different

The pH was stable in SSF-3 and SSF-4 but the same was not with the moisture, which decreased to 59 and 8%, respectively. This was due to the application of dry air throughout the columns in SSF-4. SSF-3 resulted 1.03x10¹⁰ spores/ g CS at 168 h, with a productivity of 5.8x10⁷ spore/ g * h. The maximum concentration of CO₂ released was 1.29% at 72 h, and then it was decreased to 0% at the end of fermentation. SSF-4 resulted 1.3x10⁹ spore /g CS at 115 h, with a productivity of 1.1x10⁷ spore/ g * h (Table 2). SSF-3 and SSF-2 showed higher spores production. The conditions used in both the experiments were the same, except for the flow of the dry air, which was 35 and 40 mL/min, respectively. Comparing the conditions of all the fermentation process, the SSF-3 was the best for the production of spores, although the productivity was better in SSF-2. The hydric stress applied on SSF-4 did not show spores production comparable with SSF-2 or SSF-3. The spore production was ten times less than SSF-3. But it was important to note that after the process, the product was already dry, so it was easy to store. Four treatments were evaluated to store the spores produced by SSF: lyophilization (LSS), drying (DSS), freezing (FSS) and refrigeration on PDA (PSS). The spores stored on PDA medium at 4°C were the control (25% of viability). The spores obtained from the dry samples from SSF-4 reached a 24.7% of viability (Table 3), showing that the SSF with hydric stress applied allowed an easier way to produce the spores with viability similar to PDA without additional energy expenditure.

Table 3. Spore viability percentage of *T. harzianum* under several storage treatments.

Treatment	Total spores/ g CS	Spores/ g CS viable	% viable spores
LSS	1,26E+10	4,00E+08	3,17 c
FSS	7,56E+09	1,19E+09	15,64 b
PSS	8,30E+10	2,13E+10	26,75 a
DSS	4,24E+09	9,64E+08	24,70 a

*Different letters in the same column are statistically different

The cellulase activity obtained during the growth of *T. harzianum* on a mix of sugarcane bagasse and wheat bran increased over the time and was maximum at 48 h. These enzymes are synthesized during the active growth of mycelium and they are excreted to outside of the cell³. The filter paper activity (FPA) indicates the action of cellulases against the insoluble cellulose. In this work, higher FPA was observed in SSF-1 (86.7 IU/L at 96 h). The carboxymethyl-cellulose activity showed the effect of cellulases on soluble cellulose and was maximum in SSF-1 (1666 IU/L at 89 h) (Fig. 1). The CMCA values in SSF-1 remained stable during 91 h, from the maximum production of cellulase until the end of fermentation. This showed high stability of CMCA over the time.

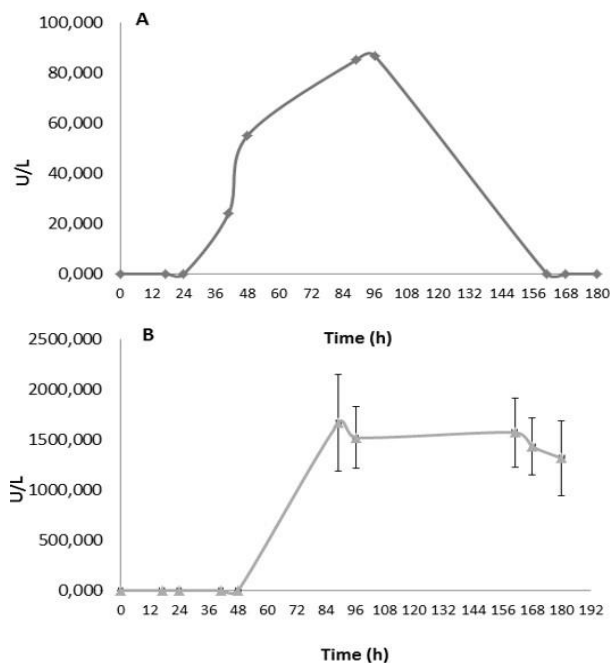


Figure 1 - Cellulase production by *T. harzianum* on SSF, A (FPA) and B (ACMC).

There are some studies on the production of several enzymes and spores under SSF (20-22). SSF is a preferred system because the raw materials used in it as the substrates are cheaper such as sugarcane bagasse, wheat bran, among others²³. Efforts have been made on the production of biological control agents using several systems. For example, Shahzadi et al.²⁴ reported the use of corn cob under SSF by *T. asperellum* obtaining a yield of 3.13×10^9 spores/g. Motta and Santana²⁵ used empty fruit bunch and a *Trichoderma* sp in SSF and found 4.4×10^9 spores/g in columns bioreactors. Roussos³ evaluated a mix of sugarcane bagasse and wheat bran as substrate in SSF and obtained 1570 and 21052 IU/L/100 g CS to FPA and CMCA, respectively. The corresponding values obtained in liquid media with wheat straw/bran substrate mixture were 1770 and 17280 IU/L / 100 g CS to FPA and CMCA, respectively. The CMCA values were at

least 10 fold higher over the FPA under the conditions used, which was similar to the present findings.

Fungal sporulation starts when environmental and nutritional factors become critical to the life-cycle of the fungus. The spores are the units of reproduction and conservation to filamentous fungi, capable to support the extreme conditions and resist to physical and chemical attacks¹. The sporulation occurs on the surface and in all the cavities that offer free spaces. Hence, solid media represent the best place for the production spores by the filamentous fungi. If a liquid medium is stirred, the spores cannot be formed on the surface, rather are dispersed in the medium with a very low yield. The liquid media have high water content, therefore, the biomass obtained in this process have a risk that the spores could germinate³.

To understand about the hydric stress, it is necessary to know about the water and its influence on the life. Water always has an impact on biological systems due at interactions mechanisms with several organic molecules, and has two mainly functions, as solvent and structural at molecular and cellular level²⁶. Therefore, the water plays an important role in all culture systems such as solid-state fermentation (SSF) and submerged cultures. In the SSF, the moisture requirement is very low, which results on a limiting factor to growth and metabolism of microorganisms. Oriol et al.²⁷ reported that water content on SSF should be on a range between 30 to 80 % depending on the substrate used. The maintenance of functional features of some enzymes and the mechanic structure of plasmatic membrane could be denatured due to lack of proper water and could affect the permeability properties and transport through the membrane, causing cell perturbation²⁸.

The water activity (a_w) has been used as predictive criteria of the physiology functions of the microorganisms. It influences the cellular mechanism, metabolites production, aroma, fungal growth (radial and apical) and sporulation²⁶. The increase of a_w on a substrate could cause a reduction on the spore germination time and increase the specific growth rate of microorganism²⁷. It is well known that low levels of a_w could inhibit the growth of filamentous fungi, causing low levels of mass transfer and low water availability, therefore, the conversion of substrate to biomass is not carried out completely²⁷.

The spore formation is induced when a limiting factor is decreasing in a culture media, therefore, the lack of nutrients cause the start of the sporogenesis (physiological stage that correspond at formation and release of the resistance form and reproduction)³. The nature of limit factor is very variable and generally is the water and carbon and nitrogen sources. However, there are physicochemical factors that have the ability to start the sporogenesis, such as pH, CO₂, O₂, temperature and secondary metabolites³.

In SSF, the hydric stress is a condition applied with dry air, which could favor the sporulation and minimize the time of production. This offers an early induction to sporulation and the excess of water is evaporated, resulting in the release of the space for the sporulation, which contributes in increase of sporulation index. However, to make a hydric stress process more productive, it is necessary to optimize the processes to allow maximum production of the spores.

A successful biological control product needs a long shelf-life.

Commercially, the most recommendable is a dry product, because it is easy to store, formulate and apply²⁹. The high temperatures and moisture content are important environmental conditions that affect the deterioration rate of biological systems. This deterioration can be reduced by a slowly drying with air, without high temperatures, keeping high levels of germinal propagulates. This work achieved to conserve 25% of spores on the dry material with the possibility to germinate, which reduced the cost of storage because it did not require refrigeration, lyophilization, or other subsequent process. The obtained biomass could be used for several applications such as starter inoculum for fermentations, biopesticides, bioherbicides, valorization of agricultural byproducts, production of primary and secondary metabolites, etc.

The respirometry system was a useful tool due to the monitoring of physiological stages of microorganism. The present results showed that at 48 h SSF, the maximum metabolic activity of *T. harzianum* was maximum under specific conditions, when the sporulation began. The mixed substrate SSF with sugarcane bagasse and wheat bran showed high influence on cellulase production, specifically on the activity levels (CMCA and FPA) and stability over the time and was effective for the production of spores and cellulase.

These results suggested the good functionality of sugar cane bagasse and wheat bran as substrates for the SSF to produce the spores and cellulases by *T. harzianum* and the spores concentration was comparable with that obtained on PDA. Therefore, this added value to these wastes and also it could reduce the cost of biomass production (mycelium, or spores). The application of hydric stress did not increase the spores production, but it increased the viability of the spores.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank National Council of Science and Technology of Mexico (CONACYT) for the financial support during the stage on France (Scholarship No. 305744). The authors thank Department of Food Research (Mexico), to Institut de Recherché pour le Development (IRD) and the Institut Méditerranéen de Biodiversité et d'Ecologie Marine et Continentale (IMBE) for the technical facilities.

REFERENCES

- Brand D. Utilization of solid state fermentation for the production of fungal biological control agents: case study on *Paecilomyces lilacinus* against root-knot nematodes. Thèse Doctorat de l'Université de Provence, Marseille, France. 2006; 188 p.
- Kerry BR. Biological control. In principles and practice of nematode control in crops. Academic Press 1987 ; 233-263.
- Roussos S. Croissance de *Trichoderma harzianum* par fermentation en milieu solide: Physiologie, sporulation et production de cellulases. Thèse Doctorat d'Etat, Université de Provence, Marseille, France. 1985 ;193 p.
- Raimbault M. General and microbiological aspects of solid substrate fermentation. *Elect J Biotech.* 1998;1(3): 1–15. DOI:/10.4067/S0717-34581998000300007.
- Roussos S, Olmos A, Raimbault M, Saucedo-Castañeda G, Lonsane BK. Strategies for large scale inoculum development for solid state fermentation system: conidiospores of *Trichoderma harzianum*. *Biotechnol Tech.* 1991;5(6): 415-420.
- Sarhy-Bagnon V, Lozano P, Saucedo-Castaneda G, Roussos S. Production of 6-pentyl-alpha-pyrone by *Trichoderma harzianum* in liquid and solid state cultures. *Process Biochem.* 2000;36(1-2): 103-109.
- Elad Y, Chet I, Henis Y, Biological control of *Rhizoctoniasolani* in strawberry fields by *Trichoderma harzianum*. *Plantsoil.* 1981;60(2): 245-254.
- De Marco JL, Valadares-Inglis MC, Felix CR. Production of hydrolytic enzymes by *Trichoderma* isolates with antagonistic activity against *Crinipellis pernicioso*, the causal agent of witches broom cocoa. *Braz J Microbiol.* 2002;34(1): 33-38.
- Huang XQ, Chen LH, Ran W, Shen QR, Yang XM. *Trichoderma* sp. strain SQR-T37 and its bio-organic fertilizer could control *Rhizoctoniasolani* damping-off disease in cucumber seed-lings mainly by the mycoparasitism. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2011;91(3):741–755.
- Chen LH, Cui YQ, Yang XM, Zhao DK, Shen QR. Antifungal compound from *Trichoderma harzianum* SQR-T037 effectively controls *Fusarium* wilt of cucumber in continuously cropped soil. *Australas Plant Path.* 2012 ;41(1): 239-245.
- Roussos S, Lonsane BK, Raimbault M, Viniegra-González G Advances in solid state fermentation. Kluwer Academic Publishers. Montpellier. 1997; pp 631.
- Pandey A. Solid state fermentation. *BiochemEng J.* 2003;13(2): 81-84.
- Pandey A, Soccol CR, Larroche C. Current Developments in Solid State Fermentation. Springer Asiatech Publishers Inc. New Delhi. 2008;pp 517.
- Hassouni H. Physiologie de la sporulation des champignons filamenteux pour la production de spores et d'enzymes en fermentation en milieu solide. Thèse Doctorat, Institut Agronomique et Vétérinaire, Maroc. 2007 ;165 p.
- Dantigny P, Bensoussan M, Vasseur V, Lebrihi A, Buchet C, Ismaili-Alaoui M, et al. Standardisation of methods for assessing mould germination: A workshop report. *Int J Food Microbiol.* 2006; 108: 286-291.
- Raimbault M, Alazard D. Culture method to study fungal growth in solid state fermentation. *Eur J Appl Microbiol Biotechnol.* 1980;9:199-209.
- Lakhtar H. Culture du *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler sur résidus oléicoles en fermentation en milieu solide: Transformation des polyphénols des margines. Thèse Doctorat de l'Université Paul Cezanne, Marseille, France. 2009 ; pp 171.
- Miller GL. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analyt Chem.* 1959;31(3): 426-428.

- Mandels M, Andreotti R, Roche C. Measurement of saccharifying cellulase. *BiotechnolBioengSymp.* 1976;**6**: 21-33.
- [Ramachandran S](#), [Fontanille P](#), [Pandey A](#), [Larroche C](#). Spores of *Aspergillus niger* as reservoir of glucose oxidase synthesized during solid-state fermentation and their use as catalyst in gluconic acid production. *LettApplMicrobiol.* 2007. **44**(2):155-60.
- [Buenrostro-Figueroa J](#), [Ascacio-Valdés A](#), [Sepúlveda L](#), [De la Cruz R](#), [Prado-Barragán A](#), [Aguilar-González MA](#), et al. Potential use of different agroindustrial by-products as supports for fungal ellagitannase production under solid-state fermentation. *Food Bioprod Process.* 2013. **92**(4):376-382.
- Pirota RDPB, Delabona PS, Farinas CS. Simplification of the biomass to ethanol conversion process by using the whole medium of filamentous fungi cultivated under solid-state fermentation. *Bioenerg Res.* 2014; **7**(2): 744-752.
- Shahzadi T, Ikram N, Rashid U, Afroz A, But HI, Anwar Z, et al. Optimization of physical and nutritional factors for induced production of cellulase by co-culture solid-state bio-processing of corn stover. *wseas transactions on environment and development.* 2013;**4**(9):263-267.
- Kancelista A, Tril U, Stempniewickz R, Piegza M, Szczech M, Witowska D. Application of lignocellulosic waste materials for the production and stabilization of *Trichoderma* biomass. *Pol J Environ Stud.* 2013; **22**(4): 1083-1090.
- Motta FL, Santana MHA. Solid-state fermentation for humic acid production by *Trichoderma reesei* strain using an oil palm empty fruit bunch as the substrate. *Appl BiochemBiotechnol.* 2014; **172**(4): 2205-2217.
- Gervais P, Molin P. The role of water in solid-state fermentation. *BiochemEng J.* 2003;13: 85-101.
- Oriol E, Raimbault M, Roussos S, Viniegra-González G. Water and water activity in the solid state fermentation of cassava starch by *Aspergillus niger*. *Appl Microbiol Biotechnol.* 1988;**27**(5): 498-503.
- Wolfe J, Steponkus PL. Tension in the plasma membrane during osmotic contraction. *Cryo-Lett* 1983; **4**: 315-322.
- Pedreschi F, Aguilera JM, Viability of dry *Trichoderma harzianum* spores under storage. *Bioprocess Eng.* 1997;**17**: 177-183.

Desarrollo e Innovación Tecnológica para Conservación de Carne de Cerdo

Development y Technological Innovation for Preservation of Pork Meat

Oropeza Nieto, D¹, Ventura-Sobrevilla, J^{1*} y Aguilar, C.N¹.

¹Research Group of Bioprocesses and Bioproducts (DIA-UAdeC). School of Chemistry. Universidad Autónoma de Coahuila. Saltillo, México.

*Autor de correspondencia: janethventura@uadec.edu.mx Tel: (844)416 12 38

Resumen

La carne de cerdo es un alimento básico en platillos en diferentes partes del mundo, sin embargo, es susceptible a la degradación microbiana, por lo cual su estadía en los centros de ventas es mínima. La conservación de los alimentos se ha desarrollado desde tiempos ancestrales, por lo cual con en el transcurso del tiempo se ha innovado para poder proporcionar alimentos sanos y seguros a la población. El reto en las tecnologías de conservación es lograr mantener las características fisicoquímicas del alimento y simultáneamente controlar la carga microbiológica. Los métodos para conservación de la carne son diversos y se clasifican en dos grandes grupos los tradicionales (secado, salado, ahumado, curado) y los modernos (pulsos de luz, plasma, altas presiones, empaque vacío, recubrimientos comestibles, altas presiones). Ambos grupos reducen la carga antimicrobiana, pero difieren en la calidad sensorial de producto.

Palabras clave: carne de cerdo, tecnología, conservación

Abstract

Pork meat is a basic food on diverse dishes on the world, however it is susceptibility to microbial degradation, so its stay on sales centers is minimal. Preservation of food has been developed since ancient times, so with the passage of the time has innovated to provide healthy y safe food to the population. The challenge in conservation technologies is to maintain the physicochemical characteristics of the food and simultaneously to control the microbiological load. Are several the methods of food preservation applied in pork meat, these are classified in two groups: traditional (drying, salting, smoking, curing) and modern (light pulses, plasma, high pressure, vacuum packing, edible coatings, bacteriocins). Both groups reduce the antimicrobial load, but they differ in the sensory quality of the product.

Keywords: pork meat, technology, conservation

INTRODUCCIÓN

La carne es un producto de origen animal que es considerada como un alimento (Chen y col. 2012; Tscheuschner, 2001; Zhou y col. 2010) de alto valor proteico (EFSA, 2012; Vranken y col. 2014). Este alimento es una pieza clave en la dieta humana de los países desarrollados, por lo cual elaboran una variedad de platillos (Kearney, 2010).

La carne de cerdo, res, ternera y oveja destacan en el consumo

de carnes rojas en los países desarrollados con un valor aproximado de 110g diarios (FAO, 2009; McNeill y Van Elswyk, 2012). Sin embargo, a nivel mundial la carne de cerdo es una de las preferidas por los consumidores (FAO, 2009) gracias a su sabor y su aporte nutritivo (Hu y col. 2015; Tang y col. 2013).

Algunos criterios que los consumidores tiene para la adquisición

de carne o productos cárnicos son el precio, el sabor agradable y el cumplimiento de los requisitos de ser un alimento de calidad (Henchion y col. 2014; Resano y col. 2011). Sin embargo, la carne y los productos cárnicos tienen como desventaja ser un alimento altamente perecedero y susceptible a ataques microbiológicos generando reacciones que disminuyen su calidad.

La tecnología de la conservación de los alimentos se ha desarrollado y trascendido desde tiempos antiguos en la historia de la humanidad (Haugaard y col. 2014). El principal objetivo de los métodos de conservación en los alimentos cárnicos es alargar su vida de anaquel extendiendo su inocuidad y

disminuyendo el deterioro de la calidad causado por factores externos e internos a la carne, incluido el daño microbiano (Zhou y col. 2010). Algunos puntos claves para la preservación y almacenamiento de la carne son el control de la temperatura, de la humedad e inhibición microbiana (Lawrie y Ledward, 2017), sin embargo, las propiedades organolépticas pueden ser afectadas.

Los métodos de conservación se pueden clasificar en tecnologías tradicionales y modernas, y dentro de ellos mediante el tipo de proceso al cual es sometida la carne, como térmico (proceso físico), uso de aditivos (proceso químico) y por fermentaciones (proceso biotecnológico) (Figura 1).

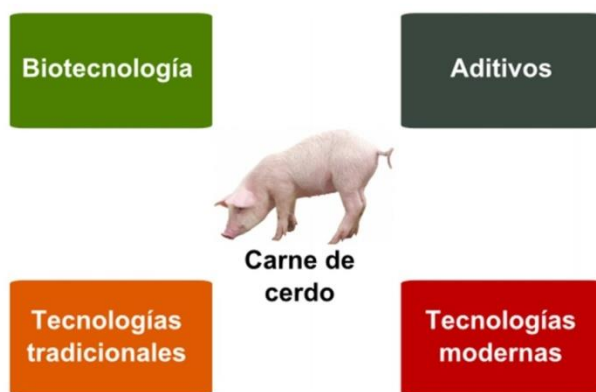


Figura 1. Métodos de conservación de la carne de cerdo.

Carne de cerdo

La carne de cerdo es la segunda carne más producida en el mundo, con una producción de 118 millones de toneladas métricas para el 2016 y 120.7 para el 2018, es decir se incrementó 2.28%, siendo la carne de ave de corral la más producida con 123.21 en el 2018 (STATISTA, 2019). Los primeros cerdos fueron domesticados en el Medio Oriente alrededor del 8,500 A. C. y posteriormente fueron introducidos en Europa por agricultores (Larson y col. 2007). Los cerdos domésticos descienden de dos cerdos salvajes, *Sus scrofa*, procedente de Europa y *Susscrofavittatus*, de Asia (Lawrie y Ledward, 2017). El compendio informativo FAOSTAT registró en el 2017 una producción mundial de cabezas de ganado porcino de 967,385,101 donde los principales países productores son China, Estados Unidos, Brasil, España y Alemania (Food and Agriculture Organization, 2018).

La carne de cerdo es un alimento valorado como fuente rica en proteínas, vitaminas y minerales. Las principales vitaminas que posee son la vitamina B1, vitamina B12, riboflavina, y niacina, mientras que los minerales más importantes son potasio, fósforo, zinc, hierro, manganeso y magnesio (Keenan, 2015; Tomovic y col. 2015).

La calidad de la carne de cerdo

El proveedor cuida la calidad de la carne a lo largo de la cadena de suministro desde la producción de materia prima, el proceso y distribución para ofrecer un producto de calidad a los consumidores (Henchion y col. 2014). En la calidad de la carne de cerdo juegan un papel importante las reacciones químicas, físicas y las interacciones de componentes biológicos con el producto durante el manejo. La calidad del alimento es afectada por factores genéticos (raza y genotipo), la dieta, el manejo del animal en el sacrificio y *postmortem* (Keenan, 2015; Mancini y Hunt, 2005; Teixeira y Rodrigues, 2013; Yang y col. 2014; Zhang y col. 2010) alterando los atributos y señales de calidad como color, contenido de grasa, terneza, sabor, jugosidad y goteo (Troy y Kerry, 2010). Una vulneración durante el manejo y distribución de la carne puede afectar de manera severa la calidad del producto, entre ellas, la contaminación por algún microorganismo; Mann y col. (2016) detectaron varios microorganismos en muestras de músculo de cerdos sacrificados en el matadero donde predominaban *Brochothrix thermosphacta*, *Aeromonas allosaccharophila*, *Pseudomonas syringae*, *Serratia proteamaculans*, entre otros.

CONSERVACIÓN DE LA CARNE DE CERDO

Tecnologías tradicionales

Las tecnologías tradicionales de conservación engloban una serie de técnicas como el secado, el salado, ahumado, refrigeración, aditivos (azúcar, dióxido de sulfuro, ácidos orgánicos, etc.), algunos de ellos llegan a transformar la carne de cerdo en un producto más complejo, generando productos con características nutricionales y sensoriales que difieren de la materia prima original (Haugaard y col. 2014; Zhou y col. 2010).

El índice de ahumado de un jamón de lomo de cerdo se determina por la cantidad de 2,6-dimetoxifenol, para lograr un proceso de ahumado uniforme se necesita un periodo mínimo de 7 días para que los compuestos migren de la corteza al interior del jamón (Llave y col. 2015).

En el proceso de curado se añade el aditivo nitrito de sodio (NaNO_2), compuesto que actúa como antioxidante y pro-oxidante, y se emplea en la elaboración de embutidos. Feng y col. en el 2016 realizaron una salchicha de carne de cerdo de animales de 6 meses de edad. El NaNO_2 actuó como un compuesto antioxidante y pro-oxidante afectando las proteínas del producto y la calidad del mismo.

Aditivos

Los aditivos pueden ser de origen natural o sintético, pero en los últimos años la tendencia marca el uso de aditivos naturales, estos pueden usarse de manera tradicional o bien como ingredientes o complementos de algunas tecnologías modernas. Por ejemplo, Kim y col. (2016) adicionaron concentraciones de 0.1 y 0.3 % de procianidinas extraídas de semillas de uva y aplicadas en hamburguesas de lomo de cerdo, logrando resultados significativos en los valores de color, pH, oxidación lipídica y nitrógeno básico volátil. Martín-Sánchez y col. (2011), elaboraron un salchichón español con una base de carne de cerdo, después de 4 días sumergieron las salchichas en diferentes soluciones de sorbato de potasio, lecitina o aceite esencial de orégano, ellos mostraron que el uso de aditivos naturales como el aceite esencial de orégano es una opción viable para preservar la calidad de un alimento sin tener efectos negativos en las características sensoriales.

TECNOLOGÍAS MODERNAS

Las tecnologías modernas son una serie de tecnologías son procesos no convencionales que han tomado gran importancia en los últimos años, estos pueden llevar cambios de temperaturas o no.

Luz pulsada

El método de luz pulsada se caracteriza por someter la carne bajo pulsos intenso de luz blanca por períodos intermitentes y de corta duración (Oms-Oliu y col. 2010). Nicorescu y col. (2014), carne de cerdo cruda y asado de cerdo en una cámara con lámparas de Xenon (200 a 1100 nm), las muestras fueron inoculada con 5 log CFU g^{-1} de *Pseudomonas fluorescens* MF37, demostrando que el tratamiento 30 pulsos, cada

pulso con una velocidad de repetición de 1 Hz y una duración de 300 μs , obtuvo la mayor inhibición bacteriana.

Plasma

El tratamiento de plasma es una mezcla de gases o líquidos conformado de átomos, moléculas o radicales excitados, los cuales cuentan con una cantidad grande de energía cinética, pudiendo ser térmicas o no térmicas (Knorr y col. 2011). Fröhling y col. (2012) procesaron carne de cerdo fresca con un flujo de gas de 20 L/min, a una temperatura de 4000 K y una humedad relativa del 20%, los 2 tratamientos consistieron en 2 x 2.5 y 5 x 2 min, posteriormente las muestras fueron almacenadas a 5 °C durante 20 días. La carga microbiana inicial de la carne era de 10^2 UFC/g, en las muestras tratadas dicha carga microbiana permaneció constante, sin embargo, en las muestras sin tratamiento se observó un incremento hasta 10^9 UFC/g. Por otro respecto a color, los valores de a y b se incrementaron en las muestras sometidas a la tecnología de plasma comparadas con las muestras no tratadas.

Dióxido de carbono a altas presiones

La conservación de alimentos por el método de dióxido de carbono a altas presiones es un proceso no térmico, el cual se lleva CO_2 a su estado supercrítico durante un tiempo (García-González y col. 2007); por ejemplo, Cappelletti y col. (2015) usaron CO_2 líquido con una pureza del 99.99 % para tratar cortes de carne de cerdo a fueron diferentes temperaturas (25, 35 y 40 °C), presiones (6, 8, 12 y 16 MPa) y tiempos de tratamiento (5, 10, 20, 30, 45 y 60 min). Los mejores resultados se observaron con el tratamiento de 35 °C/60 min/8, 12 o 16 MPa, logrando 3 reducciones logarítmicas microbianas, pero vieron mermada la aceptabilidad del alimento por los consumidores por la ausencia del color rojo.

Recubrimientos comestibles

Los recubrimientos comestibles logran extender la vida de anaquel de los alimentos, estos envuelven a los alimentos, tienen un grosor menor a 0.3 mm y pueden ser consumidos con el alimento (Kim y col. 2016). Un recubrimiento comestible diseñado por Qin y col. (2013), a base de quitosán y polifenoles de té, mostró propiedades antimicrobianas y oxidación lipídica cuando se aplicó en hamburguesas de carne de cerdo fresca, logrando extender la vida de anaquel de las hamburguesas hasta 12 días.

Empaque al vacío

El empaque al vacío se rige por la ausencia de O_2 y la reducción de la presión atmosférica (comúnmente 101 kPa), generalmente se usan empaques de diferentes materiales como etil acetato de vinilo y cloruro de polivinilideno (Rahman y col. 2018; Zhou y col. 2010). Hwang y col. (2015), realizaron un marinado a un corte de carne de cerdo donde adicionaron la hierba artemisa y vitamina C, posteriormente la carne fue empacada al vacío. El tratamiento tuvo un mínimo efecto en el control de la oxidación lipídica, una disminución en el pH, el cual se atribuye a la proliferación de las bacterias ácido-lácticas, con una cuantificación final de 7.0-7.2 log CFU/g a los 20 días de almacenamiento.

Atmósferas modificadas

Las atmósferas modificadas se describen como proceso donde al alimento se le aplica una mezcla de diferentes gases (N₂, O₂, argón y CO₂), que esta selección depende de la sensibilidad al oxígeno y la actividad metabólica del alimento dentro de un empaque (Rahman, 2007; Zhou y col. 2010). Kapetanakou y col. en el 2014 emplearon la tecnología de atmósferas modificadas en cortes de carne de cerdo tratados con bebidas alcohólicas comerciales y típicas de Grecia como whisky/brandy, “tsipouro”, “raki” “tsikoudia” y/u “ouzo”. Las mezclas de gases utilizadas por los autores afectaron la vida de anaquel en los cortes tipo ribeye de la carne de cerdo, siendo el mejor tratamiento la mezcla de 80% CO₂:20% O₂ en comparación con la mezcla de 40% CO₂:30% O₂:30% N₂. La combinación de alcoholes comerciales (whisky/brandy) logró el mejor control de la carga microbiana de bacterias ácido lácticas y *B. thermosphacta*, en las temperaturas de 4 °C y 10 °C.

BIOTECNOLOGÍAS

Uso de Bacteriocinas

Las bacteriocinas son péptidos o proteínas producidas por bacterias Gram-negativas o Gram-positivas que tienen propiedades antibacteriales (Yang y col. 2014; Zhang y col. 2010). Las bacteriocinas producidas por bacterias Gram-negativas se dividen en el grupo de microcinas y colicinas, mientras que las bacterias Gram-positivas son lantibióticos y enterocinas (Khan y col. 2010).

En los últimos años, la adición de bacterias ácido lácticas para la producción de bacteriocinas en los alimentos, se ha vuelto una práctica usual para el control de patógenos; por ejemplo, Kouakou y col. (2010) adicionaron *Lactobacillus curvatus* CWBI-B28wt y *Pediococcus acidilactici* H en muestras de carne cruda de cerdo inoculadas con *Listeria monocytogenes*. Los autores observaron la mayor actividad y producción de bacteriocinas en la tercera semana de almacenamiento y encontraron un sinergismo de las proteínas con actividad antimicrobiana producidas por las bacterias cuando se inocularon ambas en la muestra de carne.

CONSIDERACIONES FINALES

La carne de cerdo es una de las carnes más consumidas por el ser humano, ocupando el segundo lugar en producción global. Este alimento es una buena fuente de proteínas y de vitaminas del complejo B, sin embargo, se deteriora con facilidad, por lo que existen diversas tecnologías de conservación, que pueden agruparse en tradicionales y modernas. La principal función de estas tecnologías es alargar la vida de anaquel del producto y disminuir el deterioro de la calidad mediada por microorganismos. Las tecnologías tradicionales como el curado, el secado y el uso de otros aditivos tienen un efecto sobre las características organolépticas del producto final, de tal manera que la sensación de frescura se ve disminuida, sin embargo, las tecnologías modernas como los pulsos de luz, plasma, altas presiones, empaque al vacío, recubrimientos comestibles, atmósferas modificadas e incluso el uso de bacteriocinas modifican en menor medida la calidad sensorial de la carne y cumplen con la tarea de alargar su vida de anaquel.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue apoyado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) para el programa de maestría en Ciencia de los Alimentos y Tecnología ofrecido por la Universidad Autónoma de Coahuila.

REFERENCIAS

- Cappelletti, M., Ferrentino, G., Spilimbergo, S., 2015. High pressure carbon dioxide on pork raw meat: Inactivation of mesophilic bacteria and effects on colour properties. *J. Food Eng.* 156, 55–58. doi:10.1016/j.jfoodeng.2015.02.009
- Chen, J.H., Ren, Y., Seow, J., Liu, T., Bang, W.S., Yuk, H.G., 2012. Intervention Technologies for Ensuring Microbiological Safety of Meat: Current and Future Trends. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 11, 119–132. doi:10.1111/j.1541-4337.2011.00177.x
- EFSA, 2012. Scientific Opinion on Dietary Reference Values for protein. *EFSA J.* 10, 25–57. doi:10.2903/j.efsa.2012
- FAO, 2009. *Agribusiness Handbook*, 1st ed, FAO Agribusiness. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Roma.
- Feng, X., Li, C., Jia, X., Guo, Y., Lei, N., Hackman, R.M., Chen, L., Zhou, G., 2016. Influence of sodium nitrite on protein oxidation and nitrosation of sausages subjected to processing and storage. *Meat Sci.* 116, 260–267. doi:10.1016/j.meatsci.2016.01.017
- Food and Agriculture Organization, 2018. FAOSTAT [WWW Document]. FAOSTAT. URL <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QL> (accessed 12.13.18).
- Fröhling, A., Durek, J., Schnabel, U., Ehlbeck, J., Bolling, J., Schlüter, O., 2012. Indirect plasma treatment of fresh pork: Decontamination efficiency and effects on quality attributes. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 16, 381–390. doi:10.1016/j.ifset.2012.09.001
- García-González, L., Geeraerd, A.H., Spilimbergo, S., Elst, K., Ginneken, L. Van, Debevere, J., Impe, J.F. Van, Devlieghere, F., 2007. High pressure carbon dioxide inactivation of microorganisms in foods: The past, the present and the future. *Int. J. Food Microbiol.* 117, 1–28. doi:https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.02.018
- Haugaard, P., Hansen, F., Jensen, M., Grunert, K.G., 2014. Consumer attitudes toward new technique for preserving organic meat using herbs and berries. *Meat Sci.* 96, 126–135. doi:10.1016/j.meatsci.2013.06.010
- Henchion, M., McCarthy, M., Resconi, V.C., Troy, D., 2014. Meat consumption: Trends and quality matters. *Meat Sci.* 98, 561–568. doi:10.1016/j.meatsci.2014.06.007
- Hu, J., Wang, X., Xiao, Z., Bi, W., 2015. Effect of chitosan nanoparticles loaded with cinnamon essential oil on the quality of chilled pork. *LWT - Food Sci. Technol.* 63, 519–526. doi:10.1016/j.lwt.2015.03.049
- Hwang, K.E., Choi, Y.S., Kim, H.W., Choi, M.S., Song, D.H.,

- Kim, Y.J., Ham, Y.K., Kim, C.J., 2015. Combined effects of mugwort herb and Vitamin C on shelf-life of vacuum-packed seasoned pork. *Korean J. Food Sci. Anim. Resour.* 35, 421–430. doi:10.5851/kosfa.2015.35.4.421
- Kapetanakou, A.E., Agathagelou, E.I., Skandamis, P.N., 2014. Storage of pork meat under modified atmospheres containing vapors from commercial alcoholic beverages. *Int. J. Food Microbiol.* 178, 65–75. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2014.02.021
- Kearney, J., 2010. Food consumption trends and drivers. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 365, 2793–2807. doi:10.1098/rstb.2010.0149
- Keenan, D., 2015. Pork Meat Quality, Production and Processing on, in: Caballero, B., Finglas, P.M., Toldrá, F. (Eds.), *Encyclopedia of Food and Health*. Elsevier Science, p. 4013.
- Khan, H., Flint, S., Yu, P.L., 2010. Enterocins in food preservation. *Int. J. Food Microbiol.* 141, 1–10. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2010.03.005
- Kim, H.W., Jeong, J.Y., Seol, K.-H., Seong, P.-N., Ham, J.-S., 2016. Effects of Edible Films Containing Procyanidin on the Preservation of Pork Meat during Chilled Storage. *Korean J. Food Sci. Anim. Resour.* 35, 564–571. doi:10.5851/kosfa.2016.36.2.230
- Knorr, D., Froehling, A., Jaeger, H., Reineke, K., Schlueter, O., Schoessler, K., 2011. Emerging Technologies in Food Processing. *Annu. Rev. Food Sci. Technol.* 2, 203–235. doi:10.1146/annurev.food.102308.124129
- Kouakou, P., Ghalfi, H., Dortu, C., Evrard, P., Thonart, P., 2010. Combined use of bacteriocin-producing strains to control *Listeria monocytogenes* regrowth in raw pork meat. *Int. J. Food Sci. Technol.* 45, 937–943. doi:10.1111/j.1365-2621.2010.02218.x
- Larson, G., Albarella, U., Dobney, K., Rowley-Conwy, P., Schibler, J., Tresset, A., Vigne, J.-D., Edwards, C.J., Schlumbaum, A., Dinu, A., Balacsescu, A., Dolman, G., Tagliacozzo, A., Manaseryan, N., Miracle, P., Van Wijngaarden-Bakker, L., Masseti, M., Bradley, D.G., Cooper, A., 2007. Ancient DNA, pig domestication, and the spread of the Neolithic into Europe. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 104, 15276–15281. doi:10.1073/pnas.0703411104
- Lawrie, R.A., Ledward, D., 2017. *Lawrie's Meat Science*, 8th ed, *Lawrie's Meat Science*. Woodhead Publishing, Kindlington. doi:10.1016/B978-0-08-100694-8.12001-1
- Llave, Y., Suzuki, A., Fukuoka, M., Umiuchi, E., Sakai, N., 2015. Migration of smoke components into pork loin ham during processing and storage. *J. Food Eng.* 166, 221–229. doi:10.1016/j.jfoodeng.2015.06.015
- Mancini, R.A., Hunt, M.C., 2005. Current research in meat color. *Meat Sci.* 71, 100–121. doi:10.1016/j.meatsci.2005.03.003
- Mann, E., Wetzels, S.U., Pinior, B., Metzler-Zebeli, B.U., Wagner, M., Schmitz-Esser, S., 2016. Psychrophile spoilers dominate the bacterial microbiome in musculature samples of slaughter pigs. *Meat Sci.* 117, 36–40. doi:10.1016/j.meatsci.2016.02.034
- Martín-Sánchez, A.M., Chaves-López, C., Sendra, E., Sayas, E., Fernández-López, J., Pérez-Álvarez, J.Á., 2011. Lipolysis, proteolysis y sensory characteristics of a Spanish fermented dry-cured meat product (salchichón) with oregano essential oil used as surface mold inhibitor. *Meat Sci.* 89, 35–44. doi:10.1016/j.meatsci.2011.03.018
- McNeill, S., Van Elswyk, M.E., 2012. Red meat in global nutrition. *Meat Sci.* 92, 166–173. doi:10.1016/j.meatsci.2012.03.014
- Nicorescu, I., Nguyen, B., Chevalier, S., Orange, N., 2014. Effects of pulsed light on the organoleptic properties y shelf-life extension of pork and salmon. *Food Control* 44, 138–145. doi:10.1016/j.foodcont.2014.03.052
- Oms-Oliu, G., Martín-Belloso, O., Soliva-Fortuny, R., 2010. Pulsed light treatments for food preservation. A review. *Food Bioprocess Technol.* 3, 13–23. doi:10.1007/s11947-008-0147-x
- Qin, Y.Y., Yang, J.Y., Lu, H.B., Wang, S.S., Yang, J., Yang, X.C., Chai, M., Li, L., Cao, J.X., 2013. Effect of chitosan film incorporated with tea polyphenol on quality and shelf life of pork meat patties. *Int. J. Biol. Macromol.* 61, 312–316. doi:10.1016/j.ijbiomac.2013.07.018
- Rahman, M.J., Costa de Camargo, A., Shahidi, F., 2018. Phenolic profiles and antioxidant activity of defatted camelina and sophia seeds. *Food Chem.* 240, 917–925. doi:10.1016/j.foodchem.2017.07.098
- Rahman, M.S., 2007. *Handbook Of Food Preservation*, 2nd ed. CRC Press, London.
- Resano, H., Perez-Cueto, F.J.A., de Barcellos, M.D., Veflen-Olsen, N., Grunert, K.G., Verbeke, W., 2011. Consumer satisfaction with pork meat and derived products in five European countries. *Appetite* 56, 167–170. doi:10.1016/j.appet.2010.10.008
- STATISTA, 2019. Production of meat worldwide by meat type, 2018 | Statistic [WWW Document]. URL <https://www.statista.com/statistics/237632/production-of-meat-worldwide-since-1990/> (accessed 5.30.19).
- Tang, X., Sun, X., Wu, V.C.H., Xie, J., Pan, Y., Zhao, Y., Malakar, P.K., 2013. Predicting shelf-life of chilled pork sold in China. *Food Control* 32, 334–340. doi:10.1016/j.foodcont.2012.12.010
- Teixeira, A., Rodrigues, S., 2013. Pork meat quality of preto alentejano and commercial large white landrace cross. *J. Integr. Agric.* 12, 1961–1971. doi:10.1016/S2095-3119(13)60634-6
- Tomovic, V., Jokanovic, M., Sojic, B., Skaljic, S., Tasic, T., Ikonc, P., 2015. Minerals in Pork Meat and Edible Offal. *Procedia Food Sci.* 5, 293–295. doi:10.1016/j.profoo.2015.09.083
- Troy, D.J., Kerry, J.P., 2010. Consumer perception and the role of science in the meat industry. *Meat Sci.* doi:10.1016/j.meatsci.2010.05.009
- Tscheuschner, H.D., 2001. *Materias primas*, in: *Tscheuschner, H.D. (Ed.), Fundamentos de Tecnología de Los Alimentos*. B. Behr's Verlag GmbH & Co, Hamburgo, pp. 9–82.
- Vranken, L., Avermaete, T., Petalios, D., Mathijs, E., 2014. Curbing global meat consumption: Emerging evidence of

- a second nutrition transition. *Environ. Sci. Policy* 39, 95–106. doi:10.1016/j.envsci.2014.02.009
- Yang, S.C., Lin, C.H., Sung, C.T., Fang, J.Y., 2014. Antibacterial activities of bacteriocins: Application in foods and pharmaceuticals. *Front. Microbiol.* 5, 1–10. doi:10.3389/fmicb.2014.00241
- Zhang, W., Xiao, S., Samaraweera, H., Lee, E.J., Ahn, D.U., 2010. Improving functional value of meat products. *Meat Sci.* 86, 15–31. doi:10.1016/j.meatsci.2010.04.018
- Zhou, G.H., Xu, X.L., Liu, Y., 2010. Preservation technologies for fresh meat - A review. *Meat Sci.* 86, 119–128. doi:10.1016/j.meatsci.2010.04.033

Rambután (*Nephelium lappaceum L.*): Una Revisión General

Rambutan (*Nephelium lappaceum L.*): A General Review

D Hernández-Hernández C¹, Aguilar C.N.¹, Rodríguez-Herrera R¹, Flores-Gallegos A C¹, Morlett-Chávez J²,
Govea-Salas M³, Ascacio-Valdés JA^{1*}

¹Grupo de Bioprocesos y Bioproductos. Departamento de Investigación en Alimentos, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Coahuila. Blvd. Venustiano Carranza y J. Cárdenas s/n, Col. Republica Oriente, 25280 Saltillo, México. Tel. +52(844)4161238, 4169213, Fax: + 52 (844) 415-9534.

²Laboratorio de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Coahuila. Blvd. Venustiano Carranza y J. Cárdenas s/n, Col. Republica Oriente, 25280 Saltillo, México.

³Laboratorio de Nanobiociencias, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Coahuila. Blvd. Venustiano Carranza y J. Cárdenas s/n, Col. Republica Oriente, 25280 Saltillo, México.

*Corresponding author Phone: +52 844 4161238, 155752, Fax: +52 844 4169213. E-Mail: alberto_ascaciovaldes@uadec.edu.mx

Resumen

El rambután (*Nephelium lappaceum L.*) es un fruto exótico perteneciente a la familia de las Sapindaceae, es nativo de Malasia y actualmente es cultivado en países de América principalmente México. Este fruto es una fuente de minerales y otros nutrientes. Además, es importante considerar el aprovechamiento de la semilla y cáscara de rambután como residuos ya que se ha demostrado que tienen importantes actividades biológicas que benefician a la salud humana, tales como antioxidante, antibacteriana, antidiabética, anti-inflamatoria, antiproliferativa y antiviral. Los componentes activos contenidos en el rambután como el ácido elálgico, la corilagina y la geranina son los responsables de estas actividades. En esta revisión se resume las propiedades nutricionales y funcionales presentes en el fruto, junto con las actividades biológicas y la importancia de estos compuestos en futuras aplicaciones en el área de alimentos, farmacéutica y cosmética.

Palabras clave: Compuestos bioactivos, Fitoquímicos, Propiedades biológicas, Rambután.

Abstract

Rambutan (*Nephelium lappaceum L.*) is an exotic fruit belonging to the Sapindaceae family, is native to Malaysia and is currently cultivated in American countries mainly Mexico. This fruit is a source of minerals and other nutrients. Therefore, it is important to consider the use of the seed and peel of the rambutan as waste, since it has been demonstrated that have important biological activities that benefit human health, such as antioxidant, antibacterial, antidiabetic, anti-inflammatory, antiproliferative and antiviral. The active components contained in rambutan such as ellagic acid, corilagin, and geraniin are responsible for these activities. This review summarizes the nutritional and functional properties present in the fruit, along with the biological activities and the importance of these compounds in future applications in the area of food, pharmaceuticals, and cosmetics.

Keywords: Biological properties, Bioactive compounds, Phytochemicals, Rambutan.

INTRODUCCIÓN

El rambután (*Nephelium lappaceum L.*) Es un fruto redondo u ovoide que presenta un pericarpio rojo o amarillo, espiternos largos y un arilo comestible blanco o traslúcido como se muestra en la figura 1. Es un fruto no climatérico que se cosecha cuando presenta madurez de consumo y apariencia externa óptima (Arias y col., 2016; Caballero-Pérez y col., 2011). Este fruto es una especie exótica que pertenece a la

familia de las Sapindaceas y fue introducido a México en 1959 con semillas procedentes de Malasia, y se introdujeron en la región del Soconusco, Chiapas, México. Su cultivo en América se centra en los países del trópico húmedo, Colombia, Ecuador, Honduras, Costa Rica, Trinidad y Tobago, Cuba y principalmente México (Castillo-Vera y col., 2017). Las variedades de rambután que se han seleccionado

con el paso del tiempo en México son R-104, RI-133, RI-148, RI-115, R-134, R-161, R-170, R-3, R-156, R-160 y R-162 (Caballero-Pérez y col., 2011; Fraire, 2001; Núñez, 2006) En México, se han establecido plantaciones de rambután en otros estados como: Oaxaca, Tabasco, Guerrero, Colima, San Luis Potosí, Nayarit y Michoacán con materiales vegetales obtenidos de la región de Soconusco Chiapas (Román, 2002; Arenas 2010).

El creciente interés en este cultivo ha provocado un aumento en nuevas plantaciones en el área de Soconusco en el estado de Chiapas (Joo-Pérez y col., 2017). La producción nacional en México de esta fruta se concentra en seis municipios del estado de Chiapas: Cacaohatán, Tapachula, Frontera Hidalgo, Metapa de Domínguez, Huehuetán y Tuzantán, aunque se estima una superficie sembrada de 835.96 ha y una producción de 8,730.27 toneladas, con un valor de más de 10 millones de pesos, hay plantaciones de patio trasero y huertos comerciales aún no registrados, lo que aumentaría los registros oficiales. Para exportar, el rambután debe pesar un mínimo de 30 gramos y tener un dulzor del 18% en la escala de grados Brix, pero el rambután de Chiapas alcanza los 22 grados Brix el cual lo hace mejor en términos de dulzura (Avendaño-Arrazate y col., 2018; SAGARPA, 2016). Además, el rambután se consume en fresco y en otros productos como enlatados (conserva de la fruta en almibar), mermelada y vino por lo que se genera una cantidad significativa de residuos de cáscaras y semillas. Por esta razón, es importante el uso de estos residuos de cáscara y semilla en aplicaciones industriales (Santana-Méridas y col., 2012).

En esta revisión se reporta la composición nutricional y las propiedades funcionales del fruto rambután, los estudios realizados con esta fruta y los compuestos bioactivos que son considerados de alto valor añadido, así mismo, el aprovechamiento de los residuos de este fruto y su potencial uso en diferentes áreas de alimentos, cosmética y farmacéutica.



Figura 1. Rambután

COMPOSICIÓN NUTRIMENTAL

El rambután está constituido por pulpa, cáscara y semilla, el peso promedio es de 27.4 g como peso total, 13.2 g cáscara, 11.7 g pulpa, 2.53 g semilla y 1.60 g embrión (Solís-Fuentes y col., 2010). El rambután es un fruto rico en carbohidratos, vitaminas y minerales. El porcentaje comestible es de aproximadamente 31-60.2%, y contenido de sólidos soluble total es de aproximadamente 14-22.2%. El contenido de ácido cítrico es de aproximadamente 0.39-1.53%, y de vitamina C es de aproximadamente 0.63-5.5mg/100 g de pulpa (Perez y Pohlen, 2004). Se ha reportado también, que la semilla de rambután es abundante en grasas (38.9%), proteínas (12.4%) y carbohidratos (48%). Las semillas tienen alcaloides, azúcar, almidón y ceniza. La pulpa de este fruto produce sacarosa 7.8%, dextrosa 2.25% y levulosa 1.25%. Las semillas de rambután contienen proporciones iguales de ácidos grasos saturados e insaturados, donde los ácidos araquídicos (34%) y oleicos (42%) son los más altos en contenido de grasa. (Harahap y col., 2012). A continuación, se resume los compuestos nutricionales en la tabla 1 de la pulpa, cáscara y semilla del fruto rambután.

Tabla 1. Composición nutricional de la fruta rambután.

Parte de fruto	Composición nutricional	Cantidad	Referencia
Semilla (%)	Contenido de cenizas	1.70	M. Wahini y col., 2018
	Agua	14.20	
	Carbohidratos	64.19	
	Lípido	6.01	
	Proteína	11.38	
	Fibra	2.51	
	Vitamina B	0.33	
	Mínimal (Ca-Fe-P)	62.50	
Pulpa (g 100 g ⁻¹)	Carbohidratos	15.7-19.66	Mahmood y col., 2018
	Proteína	0.46-1.05	
	Fibra	0.3-2.8	
	Ceniza	0.3-0.6	
	Fósforo	17.1	
	Potasio	229.0	
	Calcio	8.7	
	Magnesio	16.6	
Cáscara (mg/L)	Acido ascórbico	22.2-29.0	Hernández y col., 2017
	Cobre	0.070	
	Magnesio	0.15	
	Zinc	0.080	
	Fierro	0.29	
	Potasio	0.57	
	Calcio	0.51	

COMPONENTES FITOQUÍMICOS

Los compuestos fitoquímicos del rambután se han atribuido a los compuestos fenólicos presentes en diferentes partes de la planta, principalmente en la cáscara del fruto. En la figura 2 se muestra las estructuras de los tres principales compuestos identificados en diferentes extractos de cáscara de rambután (Akhtar y col., 2017).

Además, se ha informado que la cáscara de rambután es una fuente potencial de antioxidantes para productos alimenticios, cosméticos y farmacéuticos debido a su contenido de compuestos bioactivos y capacidad no tóxica para las células normales (Okonogi y col., 2007; Palanisamy y col., 2008). La cáscara de rambután a diferencia de la pupa y la semilla contiene una mayor cantidad de compuestos antioxidantes; estos son principalmente compuestos polifenólicos conocidos por sus actividades biológicas como la geranina, corilagina y ácido elágico, un grupo de elagitaninos que están presentes en la cáscara de rambután, y entre ellos el compuesto principal es la geranina (Akhtar y col., 2017; Thitilertdecha y col., 2008; Yoswathana y Eshtiaghi, 2013). Por otra parte, cabe señalar que el contenido de polifenoles en la cáscara depende del cultivo y de la fase de desarrollo de la fruta (Kondo y col., 2002; Škergety col., 2005). Sin embargo, se han estudiado algunos factores como el tipo de solvente, relación solvente-solido, el tamaño de las partículas y la técnica de extracción, que contribuyen a la eficacia de la extracción de polifenoles (Herrero, Cifuentes e Ibáñez, 2006; Kronholm, Hartonen y Riekkola, 2007). Thitilertdecha y col. (2010) reportaron que estos compuestos pueden ser obtenidos por un método de extracción metanólica, mientras que Hernández y col. (2017) realizaron extracciones con etanol y reportaron que la cáscara de rambután contenía los mismos compuestos: geranina, corilagina y ácido elágico.

La geranina pertenece a los elagitaninos, que son un grupo de taninos hidrolizables que se hidroliza para formar corilagina y ácido gálico como se muestra en la figura 2 (Okuda y col., 1995). Se ha demostrado que la geraniina, junto con sus productos hidrolizados, posee una variedad de propiedades biológicas, incluyendo actividades antioxidantes, antimicrobianas, antiinflamatorias, anti-hiperglucémicas, antidiarreicas, anestésicas y anticancerígenas (Cheng y col., 2016). Por lo tanto, se ha sugerido que la cáscara de rambután es una fuente prometedora de compuestos bioactivos para la industria alimenticia, cosmética y farmacéutica.

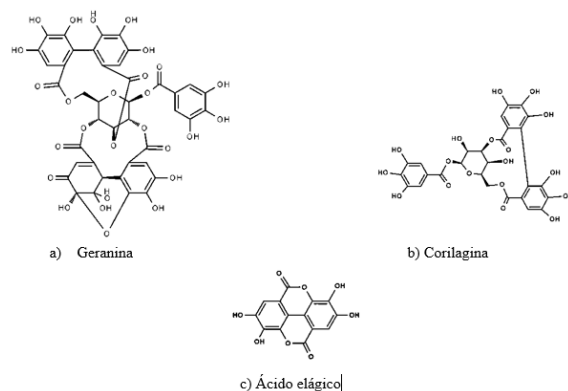


Figura 2. Estructuras químicas de los tres principales compuestos en cáscara de rambután: a) geranina, b) corilagina, c) ácido elágico. *Fuente: ChemSpider Search and share chemistry.

PROPIEDADES BIOLÓGICAS

Actividad antibacteriana

Se han realizado varios estudios sobre el uso de extractos de cáscara y semilla de rambután para determinar actividad antibacteriana. Thitilertdecha y col. (2008) realizaron un estudio con extractos de cáscara y semillas de rambután, evaluando ocho cepas de bacterias patógenas: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Vibrio cholerae*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*. Los extractos de la cáscara de rambután mostraron una mayor actividad antibacteriana en comparación con la semilla contra las cepas *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio cholerae*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*, pero no se encontró actividad antibacteriana contra *E. coli*, *K. pneumoniae* y *S. typhi*.

También, Tadtong y col. (2011) exhibieron las actividades antimicrobianas del extracto de cáscara de rambután, obteniendo actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* 344 ATCC6538, *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA) DMST20645 y *Streptococcus mutans* ATCC25175T, pero no se encontró actividad antibacteriana contra las cepas Gram-negativas *Escherichia coli* ATCC25922 y *Candida albicans* ATCC10231. La concentración mínima inhibitoria (CMI) contra *S. aureus* ATCC6538 y MRSA DMST20645 fue de 2 y 0.4 mg/mL, respectivamente, lo que coincide con Thitilertdecha y col. (2008) y Sekar y col. (2014), quienes no encontraron actividad antimicrobiana contra cepas Gram-negativas de *E. coli*, *K.*

pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa, Candida albicans y S. typhi.

Actividad antioxidante

Se han utilizado varios métodos *in vitro* para evaluar el potencial antioxidante de varias plantas, y en la mayoría de estos ensayos se demuestran el potencial antioxidante que estas plantas contienen como uso terapéuticos, por lo que es importante resaltar la importancia del estudio de estas fuentes vegetales (Kasote, Katyare, Hegde, & Bae, 2015).

La actividad antioxidante del extracto de pulpa de rambután fue evaluada por Chingsuwanrote y col. (2016) con el ensayo DPPH, en el que se observó un resultado relativamente bajo. Además, Palanisamy y col. (2008) señalaron que el extracto de pulpa de rambután mostró una actividad antioxidante débil con los ensayos ABTS y DPPH comparados con los obtenidos de la cáscara.

La actividad antioxidante de la cáscara y la semilla de rambután se demostró utilizando el ensayo DPPH (Manaf y col., 2016). La cáscara de rambután mostró rendimientos más altos de 29.97 ± 2.69 y $22.1 \pm 1.89\%$ con respecto a la semilla para los extractos acuosos y de etanol, respectivamente. Sin embargo, el ensayo DPPH para los extractos etanólicos y acuosos mostró una mayor actividad antioxidante en la cáscara de rambután que en la semilla, obteniendo un $95.73\% \pm 1.63$ y $80.25 \pm 3.15\%$ con valores IC_{50} de $24.99 \pm 2.82 \mu\text{g}$ y $144.59 \pm 1.36 \mu\text{g}$, respectivamente. Hernández y col. (2017) determinaron mediante ensayo ABTS (38.24 mg/mL) y FRAP (0.203 GAE/mL) la actividad antioxidante en cáscara de rambután en extracto etanólico. La actividad antioxidante también se evaluó con extractos etanólicos de varias frutas tropicales seleccionadas: rambután, plátano, mangostán y longan; el extracto de cáscara de rambután mostró la mayor actividad antioxidante ($77.21 \pm 0.17\%$) en comparación con el longan ($73.24 \pm 0.11\%$), el mangostán ($46.97 \pm 0.29\%$) y el plátano ($41.65 \pm 0.22\%$) (Nor Helya y col., 2016). También, Mendez-Flores y col. (2018) realizaron un ensayo de lipoperoxidación lipídica en el cual se evaluó como un análisis complementario de la actividad antioxidante con extracto etanólico de cáscara de rambután variedad mexicana y se obtuvo un valor de 91.74% de inhibición de la oxidación de lípidos, es decir, la capacidad de los compuestos polifenólicos que tienen para evitar la oxidación de biomoléculas como los lípidos y estos compuestos demuestran el potencial para prevenir enfermedades causadas por procesos de oxidación celular y molecular en el cuerpo.

Actividad antidiabética

Recientemente, se han llevado a cabo muchas investigaciones sobre posibles aplicaciones de los compuestos bioactivos de

la cáscara y semilla de rambután. Soeng y col. (2015) reportaron que el extracto de semilla de rambután exhibió un alto contenido de actividad inhibitoria de la α -glucosidasa, con un valor IC_{50} de $9.92 \mu\text{g/mL}$ relevante para la actividad hipoglucémica. Además, se demostró que el extracto de semilla de rambután y la fracción de hexano tiene un potencial inhibitorio contra G6PDH y α -glucosidasa, así como el nivel de TG en líneas celulares 3T3-L1 a una dosis de $50 \mu\text{g/mL}$.

Ma y col. (2017) evaluaron la actividad antidiabética en un modelo de ratón de diabetes tipo 2. Este trabajo mostró que el extracto de cáscara de rambután aumentó el peso corporal y redujo los niveles de glucosa en sangre en ayunas, los niveles séricos de colesterol total, triglicéridos, creatinina y proteína sérica glicosilada en ratones diabéticos de manera dependiente de la dosis. El contenido de glucógeno en el hígado de los ratones se recuperó con el extracto de cáscara de rambután, que aumentó aún más la actividad de superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa y redujo la peroxidación de lípidos en ratones diabéticos.

Un estudio realizado por Muhtadi y col. (2016) evaluaron extractos etanólicos en cáscara de rambután (*Nephelium lappaceum L.*) y durián (*Durio zibethinus Murr.*) en ratas diabéticas el cual aplicaron dosis de 500, 250 y 125 mg/kg de peso corporal (b.w.) durante 11 días. La mayor reducción porcentual de los niveles de glucosa en sangre fue de $61.76 \pm 4.26\%$, el cual se mostró en el extracto de cáscara de rambután a una dosis de 500 mg/kgb.w. , el cambio de actividad fue mayor que el control positivo, también el extracto de cáscara de duriána una dosis de 500 mg/kgb.w. mostró una reducción porcentual de niveles de glucosa en sangre de $50.19 \pm 3.66\%$. Los extractos de cáscara rambután y durián mostraron actividad antidiabética en dosis de 500 mg/kgb.w.

Actividad antiproliferativa

Los principales compuestos bioactivos que han sido aislados en cáscara de rambután en su mayoría son un grupo conocido como elagitaninos, como ejemplo de ellos es la geranina que pertenece a este grupo, el cual se ha reportado que tiene efectos contra la proliferación de células de cáncer y es el compuesto mayoritario en la cáscara de rambután (Hernández y col., 2019). Chunglok y col. (2014) reportaron la actividad antiproliferativa de extractos metanólicos de las semillas y cáscaras de tres frutas tropicales: rambután (*Nephelium lappaceum L.*), litchi (*Litchi Chinensis Sonn.*) y tamarindo (*Tamarindus indica L.*). La actividad antiproliferativa se estudió en células de carcinoma de boca humana (CLS-354). El ensayo de reducción de MTT y la tinción de V-FITC/PI se llevaron a cabo para determinar la citotoxicidad y la inducción de la apoptosis, donde el extracto de semilla de rambután no mostró toxicidad para las células de carcinoma de boca humana (CLS- 354).

La actividad antiproliferativa contra las células de cáncer de mama (MDA-MB-231), las células de cáncer de cuello uterino (HeLa) y las células de cáncer de osteosarcoma (MG-63) se determinó en un estudio con extracto de cáscara de rambután utilizando dos variedades de rambután, amarillo y rojo. La citotoxicidad *in vitro* del extracto de cáscara de rambután también se comparó con una línea celular normal de MDCK utilizando la prueba de azul de metileno y cisplatino como control positivo. El extracto metanólico de rambután amarillo exhibió actividad contra MDA-MB-231 y MG-63 con valores IC_{50} de $5.42 \pm 1.67 \mu\text{g/mL}$ y $6.97 \pm 1.02 \mu\text{g/mL}$, respectivamente. Ambas variedades de rambután no mostraron actividad antiproliferativa contra HeLa (Khaizil Emylia y col., 2013).

Actividad anti-inflamatoria

Los compuestos fenólicos presentes en las plantas han sido estudiados por sus propiedades de eliminación de radicales libres y de protección contra el deterioro celular, siendo una de las propiedades más importantes de los compuestos fenólicos la actividad antiinflamatoria.

Un estudio demostró la actividad analgésica y antiinflamatoria del extracto de metanol de las semillas de rambután con una alta actividad analgésica y antiinflamatoria del 51.27% y 58.86% (Morshed y col., 2014).

Se ha evaluado la actividad antiinflamatoria en la cáscara de rambután utilizando células RAW 264.7 inducidas por lipopolisacáridos (LPS) y compuestos fenólicos de la cáscara de rambután a través de la expresión del gen de óxido nítrico inducible (iNOS), en el que se determinaron concentraciones de secreción de óxido nítrico (NO); los resultados demostraron que el extracto de cáscara de rambután inducida a $400 \mu\text{g/mL}$ de iNOS disminuye el contenido de NO de forma significativa, inhibiendo en un 40.2%, además de mejorar los niveles de ARNm de NO sintasa inducible en células RAW 264.7 inducidas por LPS (Li y col., 2018).

Actividad antiviral

Los estudios sobre los extractos de cáscara y semilla de rambután han mostrado actividad antiviral en dos diferentes virus. Con lo que respecta al extracto de semilla de rambután la actividad inhibitoria de la transcriptasa inversa se evaluó utilizando inhibidores de la transcriptasa inversa de 22.5 kDa con actividad inhibitoria de la tripsina y α - quimotripsina. La semilla de rambután mostró un buen potencial medicinal; además, se evaluó la actividad inhibidora de la transcriptasa inversa del VIH-1. Los resultados mostraron una buena inhibición de la transcriptasa inversa, obteniendo un IC_{50} de $0.73 \mu\text{M}$ (Fang y Ng, 2015).

Abdul Ahmady col. (2017) realizaron estudios con cáscara de rambután y observaron actividad antiviral contra el virus del dengue tipo 2 (DENV-2), con un IC_{50} de $1.75 \mu\text{M}$, inhibiendo el mecanismo de anclaje viral. Además, los estudios demostraron que el compuesto inhibe la unión viral al unirse a la proteína E-DIII e interferir con la interacción inicial célula-virus.

CONCLUSIÓN

La fruta del rambután (*N. lappaceum*) se produce en la región sureste de México y en países del sur de Asia. Esta fruta ha sido explorada por sus actividades biológicas en estudios científicos que han demostrado la presencia de varios compuestos bioactivos en cáscara y semilla de rambután, debido al grupo de compuestos polifenólicos que contiene (elagitaninos) como la geranina, ácido elágico y corilagina, que son beneficiosos para la salud humana y han sido evaluados a través de pruebas *in vitro* e *in vivo* para promover su importancia como mediadores para contrarrestar el cáncer, virus, la obesidad, la diabetes, las infecciones microbianas, la oxidación celular y la inflamación. Sin embargo, es importante aprovechar estos residuos de alto valor añadido y establecer un uso final de estos compuestos bioactivos en aplicaciones futuras en diferentes áreas como farmacéutica, alimenticia y cosmética.

REFERENCIAS

- Akhtar, M. T., Ismail, S. N. & Shaari, K. (2017). Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.). E. M. Yahia (Ed.) In Fruit and Vegetable Phytochemicals (pp. 1227-1234). Autonomous University of Querétaro, Mexico: John Wiley & Sons Ltd.
- Arenas, M. G. H. (2010). Caracterización cualitativa de frutos de rambutan (*Nephelium lappaceum* L.), almacenamiento postcosecha y patógenos asociados. PhD Thesis, Colegio de postgraduados, Edo. México.
- Arias-Cruz, M. E., Velásquez-Ramírez, H. A., Mateus-Cagua, D., Chaparro-Zambrano, H. N., & Orduz-Rodríguez, J. O. (2016). El rambután (*Nephelium lappaceum*), frutal asiático con potencial para Colombia: avances de la investigación en el piedemonte del Meta. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 10(2), 262-272. doi: 10.17584/rcch.2016v10i2.5761
- Avendaño-Arrazate, C. H., Moreno-Pérez, E. C., Martínez- Damián, M. T., Cruz-Alvarez, O., & Vargas-Madríz, H. (2018). Postharvest quality and behavior of rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) fruits due to the effects of agronomic practices. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 24 (1), 13-26.
- Caballero-Pérez, J. F., Arévalo-Galarza, M. L., Avendaño- Arrazate, C. H., Cadena-Iñiguez, J., Valdovinos-Ponce, G., & Aguirre-Medina, J. F. (2011). Cambios físicos y bioquímicos durante el desarrollo y senescencia de frutos de rambután (*Nephelium lappaceum* L.). *Revista Chapingo*

- Serie Horticultura*, 17(1), 31-38. doi: [10.5154/rchsh.2011.17.005](https://doi.org/10.5154/rchsh.2011.17.005)
- Castillo-Vera, A., López-Guillén, G., & Sandoval-Esquivel, A. (2017). LA HISTORIA DEL CULTIVO DE RAMBUTÁN (*Nephelium lappaceum* L.) EN MÉXICO. HISTORY OF THE RAMBUTAN CROP (*Nephelium lappaceum*) IN MEXICO., 10(9), 53–57. Retrieved from <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=fap&AN=126130461&site=ehost-live>
- ChemSpider Search and share chemistry. ROYAL SOCIETY OF CHEMISTRY. Disponible en Internet: <http://www.chemspider.com> [Consultado 19 de enero de 2019].
- Cheng, H. S., Ton, S.H., & Kadir, K. D. (2016). Ellagitannin geraniin: a review of the natural sources, biosynthesis, pharmacokinetics and biological effects. *Phytochemistry Reviews*, 16: 159-193.
- Chingsuwanrote, P., Muangnoi, C., Parengam, K., & Tuntipopipat, S. (2016). Antioxidant and anti-inflammatory activities of durian and rambutan pulp extract. *International Food Research Journal*, 23 (3), 939–947.
- Chunglok, W., Utaipan, T., Somchit, N., Lertcanawanichakul, M., & Sudjaroen, Y. (2014). Antioxidant and antiproliferative activities of non-edible parts of selected tropical fruits. *Sains Malaysiana*, 43(5), 689–696.
- Fang, E. F., & Ng, T. B. (2015). A trypsin inhibitor from rambutan seeds with antitumor, anti-HIV-1 reverse transcriptase, and nitric oxide-inducing properties. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 175 (8), 3828–3839.
- Fraire, V. G. (2001). El rambután: Alternativa para la producción frutícola del trópico húmedo de México. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Campo Experimental Rosario Izapa, Chiapas. Folleto Técnico No. 1. Tuxtla Chico, Chiapas. 34 p.
- Harahap, Serida Nauli, Ramli, Nazaruddin, Vafaei, Nazanin & Said Mamot. (2012). Physicochemical and Nutritional Composition of Rambutan Anak Sekolah (*Nephelium lappaceum* L.) Seed and Seed Oil. *Pakistan Journal of Nutrition*, 11 (6):1073.
- Hernández-Hernández, C., Aguilar, C. N., Rodríguez-Herrera, R., Flores-Gallegos, A. C., Morlett-Chávez, J., Govea-Salas, M., & Ascacio-Valdés, J. A. (2019). Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.): Nutritional and functional properties. *Trends in Food Science and Technology*. 85 (2019) 201–210 <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.01.018>
- Hernández, C., Ascacio-Valdés, J., De la Garza, H., Wong-Paz, J., Aguilar, C. N., Martínez-Ávila, G. C., Aguilera-Carbó, A. (2017). Polyphenolic content, in vitro antioxidant activity and chemical composition of extract from *Nephelium lappaceum* L. (Mexican rambutan) husk. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 10 (12), 1201–1205.
- Herrero, M., Cifuentes, A., & Ibañez, E. (2006). Sub- and supercritical fluid extraction of functional ingredients from different natural sources: Plants, food-by-products, algae and microalgae - A review. *Food Chemistry*, 98(1), 136-148.
- Joo-Pérez, R., Avendaño-Arrazate, C. H., Sandoval-Esquivel, A., Espinoza-Zaragoza, S., Alonso-Báez, M., Moreno-Martínez, J. L., Morales-Nieto, C. R. (2017). Alternancy Study on Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) Tree in Mexico. *American Journal of Plant Sciences*, 08 (01), 40–52.
- Kasote, D. M., Katyare, S. S., Hegde, M. V., & Bae, H. (2015). Significance of antioxidant potential of plants and its relevance to therapeutic applications. *International Journal of Biological Sciences*, 11(8), 982–991. <https://doi.org/10.7150/ijbs.12096>
- Khaizil Emylia, Z., Nik Aina, SNZ., & Mohd Dasuki, S. (2013). Preliminary Study on Anti-proliferative Activity of Methanolic Extract of *Nephelium lappaceum* Peels towards Breast (MDA-MB-231), Cervical (HeLa) and Osteosarcoma (MG-63) Cancer Cell Lines. *Health and the Environment Journal*, 4(2), 66–79
- Kondo, S., Tsuda, K., Muto, N., & Ueda, J. E. (2002). Antioxidative activity of apple skin or flesh extracts associated with fruit development on selected apple cultivars. *Scientia Horticulturae*, 96(1–4), 177–185.
- Kronholm, J., Hartonen, K., & Riekkola, M. L. (2007). Analytical extractions with water at elevated temperatures and pressures. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 26(5), 396–412.
- Li, Y., Li, Z., Hou, H., Zhuang, Y., & Sun, L. (2018). Metal chelating, inhibitory DNA damage, and anti-inflammatory activities of phenolics from rambutan (*Nephelium lappaceum*) peel and the quantifications of geraniin and corilagin. *Molecules*, 23(9). <https://doi.org/10.3390/molecules23092263>
- M Wahini, G., Miranti, F., Lukitasari, L. Novela. (2018). Rambutan Seed (*Nephelium Lappaceum* L.) Optimization as Raw Material of High Nutrition Value Processed Food. IOP Conference Series: Materials Science and Engineering 306 012089, Manado, Indonesia.
- Ma, Q., Guo, Y., Sun, L., & Zhuang, Y. (2017). Anti-diabetic effects of phenolic extract from rambutan peels (*Nephelium lappaceum*) in high-fat diet and streptozotocin-induced diabetic mice. *Nutrients*, 9(8), 801.
- Mahmood, K., Kamilah, H., Alias, A.K. et al. Food Measure. (2018). Nutritional and therapeutic potentials of rambutan fruit (*Nephelium lappaceum* L.) and the by-products: a review. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 2193-4134.
- Manaf, A. A., Bakar, A. A., Khalili, RMA & Kabiru Y. A. (2016). Extraction yield, polyphenolic content and DPPH radical scavenging activities of Rambutan (*Nephelium lappaceum*) peel and seed. International Conference on Molecular Biology and Biotechnology in conjunction with the 23rd MSMBB Scientific Meeting. Lumpur, Malaysia.
- Mendez-Flores, A., Hernández-Almanza, A., Sáenz-Galindo, A., Morlett-Chávez, J., Aguilar, C., & Ascacio-Valdés, J. (2018). Ultrasound-assisted extraction of antioxidant polyphenolic compounds from *Nephelium lappaceum* L. (Mexican variety) husk. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 11(12), 676. <https://doi.org/10.4103/1995-7645.248339>
- Morshed, TMI., Dash, PR., Ripa, FA., Foyzun, T., & Mohd, AS. (2014). Evaluation of pharmacological activities of methanolic extract of *Nephelium lappaceum* L. seeds. *International Journal of Pharmacognosy*, 1. 632-639.

- Muhtadi, M., Haryoto, H., Sujono, T. A., & Suhendi, A. (2016). Antidiabetic and antihypercholesterolemia activities of rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) and durian (*Durio zibethinus* Murr.) fruit peel extracts. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 6(4), 190-194.
- Nor Helya, I., Lau Sin, M., & Rubiatul Adawiah, S. (2016). Evaluation of antioxidant activity of some tropical fruit peel extracts: extraction conditions optimization of rambutan peel extract. *ARPN Journal of Engineering and Applied Sciences*, 11 (3) 1819-6608.
- Núñez, J. A. de la Garza. (2006). El rambután, frutal con perspectivas de producción para la huasteca potosina (Avances de Investigación). Accessed 04 March 2018. Retrieved from: <http://biblioteca.inifap.gob.mx:8080/jspui/bitstream/handle/123456789/396/118.pdf?sequence=1>.
- Okonogi S, Duangrat C, Anuchpreeda S, Tachakittirungrod S, Chowwanapoonpohn S. (2007). Comparison of antioxidant capacities and cytotoxicities of certain fruit peels. *Food Chemistry*, 103, 839–846.
- Okuda, T., Yoshida, T., & Hatano T. (1995). Hydrolyzable Tannins and Related Polyphenols. In: Herz W., Kirby G.W., Moore R.E., Steglich W., Tamm C. (eds) Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe/Progress in the Chemistry of Organic Natural Products. Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe / Progress in the Chemistry of Organic Natural Products, vol 66. (pp. 1–117) Springer, Vienna.
- Palanisamy, U. D., Cheng, H. M., Masilamani, T., Subramaniam, T., Ling, L. T., & Radhakrishnan, A. K. (2008). Rind of the rambutan, *Nephelium lappaceum*, a potential source of natural antioxidants. *Food Chemistry*, 109(1), 54–63.
- Peréz, A., & Pohlen, J. (2004). Practicas de cosecha y poscosecha del Rambutan, en el Soconusco, Chiapas. México; LEISA, *Revista de Agroecología*, 20 (09), 24–26. Retrieved from <http://www.leisa-al.org/web/index.php/volumen-20-numero-3/2092-practicas-de-cosecha-y-poscosecha-del-rambutan-en-el-soconusco-chiapas-mexico>
- Román Rodríguez F. (2002). Un estudio de comercialización para la posible producción del cultivo de rambután en el estado de Oaxaca. PhD Thesis, Universidad Tecnológica de la Mixteca.
- SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación). (2016). El rambután exótico y delicioso. Accessed 05 December 2017. From: <https://www.gob.mx/sagarpa/articulos/el-rambutan-exotico-y-delicioso>.
- Santana-Méridas, O., González-Coloma, A., & Sánchez-Vioque, R. (2012). Agricultural residues as a source of bioactive natural products. *Phytochemistry Reviews*, 11(4), 447
- Sekar, M., Nabila, F., Jaffar, A., Zahari, N. H., Mokhtar, N., Zulkifli, N. A., & Abdullah, S. (2014). Comparative Evaluation of Antimicrobial Properties of Red and Yellow Rambutan Fruit Peel Extracts. *Annual Research & Review in Biology*, 4(424), 3869– 3874.
- Škerget, M., Kotnik, P., Hadolin, M., Hraš, A. R., Simonič, M., & Knez, Ž. (2005). Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chemistry*, 89(2), 191–198.
- Soeng, S., Evacuasiy, E., Widowati, W., & Fauziah, N. (2015). Antioxidant and hypoglycemic activities of extract and fractions of Rambutan seeds (*Nephelium lappaceum* L.). *Biomedical Engineering*, 1(1), 13–18.
- Solís-Fuentes, J. A., Camey-Ortíz, G., Hernández-Medel, M. del R., Pérez-Mendoza, F., & Durán-de-Bazúa, C. (2010). Composition, phase behavior and thermal stability of natural edible fat from rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) seed. *Bioresource Technology*, 101(2), 799–803.
- Tadtong, S., Athikomkulchai, S., Worachanon, P., Chalongpol, P., Chaichanachai, P., & Sareedenchai, V. (2011). Antibacterial activities of rambutan peel extract. *Journal of Health Research*, 25(1), 35-37.
- Thitilertdech, N., Teerawutgulrag, A., & Rakariyatham, N. (2008). Antioxidant and antibacterial activities of *Nephelium lappaceum* L. extracts. *LWT - Food Science and Technology*, 41. 2029-2035.
- Thitilertdech, N., Teerawutgulrag, A., Kilburn, J. D., & Rakariyatham, N. (2010). Identification of major phenolic compounds from *Nephelium lappaceum* L. and their antioxidant activities. *Molecules*, 15(3), 1453–1465.
- Yoswathana, N., & Eshtiaghi, M. N. (2013). Optimization for Subcritical Water Extraction of Phenolic Compounds from Rambutan Peels. *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 7(6), 122–126.