



Universidad Autónoma de Sinaloa
Facultad de Ciencias Químico Biológicas
Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos

**Obtención de Harina Funcional de Semillas
de Moringa (*M. Oleifera*) por Extrusión.
Optimización del Proceso**

T E S I S

Que presenta
IQ. Demis Alexis Rubio Ruiz

Para obtener el grado de
Maestro en Ciencia
y
Tecnología de Alimentos

Directores
Dr. Roberto Gutiérrez Dorado
Dr. Mario Armando Gómez Favela

Culiacán Rosales, Sinaloa, México

Marzo de 2019

Presentación

El presente trabajo de investigación titulado “**Obtención de harina funcional de semillas de Moringa (*M. oleifera*) por extrusión. Optimización del proceso.**” se llevó a cabo en el “Laboratorio de Bioprocesos y Alimentos Funcionales”, Programa de Posgrado en Ciencia y Tecnología de Alimentos Funcionales”, Facultad de Ciencias Químicas Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa. Los C. Dra. Janitzio Xiomara Korina Perales Sánchez, Dr. Cuauhtémoc Reyes Moreno, Dr. Roberto Gutiérrez Dorado y Dr. Mario Armando Gómez Favela participaron como Asesores Académicos. Los dos últimos fungieron como Directores de Tesis. El proyecto de investigación recibió financiamiento por parte de la Universidad Autónoma de Sinaloa a través del Programa de Fomento y Apoyo a Proyectos de Investigación (PROFAPI 2015/117). El IQ Demis Alexis Rubio Ruiz, estudiante de la Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos, recibió “Beca Nacional para Estudios de Posgrado (Maestría en Ciencias) del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT).



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA

CARTA CESION DE DERECHOS

En la Ciudad de Culiacán de Rosales, Sinaloa el día 13 del mes julio del año 2020, el que suscribe I.Q. Demis Alexis Rubio Ruiz alumno (a) del Programa de Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos con número de cuenta 0724438-1, de la Unidad Académica Facultad de Ciencias Químico Biológicas, manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de Dr. Roberto Gutierrez Dorado y Dr. Mario Armando Gómez Favela y cede los derechos del trabajo titulado "Obtención de harina funcional de semillas de Moringa (*M. oleifera*) por extrusión. Optimización del proceso.", a la Universidad Autónoma de Sinaloa para su difusión, con fines académicos y de investigación por medios impresos y digitales.

La Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México) protege el contenido de la presente tesis. Los usuarios de la información contenida en ella deberán citar obligatoriamente la tesis como fuente, dónde la obtuvo y mencionar al autor intelectual. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Demis Alexis

I.Q. Demis Alexis Rubio Ruiz

AGRADECIMIENTOS

Gracias a **Dios** por permitirme finalizar una etapa muy importante en mi vida, por permitirme tener salud y seguir adelante, agradezco la compañía que puso en mi camino, por todo lo bueno que me ha pasado y por lo malo que me ha servido de experiencia, por darme fe, fortaleza y sabiduría.

A la **Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos** de la **Facultad de Ciencias Químico Biológicas** por aceptarme y darme la oportunidad de formar parte de su programa de posgrados. Además a cada uno de los profesores que compartieron sus conocimientos conmigo tanto en el posgrado como en la licenciatura en Ingeniería Química.

Al **Dr. Roberto Gutiérrez Dorado** por permitirme formar parte de su grupo de trabajo y aceptar tenerme bajo su dirección, por su humildad, paciencia y dedicación. Excelente persona que admiro, gracias por transmitir sus conocimientos.

Al **Dr. Mario Armando Gómez Favela**, director de tesis, que asumió dicha responsabilidad y logró atender y resolver los problemas que le presentaba, por su apoyo, su atención y su buen humor.

A mis asesores **Dra. Xiomara Perales** y **Dr. Cuauhtémoc Reyes Moreno**, por estar pendientes de lo que necesitábamos, por sus enseñanzas y estar siempre para guiarme.

A mis compañeros y amigos de laboratorio: **Fernando**, por tu don de ayudar a quien lo pida y aunque renegando no sabes decir que no, **Daniel**, fue un placer ser otro freaky a quien le gustara el ánimo y los videojuegos, **Mario**, por enseñarme las mañas del extrusor y aprender a usarlo de la mejor manera, **Celeste, Brenda y Denisse**, por su buen humor y chismes de pasillo, **Alondra**, por tu ayuda con mis extractos y tus buenos memes, **Fernanda**, por siempre tener un tema del que hablar y las pelis entre extractos, **Martín y Yazmín**, por su compañía y buen humor, y en especial a **Katya** por permitirme ser su sensei al entrar al laboratorio, ayudarme en la etapa final y más dura de mis resultados y sobre todo, por su carisma y buena amistad.

A mis compañeros y colegas de generación **Yudith, Jordi, Alette, Cynthia, Maribel, Fernanda, Yazmín, Martín, Santos, Samuel, Caroline, Yessenia, Julio y Carlos**, por los buenos y malos momentos, las tardes de estudio interactivas, los recordaré con cariño a cada uno de ustedes.

A **Yudith**, que a pesar de ser de otro laboratorio, siempre mostró interés en ayudarme, aconsejarme y prestarme su tiempo para ayudarme.

A los Pokecompas, **Jordi, Agustín y Yudith**, por las reuniones cada día de la comunidad, las fiestas, pero sobre todo porque son los que siempre hacen lo posible para estar en los momentos más importantes, agradezco mucho su amistad.

A mis suegros **Jaime y Sobeida**, por aceptarme más que nada como un hijo, me hicieron creer en unos segundos padres al ser tan atentos, brindarme su amistad y amor.

A mis hermanos **Carlos, Giovanni y Mariel**, porque siempre están para mí cuando los necesito, y si no se puede, buscan una alternativa, gracias hermanos por estar siempre unidos y buscar la felicidad de cada uno, los quiero mucho.

A mi padre, **José Ariel Rubio Cuadras**, por mostrarme que el mejor camino para llegar a ser feliz es el de la sabiduría, gracias por apoyarme, por motivarme a realizar esta maestría, gracias a su ejemplo, seguiré adelante sin importar lo difícil que sea, te amo.

A mi madre, **María Guadalupe Ruiz Jacobo**, por preocuparse, estar pendiente de mí, por su buen humor, por enseñarme a luchar por lo que quiero a pesar de que las circunstancias no sean favorables, mi ejemplo de lucha, me siento infinitamente agradecido con Dios por haberme permitido ser su hijo, te amo.

A mi novia, **Sobeida Sánchez²**, por ser una parte muy importante y especial de mi vida, porque siempre estás ahí para apoyarme, por tenerme paciencia cuando no estoy de buenas, por nunca rendirte y estar conmigo en mis triunfos y fracasos, formas gran parte de este logro y estoy seguro que estarás en los próximos. Eres muy importante para mí y te agradezco todo el amor que me das, te amo.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE CUADROS	v
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
I RESUMEN	1
II INTRODUCCIÓN	5
III REVISIÓN DE LITERATURA	8
A MORINGA OLEIFERA	8
1 Origen.....	8
2 Taxonomía y aspectos botánicos.....	8
a Clasificación taxonómica.....	9
b Descripción de la semilla de <i>Moringa oleifera</i>	9
3 Aspectos agronómicos.....	12
4 Distribución geográfica.....	14
5 Producción mundial de <i>Moringa oleifera</i>	14
a Producción de <i>Moringa oleifera</i> en México.....	17
6 Composición química y valor nutricional de semillas de <i>Moringa oleifera</i> ...	18
a Proteínas.....	18
b Lípidos.....	21
c Carbohidratos.....	22
d Fibra dietaria.....	22
e Vitaminas y minerales.....	23
7 Fitoquímicos presentes en las semillas de <i>Moringa oleifera</i>	24
8 Propiedades nutracéuticas de las semillas de <i>Moringa oleifera</i>	26
9 Productos derivados y potencial industrial de semillas de <i>Moringa oleifera</i>	27
a Tratamiento de aguas.....	27
b Aceite.....	27
c Fertilizante.....	28
d Tratamiento de enfermedades.....	28
f Fabricación de biodiesel.....	29
10 Tecnologías aplicadas para la transformación de la <i>Moringa oleifera</i>	29
a Generalidades.....	29

b Tostado	29
c Germinación	30
d Fermentación en estado sólido (FES)	31
e Extrusión	32
B EXTRUSIÓN	33
1 Aspectos generales	33
2 Clasificación general de los extrusores	35
a Extrusores de tornillo simple.....	38
b Extrusores de doble tornillo	38
3 Variables en el proceso de extrusión	38
4 Beneficio del proceso de extrusión	39
a Digestibilidad de la proteína	39
b Efecto sobre carbohidratos.....	41
c Efecto sobre lípidos	41
d Efecto sobre las vitaminas.....	42
5 Efecto de la extrusión sobre niveles y perfiles de fitoquímicos.....	43
6 Efecto de la extrusión sobre actividad antioxidante y propiedades nutracéuticas	44
7 Efecto de la extrusión sobre los antinutrientes.....	45
C ALIMENTOS FUNCIONALES PREPARADOS POR EXTRUSIÓN.....	47
IV JUSTIFICACIÓN	50
V HIPÓTESIS	52
VI OBJETIVOS	53
A OBJETIVO GENERAL.....	53
B OBJETIVOS ESPECÍFICOS	53
VII MATERIALES Y MÉTODOS	54
A MATERIALES.....	54
B MÉTODOS	54
1 Características físicas de la semilla de <i>Moringa oleifera</i>	54
a Dimensiones	54
b Peso de 1,000 semillas	54
c Peso hectolítrico	54
2 Propiedades fisicoquímicas de la semilla de Moringa	55

a	Diferencia total de color (ΔE).....	55
b	Actividad de agua (a_w)	56
c	pH.....	56
d	Dispersabilidad.....	56
e	Índice de absorción de agua (IAA).....	56
f	Índice de solubilidad en agua (ISA)	57
g	Índice de absorción de aceite	57
3	Composición química	57
a	Humedad.....	57
b	Proteínas.....	58
c	Lípidos.....	58
d	Minerales.....	59
e	Fibra dietaria	59
f	Carbohidratos.....	59
4	Proceso de extrusión para obtener harina de semillas de Moringa extrudida optimizada (HSMEO).....	60
a	Diseño experimental.....	60
b	Obtención de harinas de semillas Moringa extrudida (HSME)	60
c	Extracción de fitoquímicos libres	63
d	Extracción de fitoquímicos ligados.....	63
e	Evaluación de actividad antioxidante (ABTS y DPPH).....	63
f	Determinación del contenido de compuestos fenólicos totales	65
g	Digestibilidad proteínica <i>in vitro</i> (DPIV)	65
h	Optimización	66
5	Composición química y valor nutricional de harinas de semillas de Moringa cruda (HSMC), prensada (HSMP) y extrudida optimizada (HSMEO)	66
a	Composición proximal	66
b	Digestibilidad proteínica <i>in vitro</i> (DPIV)	67
6	Propiedades fisicoquímicas de harinas de semillas de Moringa cruda (HSMC), prensada (HSMP) y extrudida optimizada (HSMEO).....	67
7	Contenido de compuestos fenólicos de harinas de semillas de Moringa cruda (HSMC), prensada (HSMP) y extrudida optimizada (HSMEO).....	67
a	Contenido de compuestos fenólicos totales.....	67

8 Contenido de compuestos antinutricionales en las harinas de semilla de moringa cruda, prensada y extrudida optimizada (HSMC, HSMP y HSMEO).	68
a Fitatos	68
b Saponinas	69
c Taninos	70
d Inhibidores de tripsina	71
e Lectinas	72
f Oxalatos	73
9 Análisis estadístico	73
VIII RESULTADOS Y DISCUSIÓN	75
A CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DE LA SEMILLA DE MORINGA	75
B COMPOSICIÓN QUÍMICA Y PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DE SEMILLA DE MORINGA CRUDA	75
C MEJORES CONDICIONES DE EXTRUSIÓN PARA OBTENER HARINA DE SEMILLAS DE MORINGA EXTRUDIDA OPTIMIZADA (HSMEO) CON VALORES MÁXIMOS DE CFT, AAox y DPIV	79
1 Modelos de predicción	79
a Compuestos fenólicos totales (CFT)	79
b Actividad antioxidante (AAox)	83
c Digestibilidad proteínica <i>in vitro</i> (DPIV)	87
2 Optimización del proceso de extrusión para obtener harina de semillas de Moringa extrudida optimizada (HSMEO)	88
D EFECTO DE LA EXTRUSIÓN EN CONDICIONES OPTIMIZADAS SOBRE COMPOSICIÓN QUÍMICA Y PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DE LAS SEMILLAS DE MORINGA PRENSADA	91
E EFECTO DE LA EXTRUSIÓN EN CONDICIONES OPTIMIZADAS SOBRE FACTORES ANTINUTRICIONALES DE LAS HARINAS DE SEMILLAS DE MORINGA PRENSADA	98
F EFECTO DE LA EXTRUSIÓN EN CONDICIONES OPTIMIZADAS SOBRE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS DE SEMILLAS DE MORINGA PRENSADA	103
IX CONCLUSIONES	107
X BIBLIOGRAFÍA	108
Abreviaturas	132

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Descripción	Pág.
1	Clasificación taxonómica de la Moringa	10
2	Especies de Moringa reportadas a nivel mundial	15
3	Principales macronutrientes en la semilla de <i>Moringa oleifera</i>	20
4	Análisis de vaina de <i>Moringa oleifera</i> de una porción comestible de 100 g	25
5	Diseño experimental utilizado para obtener HSMEO	62
6	Características físicas de la semilla de <i>Moringa oleifera</i>	76
7	Propiedades fisicoquímicas y composición química de las harinas de semilla de Moringa cruda HSMC	77
8	Diseño experimental	80
9	Coeficientes de regresión y análisis de varianza de los modelos experimentales de predicción que muestran la relación entre las variables de respuesta y variables de proceso para la producción de HSMEO	82
10	Composición química, propiedades nutricionales y fisicoquímicas de harinas de semilla de Moringa cruda, prensada y extrudida optimizada (HSMC, HSMP, HSMEO)	92
11	Contenido de antinutrientes en las harinas de semillas de Moringa cruda, prensada y extrudida optimizada (HSMC, HSMP, HSMEO)	99
12	Actividad antioxidante y compuestos fenólicos de harinas de semilla de Moringa cruda, prensada y extrudida optimizada (HSMC, HSMP, HSMEO)	105

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Descripción	Pág
		.
1	Vaina y semilla de <i>Moringa oleifera</i>	11
2	Países donde crece la <i>Moringa oleifera</i>	16
3	Localidades del cultivo de <i>Moringa oleifera</i> en México	19
4	Componentes principales de un extrusor	37
5	Gráficas de superficie de respuesta (A) y de contornos (B) mostrando el efecto de las variables de proceso de extrusión [TE : Temperatura de extrusión (°C), VT : Velocidad de tornillo (rpm)] sobre el contenido de compuestos fenólicos totales [CFT (mg EAG / 100 g, bs)] de las harinas de semillas de Moringa extrudida (HSME).	84
6	Gráficas de superficie de respuesta (A) y de contornos (B) mostrando el efecto de las variables de proceso de extrusión [TE : Temperatura de extrusión (°C), VT : Velocidad de tornillo (rpm)] sobre la actividad antioxidante [AAox (μmol ET / 100g, bs)] de las harinas de semillas de Moringa extrudida (HSME).	86
7	Gráficas de superficie de respuesta (A) y de contornos (B) mostrando el efecto de las variables de proceso de extrusión [TE : Temperatura de extrusión (°C), VT : Velocidad de tornillo (rpm)] sobre la digestibilidad proteínica <i>in vitro</i> [DPIV (%)] de las harinas de semilla de Moringa extrudida (HSME).	89
8	Gráfica de superposición mostrando la región con la mejor combinación de las variables del proceso de extrusión [(TE : Temperatura de extrusión (°C), VT : Velocidad de tornillo (rpm))] para la obtención de harina de semillas de Moringa extrudida optimizada (HSMEO).	90

I RESUMEN

Moringa oleifera es un árbol de la familia de las Moringáceas que posee propiedades antimicrobianas, nutritivas, antioxidantes y terapéuticas. En la década pasada, el uso de *Moringa oleifera* incrementó significativamente en muchos países del mundo donde esta planta no es nativa, entre los que se puede incluir a México, ya que Moringa tiene excelentes propiedades agronómicas (es un árbol que crece con suma rapidez, tolera el calor, es resistente a las sequías y puede cultivarse en regiones áridas y semiáridas). Sin embargo, la mayoría de los estudios se han realizado en hojas de Moringa, y existen pocos estudios en las semillas de esta planta, las cuales tienen una composición química y propiedades nutricionales y antioxidantes sobresalientes. La extrusión, es una tecnología que incrementa la biodisponibilidad y densidad nutritiva, seguridad alimentaria, estabilidad durante el almacenamiento y palatabilidad de los alimentos elaborados a partir de granos y/o semillas de cereales y leguminosas; además, se ha reportado que esta tecnología tiene potencial para incrementar el contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante de los sustratos, mejorando su funcionalidad asociada a la salud. Es necesario conocer el efecto que esta tecnología podría tener en la semilla de *Moringa oleifera*. Sin embargo, el contenido de aceite en las semillas de Moringa es alto (30 a 42%, bs), lo cual es indeseable en el proceso de extrusión, ya que un exceso de lubricación causa una disminución de los esfuerzos de corte dentro del extrusor; es por ello que, las semillas deben ser desgrasadas hasta obtener 10% o menos de aceite previo a ser alimentada al extrusor. El objetivo de esta investigación fue optimizar las condiciones del proceso de extrusión [**TE** (°C)=Temperatura de extrusión, **VT** (rpm) =Velocidad del tornillo] de semillas de *Moringa oleifera* sin cáscara desgrasadas, para maximizar sus valores de actividad antioxidante (**AAox**), contenido de compuestos fenólicos totales (**CFT**) y digestibilidad proteínica *in vitro* (**DPIV**). Para optimizar el proceso de extrusión se utilizó la metodología de superficie de respuesta (**MSR**) sobre tres variables de respuesta (**AAox**, **CFT**, **DPIV**). Se aplicó un diseño experimental central compuesto rotatable con dos factores [Temperatura de extrusión (**TE**, 50-150°C), velocidad de tornillo (**VT**, 50-240 rpm)] con cinco niveles; se generaron 13 tratamientos. Se utilizó el método gráfico para obtener la TE y VT óptimas correspondientes al punto central de la zona con los

valores máximos de **AAox**, **CFT**, **DPIV**. Los modelos de predicción desarrollados para cada variable de respuesta mostraron coeficientes de determinación altos, demostrando ser adecuados para explicar las variaciones observadas en los datos experimentales. Las condiciones óptimas de extrusión fueron: TE=109°C/VT=65 rpm. Se aplicaron estas condiciones para obtener harina de semillas de Moringa extrudida optimizada (HSMEO) con valores altos de AAox [ABTS: 8,909 / DPPH: 609.2 μ mol equivalentes de Trolox (ET)/100 g, bs], CFT [277.6 mg equivalentes de ácido Gálico (EAG) /100 g, bs] y DPIV [76.9%]. La HSMEO tuvo menor contenido de lípidos y mayor contenido de proteínas, minerales, fibra dietaria total, AAox y CFT que la harina de semillas de Moringa cruda (HSMC). La HSMEO también presentó bajos niveles de factores antinutricionales (fitatos, saponinas, taninos, inhibidores de tripsina, lectinas y oxalatos). La HSMEO puede ser utilizada como una fuente natural de proteínas, fibra dietaria y antioxidantes para el desarrollo de bebidas y alimentos funcionales.

ABSTRACT

Moringa oleifera is a tree of the Moringaceae family that has antimicrobial, nutritive, antioxidant and therapeutic properties. In the last decade, the use of *Moringa oleifera* increased significantly in many countries of the world where this plant is not native, among which can be included Mexico, since Moringa has excellent agronomic properties (it is a tree that grows very quickly, tolerates heat, is resistant to drought and can be cultivated in arid and semi-arid regions). However, most studies have been done on Moringa leaves, and there are few studies on the seeds of this plant, which have a chemical composition and outstanding nutritional and antioxidant properties. Extrusion is a technology that increases the bioavailability and nutritive density, food safety, stability during storage and palatability of foods made from grains and / or seeds of cereals and legumes; in addition, it has been reported that this technology has the potential to increase the content of phenolic compounds and antioxidant activity of the substrates, improving their functionality associated with health. It is necessary to know the effect that this technology could have on the *Moringa oleifera* seeds. However, the oil content in Moringa seeds is high (30 to 42%, bs), which is undesirable in the extrusion process, since an excess of lubrication causes a decrease in the shearing forces inside the extruder; that is why, the seeds must be defatted until obtaining 10% or less of oil prior to being fed to the extruder. The objective of this research was to optimize the conditions of the extrusion process [**TE** (°C) = Extrusion temperature, **VT** (rpm) = Screw speed] of *Moringa oleifera* defatted seeds, to maximize their values of antioxidant activity (**AoxA**), content of total phenolic compounds (**TPC**), and *in vitro* protein digestibility (**DPIV**). To optimize the extrusion process, the response surface methodology (RSM) was used on three response variables (**AAox**, **CFT**, **DPIV**). A central rotatable composite experimental design was applied with two factors [Extrusion temperature (**TE**, 50-150 ° C), screw speed (**VT**, 50-240 rpm)] with five levels; 13 treatments were generated. The graphical method was used to obtain the optimal **TE** and **VT** corresponding to the central point of the zone with the maximum values of **AoxA**, **TPC**, **DPIV**. The prediction models developed for each response variable showed high coefficients of determination, proving to be adequate to explain the variations observed in the experimental data. The optimal extrusion conditions were:

TE = 109 °C / **VT** = **65** rpm. These conditions were applied to obtain optimized extruded Moringa seed flour (**OEMSF**) with high values of **AoxA** [ABTS: 8.909 / DPPH: 609.2 µmol equivalents of Trolox (TE) / 100 g, db], CFT [277.6 mg equivalents of acid Gallic (EAG) / 100 g, db] and DPIV [76.9%]. OEMSF had lower lipid content and higher protein, mineral, total dietary fiber, AAox and CFT content than raw Moringa seed flour (RMSF). The OEMSF also had low levels of antinutritional factors (phytates, saponins, tannins, trypsin inhibitors, lectins and oxalates). OEMSF can be used as a natural source of protein, dietary fiber and antioxidants for the development of beverages and functional foods.

II INTRODUCCIÓN

En la década pasada, el uso de *Moringa oleifera* incrementó significativamente en muchos países del mundo donde esta planta no es nativa, entre los que se puede incluir a México. Este incremento se debe principalmente a sus conocidos beneficios a la salud y sus potenciales usos farmacológicos. Pero, la gran mayoría de la información disponible sobre Moringa ha sido proporcionada por proveedores y promotores de "Alimentos Saludables" y "Alimentos Funcionales" y es de gran relevancia separar esta información de la evidencia científica rigurosa. Durante los años recientes las publicaciones que tratan acerca de las propiedades bioactivas de los compuestos encontrados en *Moringa oleifera* aumentaron significativamente; estas publicaciones describen y apoyan el uso de Moringa como complemento en el tratamiento de la desnutrición y ciertas enfermedades crónico-degenerativas y enfermedades infecciosas (Castillo-López y col 2017).

Es por estas propiedades relacionadas a la salud que *Moringa oleifera* ofrece características muy atractivas para establecer su cultivo en comunidades sostenibles en el trópico seco de México y otros países de Latinoamérica. Este árbol crece con suma rapidez, tolera el calor, es resistente a las sequías y puede cultivarse en regiones áridas y semiáridas. Esto es de particular importancia debido a que las condiciones climáticas ya no se rigen por temporadas, ya que con el paso del tiempo las estaciones del año han cambiado radicalmente de un clima caluroso en invierno hasta una sequía en verano (Olson y Fahey 2011; Pérez-Ángel y col 2011; Sánchez-Peña y col 2013).

Un reciente estudio conducido por Fundación Produce demostró la factibilidad técnica y económica del cultivo intensivo de *Moringa oleifera* bajo condiciones de temporal y riego en el centro de Sinaloa (Pérez-Ángel y col 2011). Las semillas pueden

contener hasta un 30-42% de aceite y la torta obtenida de su prensado presenta un 60% de proteínas. El polvo de Moringa contiene el doble de proteína que la leche en polvo y mayores niveles de Calcio. Estos nutrimentos pueden obtenerse a un costo de producción e impacto ambiental bajos (Olson y Fahey 2011). Algunos investigadores (Abdulkarim y col 2005; Anwar y col 2006; Nzikou y col 2009; Compaoré y col 2011) han reportado contenidos de proteínas en semilla de *Moringa oleifera* en un rango 29.6-37.6%. Estos valores son superiores a los presentados en leguminosas y cereales de importancia comercial. El aceite de las semillas de *M. oleifera* es rico en ácidos grasos insaturados (75.8-82.9%), con ácido oleico como el componente principal (71.2-79.5%) (Ogunsina y col 2014). Además, las semillas de Moringa contienen vitaminas, como provitamina A, complejo B y C, y minerales esenciales como macroelementos como sodio, potasio, calcio, fósforo y magnesio, y microelementos como hierro, cobre, manganeso y zinc (Barakat y Ghazal 2016).

Las diferentes partes de *M. oleifera* contienen más de 40 compuestos con actividad antioxidante, entre los que se encuentran compuestos fenólicos como Kaempferol y los ácidos Gálico y Elágico. Estudios *in vitro* demostraron que los extractos de hojas, frutos y semillas de Moringa, debido a sus propiedades antioxidantes, protegen las células vivas del daño oxidativo del ADN asociado con el envejecimiento, el cáncer y las enfermedades degenerativas (Singh y col 2009). Sin embargo, los estudios sobre esta planta se han enfocado principalmente a la composición química y propiedades fisicoquímicas, nutricionales y nutracéuticas de las hojas de Moringa, mientras que otras partes anatómicas de esta planta han sido poco estudiadas.

Estudios, como los mencionados arriba han demostrado que las semillas de

Moringa tienen potenciales tecnológicos, nutricionales y nutracéuticos que deben ser mayormente estudiados. Por otro lado, es necesaria la búsqueda de tecnologías de proceso que garanticen la comercialización de productos de la agricultura, como son las semillas de *Moringa oleifera*, a través de la generación de alimentos nutritivos, listos para comer, de cocción rápida y/o instantáneos los cuales son altamente demandados por la sociedad actual (Chattopadhyay 2011) y que, además, tengan el potencial para incrementar el valor nutracéutico de los mismos.

Entre estas tecnologías destaca la extrusión, la cual incrementa la biodisponibilidad y densidad nutritiva, seguridad alimentaria, estabilidad durante almacenamiento y palatabilidad de los alimentos elaborados a partir de granos y/o semillas de cereales y leguminosas; además, se ha reportado que esta tecnología tiene potencial para incrementar el contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante de los sustratos, mejorando su funcionalidad asociada a la salud. Asimismo, se hipotetiza que la aplicación de la tecnología de extrusión para el procesamiento de semillas de *Moringa oleifera* potencia los beneficios de dicha semilla.

Es por ello que el propósito de esta investigación fue optimizar las variables del proceso de extrusión (Temperatura de extrusión / velocidad de tornillo) de semillas de *Moringa oleifera* para obtener un alimento funcional (harina de semilla de *Moringa oleifera* extrudida optimizada) con actividad antioxidante, contenido de compuestos fenólicos y digestibilidad proteínica *in vitro* altos.

III REVISIÓN DE LITERATURA

A MORINGA OLEIFERA

1 Origen

El árbol de *Moringa oleifera* es un cultivo originario del sur del Himalaya, noreste de la India, Pakistán, Bangladesh, Arabia Saudita y Afganistán, pero se ha naturalizado en la mayoría de los países tropicales y subtropicales (Pérez y col 2010).

El nombre del género *Moringa* es un vocablo español que proviene de murumkay, nombre dado por el pueblo tamil a la *Moringa oleifera*. El epíteto específico *oleifera*, que significa "portador de aceite", hace honor a la capacidad productora de aceite que posee la planta. Sus propiedades medicinales eran conocidas por los sánscritos, al igual que por los antiguos hindúes, quienes lo recogieron en el Ayurveda, y por los egipcios. También se cita a la *Moringa* con propiedades para depurar el agua (Godino 2016). En América Latina y Centroamérica se introdujo en 1920 como un árbol ornamental y fue utilizado como cerca viva y cortinas rompevientos (Reyes 2004).

2 Taxonomía y aspectos botánicos

Se trata de un árbol perenne pero poco longevo, que a lo sumo puede vivir 20 años, aunque se han obtenido variedades en la India que son anuales y permiten el cultivo mecanizado. Es una especie de muy rápido crecimiento. Aporta una elevada cantidad de nutrientes al suelo, además de protegerlo de factores externos como la erosión, la desecación y las altas temperaturas (Oliver-Bever 1983).

El árbol alcanza de 7 a 12 m de altura y de 20 a 40 cm de diámetro, fuste generalmente recto (Falasca y Bernabé 2008). Sus principales características morfológicas son:

Hojas compuestas con longitud de 30 a 70 cm (Becerra y Chaparro 1999). Flores pentámeras de color blanco-amarillentas que aparecen unos seis meses después de la siembra y alcanzan tamaños de 1 cm de largo y 2 cm de ancho (Parrotta 2003).

Los frutos son vainas de sección triangular, color pardo, de 30 - 45 cm de longitud, de 2 a 2.5 cm de ancho. Alcanzan la madurez aproximadamente 3 meses después de la floración (Espíndola 2007).

a Clasificación taxonómica

El árbol de *Moringa oleifera* es miembro de la familia *Moringaceae*, origen *Capparidales*, clase *Magnoleopsida* con 13 especies (**Cuadro 1**), las cuales pueden ser desde arbustos hasta árboles (Olson 2002).

b Descripción de la semilla de *Moringa oleifera*

Las semillas se encuentran en cápsulas trilobuladas, dehiscentes de 20 a 40 cm de longitud llamadas vainas que contienen de 12 a 25 semillas (**Figura 1**). Cada árbol puede producir de 15,000 a 25,000 semillas por año (Foidl y col 1999).

Las semillas son de color pardo, con tres alas de consistencia papiracea, alcanzan 1 cm de diámetro y un peso promedio de 0.3 gramos cada una; se extraen directamente de las vainas maduras y secas en el árbol (Espíndola 2007). Las vainas maduras permanecen en el árbol por varios meses antes de partirse y de

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de la Moringa

Taxonomía	
Familia	MORINGÁCEAS
Origen	<i>Capparidales</i>
Clase	<i>Magnoleopsida</i>
Género	<i>Moringa</i>
Especies	<i>arborea</i> <i>concanensis</i> <i>drocanensis</i> <i>drouhardii</i> <i>hildebrandtii</i> <i>pygmeae</i> <i>peregrina</i> <i>ovalaifolia</i> <i>rospoliana</i> <i>stenopetala</i> <i>rivae</i> <i>oleifera</i> <i>borziana</i>

Fuente: Liñán Tobías (2010)



Figura 1. Vaina y semillas de *Moringa oleifera* (Telma 2011).

liberar las semillas, las cuales son dispersadas por el viento, agua y probablemente animales (Caceres y col 1991).

3 Aspectos agronómicos

El árbol de *Moringa oleifera* es un árbol de crecimiento muy rápido, en el primer año se pueden desarrollar hasta tres o cinco metros en condiciones ideales de cultivo. Es una familia de plantas resistente a la sequía, aunque con tendencia a perder las hojas en periodos de estrés hídrico, se beneficia de algún riego esporádico.

La semilla germina en un tiempo de 8-10 días. También se beneficia de algún pequeño aporte de fertilizante. Los árboles alcanzan alturas de 10 hasta 12 metros (Fuglie 1999).

Tolera una amplia gama de condiciones del suelo, pero prefiere un suelo arenoso o arcilloso neutro a ligeramente ácido (pH 6.3 - 7.0). Los requerimientos anuales mínimos de lluvia se estiman en 250 mm con un máximo de más de 3,000 mm, pero en suelo inundado las raíces tienen tendencia a pudrirse. Las semillas de Moringa no tienen período de latencia, por lo que pueden plantarse tan pronto como estén maduras y conservarán la capacidad de germinar hasta un año (Fuglie 1999).

Las plagas que afectan las plantas inmediatamente después de la germinación son hormigas, el gusano medidor y *Mocis latipes*, normalmente realizan un ataque y no regresan más al cultivo, aunque hay que controlarlo de todas formas para disminuir los daños (Falasca y Bernabé 2008).

Los métodos de siembra que se implementan en el establecimiento del cultivo son:

Siembra Directa: Directamente en el campo, esta se puede realizar con sembradora o manual en el terreno previamente preparado (Cerrato 2014).

Si el agua está disponible para el riego, los árboles pueden ser sembrados y cultivados en cualquier momento durante el año. En un campo grande, los árboles pueden sembrarse directamente al comienzo de la estación húmeda (Odee 1998).

Siembra en Viveros: Ésta se realiza con el propósito de obtener un mejor control de la plantación en sus primeros estadíos previo al establecimiento en campo (Cerrato 2014).

Se utilizan bolsas de polietileno con una mezcla de tierra y arena en relación 3:1 respectivamente, cada saco debe contener de 2 a 3 semillas y entre 1 a 2 cm de profundidad, se requiere mantener húmedo pero no inundado. La germinación se da de 5 a 12 días dependiendo de la edad de la semilla y el cuidado que se le dé al cultivo. Cuando la planta alcanza de 60 a 90 cm de altura pueden ser sembradas (Odee 1998).

Crecimiento por estacas: Se puede reproducir por estacas de 1 a 1.40 m de largo, aunque para ser trasplantados en regiones áridas y semiáridas conviene obtener el árbol por semilla, porque producirá raíces más largas. Árboles cultivados por su fruta y para forraje se podan para restringir el desarrollo de la copa y promover el crecimiento de nuevas ramas (CEMAT 1989). Después del cortado, rebrota vigorosamente dando de cuatro a ocho renuevos por tronco que queda unida a la raíz (Cordero 1978).

Cuando las estacas se plantan en el vivero, el sistema de raíces es lento para desarrollarse. Es recomendable agregar fósforo al suelo para estimular el desarrollo de raíces. Los tallos plantados en un vivero pueden ser sembrados después de dos o tres meses (Odee 1998). En el caso de árboles obtenidos por estacas, los frutos aparecen a los 6 meses después de plantados (Dastur 1970).

4 Distribución geográfica

El árbol de *Moringa oleifera* es un cultivo originario del sur del Himalaya, noreste de la India, Pakistán, Bangladesh, Arabia Saudita y Afganistán; las diferentes especies se han naturalizado en la mayoría de los países tropicales y subtropicales (Pérez y col 2010) (**Cuadro 2**).

Esta planta se ha registrado en los bosques tropicales caducifolios del noroeste de la India y en el este de Pakistán, en la zona entre Simla en la India y Faisalabad en Pakistán. Sin embargo, existen pocos registros publicados sobre la distribución natural de la planta, por lo cual un estudio detallado de los bosques remanentes de esa zona revelaría la distribución natural de este recurso importante, así como del germoplasma existente (Olson & Fahey 2011). En América Central fue introducido en el año de 1920 como planta ornamental y para cercas vivas, se encuentra en áreas desde el nivel de la costa hasta los 1,800 metros sobre el nivel del mar. Se ha vuelto nativo en muchos países de África, Madagascar, Arabia, el Sureste de Asia, la zona del Pacífico, incluyendo a México, las Islas del Caribe y América del Sur (**Figura 2**). Es el árbol ideal para zonas áridas, semiáridas, tropicales y subtropicales (Balbir 2005).

5 Producción mundial de *Moringa oleifera*

Moringa oleifera es la especie económicamente más valiosa y procede de Asia meridional, donde crece en las estribaciones del Himalaya pero se cultiva extensamente en los trópicos. Pueden encontrarse hasta nueve especies al este de

Cuadro 2. Especies de Moringa reportadas a nivel mundial

Especie	Lugar de origen
<i>Moringa drouhardii</i>	Madagascar
<i>Moringa concanensis</i>	Asia, Principalmente la India
<i>Moringa arbórea</i>	Noreste de Kenia
<i>Moringa hildebrandtii</i>	Madagascar
<i>Moringa oleifera India</i>	India
<i>Moringa borziana</i>	Kenia y Somalia
<i>Moringa ovalifolia</i>	Namibia el estrecho sur occidental de Angola
<i>Moringa peregrina</i>	Mar rojo, Arabia y cuerno de África
<i>Moringa longituba</i>	Kenia, Etiopia y Somalia
<i>Moringa stenopetala</i>	Kenia y Etiopia
<i>Moringa pygmaea</i>	Norte de Somalia
<i>Moringa rivae</i>	Kenia y Etiopia
<i>Moringa ruspoliana</i>	Kenia, Etiopia y Somalia

Agrodesierto (1998).

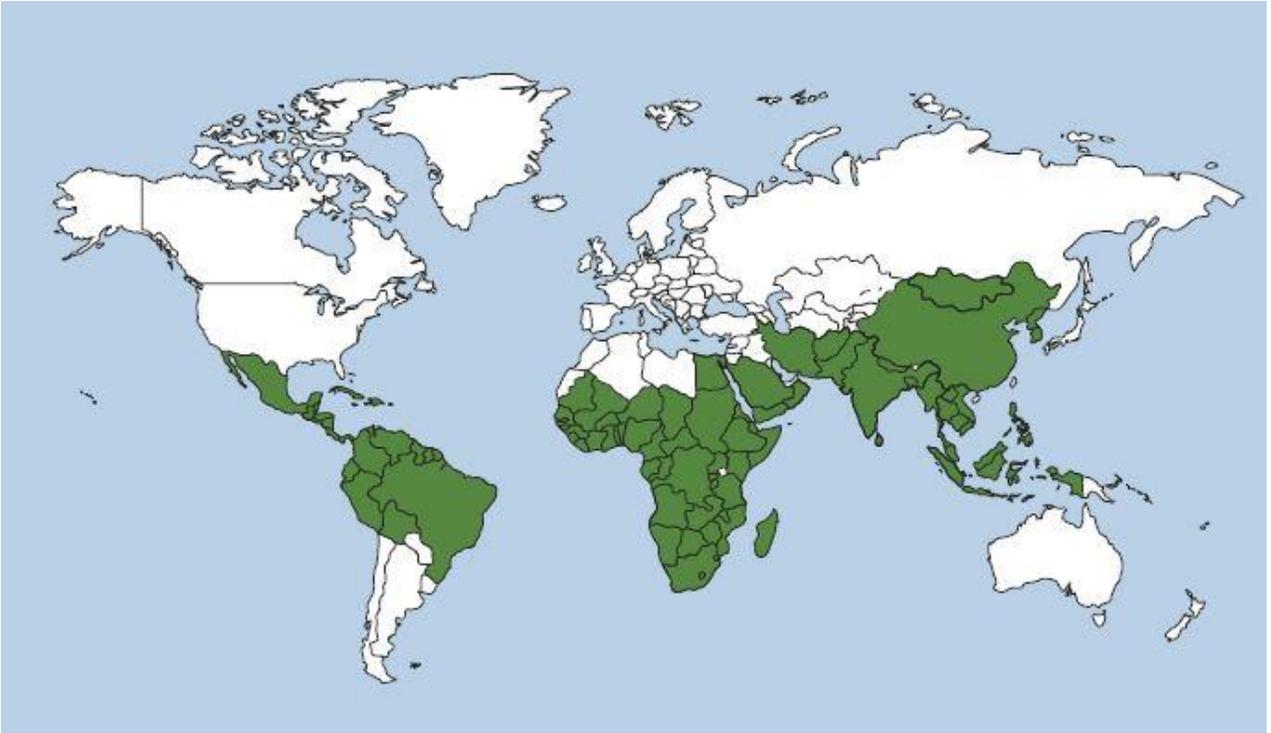


Figura 2. Países donde crece la Moringa (Balbir 2005)

Etiopía, al norte de Kenia y en Somalia, siendo ocho de ellas endémicas en África (FAO 2017).

Su cultivo y consumo es alentado por organizaciones de ayuda humanitaria en países donde amenaza la hambruna, ya que permite alimentar a bajo costo, con rapidez y eficacia a gran número de personas. El rendimiento obtenido por hectárea es de 3,000 kg de semillas equivalente a 900 kg de aceite por hectárea, comparable con la soya que también rinde 3,000 kg de semillas/ha pero se obtiene sólo el 20% de aceite (Falasca y Bernabé 2008).

La Moringa es un cultivo importante en India, Etiopía, Filipinas y Sudán, y se está cultivando en África oriental, occidental y austral, Asia tropical, América Latina, el Caribe, Florida y las islas del Pacífico (FAO 2017).

a Producción de *Moringa oleifera* en México

La Moringa se cultiva en muchas regiones del mundo bajo condiciones de clima tropical, y por supuesto, prospera perfectamente en algunas regiones de México (**Figura 3**) aunque sus virtudes alimenticias, culinarias y medicinales no son muy conocidas en el país (Pérez 2011).

Con el reciente auge mundial del cultivo de la Moringa, el árbol ha llegado a México en forma de semillas desde África y la India, generalmente para su cultivo en campos especializados, con la finalidad de cosechar hojas (Fuglie 2001). Las hojas pueden utilizarse como forraje para toda clase de ganado. En México se llegó a la conclusión de que el costo de alimentación del ganado fue 10 veces menor cuando se utilizó Moringa, que cuando se alimentó con alimentos balanceados (Pérez 2011).

El INIFAP inició investigaciones sobre esta especie con enfoque multipropósito en diferentes regiones geográficas de México, principalmente Sonora, Yucatán, Jalisco y Chiapas. En Ciudad Obregón, Sonora, la Fundación de Apoyo Infantil Sonora, mantiene plantaciones con fines alimenticios (INIFAP 2011).

En Sinaloa, así como en otras partes del país, existen ejemplares de *Moringa oleifera* (**Figura 3**). Actualmente, el árbol de Moringa ya se siembra en toda la costa del Pacífico mexicano, desde Sonora y Sinaloa hasta el Istmo de Tehuantepec, en Oaxaca (Olson 2011).

6 Composición química y valor nutricional de semillas de *Moringa oleifera*

La planta de *Moringa oleifera* es considerada una oleaginosa. En esta clasificación se incluyen un conjunto de especies vegetales pertenecientes a diferentes familias, cuya característica común es la de producir semillas con alto contenido en aceite. Algunos ejemplos de oleaginosas son: soya, cacahuate, girasol, cártamo, algodón, lino, entre otras. La denominación de semillas oleaginosas no es una clasificación botánica, sino la designación industrial o comercial que reciben las materias primas que generalmente se producen con el fin de extraer y comercializar su aceite, tanto para consumo humano así como para usos industriales (Sala & Barroeta 2003). Virtualmente, todas las partes de la planta son aptas para su consumo y poseen un alto y apreciable valor nutricional, (Canett 2014) en el **Cuadro 3** se muestran cantidades de los principales macronutrientes en la semilla de *Moringa oleifera*.

a Proteínas

Las semillas pueden contener hasta un 30-42% de aceite y la torta obtenida

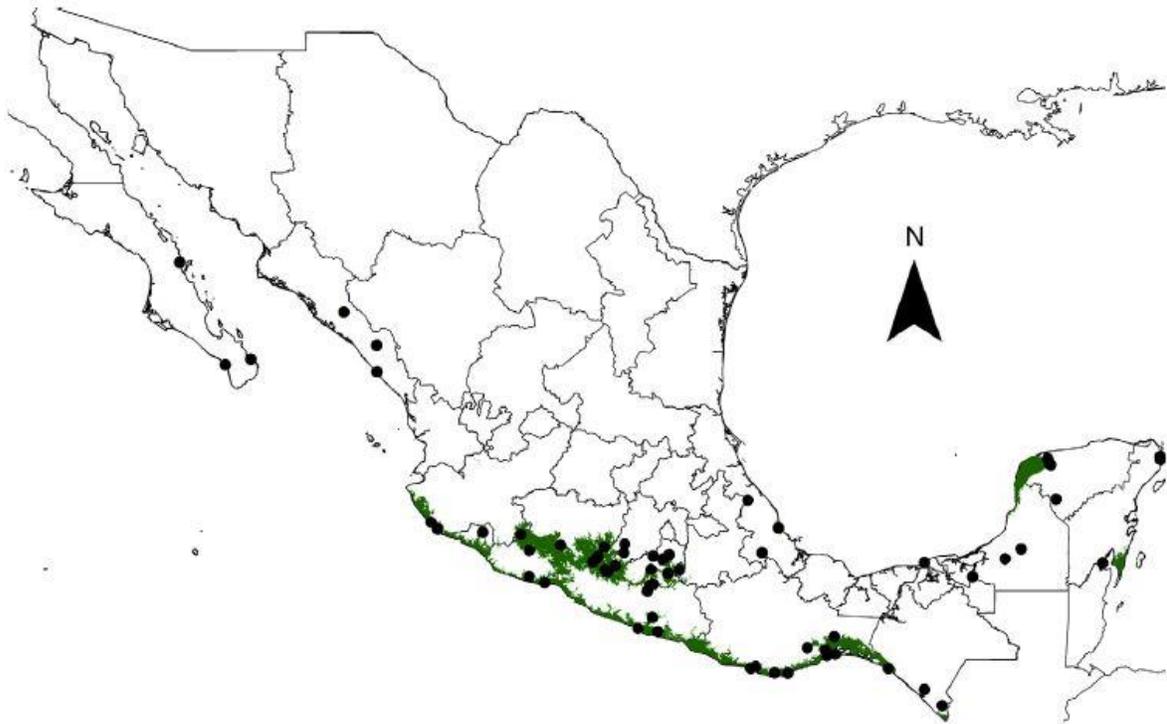


Figura 3. Localidades del cultivo de *Moringa oleifera* en México. Los puntos negros indican las 67 localidades donde se ha documentado *M. oleifera* como parte de la horticultura tradicional. **Fuente:** Olson y col (2016).

Cuadro 3. Principales macronutrientes en la semilla de *Moringa oleifera*

Nutrimiento	Semilla de Moringa sin procesar, bs (g)
Proteína	14.75 – 16.81
Lípidos	37.27 – 41.65
Cenizas	3.28 – 3.5
Fibra total	4.22 – 4.65
Carbohidratos	34.54 – 39.82

de la Mora-López y col (2018).

de su prensado presenta un 60% de proteínas. El polvo de Moringa contiene el doble de proteína que la leche en polvo y mayores niveles de Calcio (Olson y Fahey 2011). Algunos investigadores (Abdulkarim y col 2005; Anwar y col 2006; Nzikou y col 2009; Compaoré y col 2011) han reportado contenidos de proteínas en semilla de *Moringa oleifera* en un rango 29.6-37.6%. Estos valores son superiores a los presentados en leguminosas y cereales de importancia comercial.

Los principales aminoácidos presentes en esta fuente de proteína son el ácido aspártico, ácido glutámico, arginina, alanina e isoleucina según Oliviera y col (1999). El contenido de proteína varía entre las fracciones anatómicas de la semilla. Para el kernel se ha reportado un contenido de proteína de alrededor del 36.7%, mientras que la cáscara posee alrededor de un 9.9% (Makkar y Becker 1997).

b Lípidos

La semilla de Moringa posee un importante contenido de lípidos totales que va desde un 30% a un 40%. El perfil de ácidos grasos del aceite de esta semilla indica que el ácido palmítico, esteárico, linoleico y oleico son los principales ácidos grasos presentes, siendo el ácido oleico su componente mayoritario (73%). En base a su perfil de ácidos grasos, el aceite de Moringa tiene el mismo nivel de calidad del aceite de oliva (55-83% de ácido oleico), lo que indica que podría tener un valor similar en el mercado (Folkard y Sutherland 1996; Abdulkarim y col 2005).

En el kernel de la semilla de *Moringa oleifera* es donde se encuentra presente la mayor cantidad de lípidos (41.7%) del total presente en la semilla entera. En cáscara se ha encontrado un contenido de lípidos de 2.2% (Makkar y Becker 1997).

c Carbohidratos

Los glúcidos, carbohidratos, hidratos de carbono o sacáridos son biomoléculas compuestas por carbono, hidrógeno y oxígeno, cuyas principales funciones en los seres vivos son el brindar energía inmediata y estructural. La glucosa y el glucógeno son las formas biológicas primarias de consumo de energía y almacenamiento (Alberts 1992). El porcentaje de carbohidratos presente en las semillas de *Moringa oleifera* es comparable con el de la semilla de girasol, 19% (FAO 2005). En la semilla de *Moringa oleifera* el porcentaje de carbohidratos presente es de 18.1% (INCAP 2006).

Por cada 100 g de semillas de *Moringa oleifera* secas, se tienen entre 34.54 y 39.82 g de carbohidratos (de la Mora y col 2018).

d Fibra dietaria

Se le conoce como fibra dietaria a una mezcla heterogénea de componentes de origen vegetal resistentes a las enzimas digestivas del hombre. Existen diferentes definiciones de fibra dietaria, pero todas ellas coinciden en que consisten principalmente de polímeros de carbohidratos (polisacáridos no amiláceos) que son componentes de las paredes de las células vegetales, incluidas celulosa, hemicelulosa y pectinas, así como otros polisacáridos de origen vegetal o algas, como gomas, mucílago y oligosacáridos como la inulina (Gray 2006).

Existen fibras que afectan principalmente la absorción de la glucosa y la grasa. Históricamente, a éstas se las llamó solubles debido a que muchas de ellas eran viscosas y formaban geles en el intestino delgado (por ejemplo, pectinas y β -glucanos). Por el contrario, los tipos de fibra dietética con una mayor influencia en la función del

intestino grueso se denominaron insolubles (incluidas la celulosa y la lignina) (Gray 2006).

Montaño (2014) reporta que la cáscara, la capa más externa de la semilla de *M. oleifera*, se caracteriza por el alto contenido de fibra, la cual puede estar compuesta por celulosa, hemicelulosa, lignina y pectina entre otros. Mallillin y col (2014) reporta un contenido de fibra dietaria total en hojas de *M. oleifera* de 24.3g/100g, de los cuales, el 4.7 y 19.6g /100g pertenece a la fibra soluble e insoluble respectivamente. En el mismo estudio se reportó el contenido de fibra de las vainas de *Moringa oleifera*, encontrando un contenido de fibra dietaria total de 34g/100g, de los cuales, 11.3 y 22.7g /100g son de fibra soluble e insoluble respectivamente.

e Vitaminas y minerales

Las vitaminas son compuestos orgánicos que el organismo no puede producir y deben ser proporcionados a través de los alimentos. Cuando el consumo de alimentos no satisface las necesidades de vitaminas que el organismo requiere para su adecuado funcionamiento se pueden desarrollar enfermedades (FAO 2010).

Los minerales son elementos necesarios para la formación de las estructuras óseas que conforman el cuerpo y también para regular las reacciones químicas dentro del organismo. Así como las vitaminas, los minerales se necesitan en pequeñas cantidades (FAO 2010).

El contenido de minerales según INCAP (2006) en semillas de *Moringa oleifera* es de 2.1% obteniéndose 3.4 mg de calcio, 18.3 mg potasio y 7.1 mg de hierro por cada 100 g. Para el caso de algunas vitaminas el INCAP (2006) reporta 114.4 µg de β-carotenos y 0.1 mg de vitamina C por cada 100 g en ambos casos. Fuglie (2001)

realizó sus análisis de composición química en vainas enteras que contenían la semilla obteniendo un aproximado de 2 g de minerales por cada 100 gramos de vaina destacándose potasio, azufre y fósforo; en el caso de las vitaminas, las vitaminas B y C se encontraron en mayor proporción (**Cuadro 4**).

7 Fitoquímicos presentes en las semillas de *Moringa oleifera*

Los fitoquímicos son metabolitos secundarios que están presentes abundantemente en plantas y alimentos vegetales que poseen actividad biológica, algunos fitoquímicos (por ejemplo polifenoles) en la dieta humana, poseen actividades biológicas como antioxidantes y antiinflamatorias (Ferrazzano y col 2011).

Los polifenoles, son una clase de compuestos bioactivos en el alimento, a los cuales se le atribuyen la amargura, el color y el sabor de los productos (Shahidi y Naczk 1995; Isaza 2007). Otros fitoquímicos importantes, los fitoesteroles son una clase de compuestos bioactivos que ayudan a reducir la absorción de colesterol en el intestino humano; además, se han asociado a propiedades antivirales y antitumorales (Moghadasian y Frohlich 1999; Li y Zhang 2001).

Los flavonoides son compuestos fenólicos a los que se les atribuyen propiedades antioxidantes y de reducción de lípidos que ayudan a mejorar el rendimiento cognitivo y prevenir enfermedades cardiovasculares (Stangl y col 2006; Spencer 2008).

Las diferentes partes de *M. oleifera* contienen más de 40 compuestos con actividad antioxidante, entre los que se encuentran compuestos fenólicos como el Kaempferol y los ácidos Gálico y Elágico. Estudios *in vitro* demostraron que los extractos de hojas, frutos y semillas de Moringa, debido a sus propiedades

Cuadro 4. Análisis de vaina de *Moringa oleifera* de una porción comestible de 100 gramos

Composición	Vainas
Minerales (g)	2
Calcio (mg)	30
Magnesio (mg)	24
Fósforo (mg)	110
Potasio (mg)	259
Cobre (mg)	3.1
Hierro (mg)	5.3
Azufre (mg)	137
Ácido oxálico	10
Vit. A β -carotenos (mg)	0.11
Vit. B Colina (mg)	423
Vit. B1 Tiamina (mg)	0.05
Vit. B2 Riboflavina (mg)	0.07
Vit. B3 Ácido nicotínico (mg)	0.2
Vit. C Ácido ascórbico (mg)	120

Fuglie (2001).

antioxidantes, protegen las células vivas del daño oxidativo del ADN asociado con el envejecimiento, el cáncer y las enfermedades degenerativas (Singh y col 2009).

8 Propiedades nutraceuticas de las semillas de *Moringa oleifera*

Los alimentos nutraceuticos son aquellos alimentos que al ser consumidos con regularidad ejercen un efecto específico en la salud más allá de sus beneficios nutricionales (Espín y col 2007). El consumo de alimentos nutraceuticos se han asociado con la reducción en la incidencia de enfermedades crónico-degenerativas (diabetes, cáncer, enfermedades cardiovasculares, arteriosclerosis y obesidad). Lo anterior se atribuye a la presencia de fitoquímicos en este tipo de alimentos. Entre éstos se encuentran los compuestos fenólicos (ácidos fenólicos, flavonoides, antocianinas, proantocianidinas), fibra dietaria, carotenoides, vitaminas E y C. A estos fitoquímicos se les han atribuido propiedades nutraceuticas (reductores de contenido de colesterol y triacilglicéridos, hipoglucemiantes, inmunoestimulantes, antimutágenos y anticarcinógenos) (Shi y col 2002; Liu 2004).

En diversas semillas existen algunos compuestos (fitatos, ácido fítico, taninos, lectinas, inhibidores de proteasas, oligosacáridos, saponinas, inhibidores de tripsina), varios de ellos son considerados como antinutricionales e indeseables para la salud humana (Sathe y col 1981; Gupta 1988; Trugo 2004). Sin embargo, la presencia de alguno de ellos, p. ej. saponinas, da como resultado beneficios como la permeabilidad de la membrana y el aumento de la captación de nutrientes a nivel intestinal en la nutrición humana (Stuardo y San Martin 2008).

La semilla de *M. oleifera* tiene el potencial de convertirse en el prometedor agente conservante natural con aplicaciones variadas en la industria alimentaria. La harina de Moringa desgrasada es rica en fenólicos ligados, por lo cual la hace una

potencial fuente de fenólicos en el intestino, ya que estos fenólicos pueden ser liberados durante la fermentación en el colon. La inclusión de esta harina en la dieta podría proporcionar una ventaja para la salud al actuar como una fuente de compuestos antioxidantes y antibacterianos (Govardhan 2013).

9 Productos derivados y potencial industrial de semillas de *Moringa oleifera*

a Tratamiento de aguas

Las semillas son de mucha utilidad, es considerado uno de los mejores floculantes naturales conocidos y se emplean ampliamente en la depuración y purificación de aguas fluviales y aguas turbias. Este floculante actúa capturando partículas suspendidas en el agua y provocando que estas se le adhieran a la masa, precipitándose al fondo. El ingrediente activo: es un polielectrolito que ha sido recientemente identificado y aislado por los laboratorios de BIOMASA en Nicaragua. (Folkard y Sutherland 1996)

La semilla de *M. oleifera* triturada, un coagulante natural, podría ser una alternativa viable para reemplazar parcial o completamente el alumbre y los demás productos químicos utilizados en el tratamiento de aguas (Folkard y Sutherland 1996).

b Aceite

Cornejo-Sánchez y col (2011), mencionan que la semilla de Moringa contiene un 35 % de su peso en aceite. El aceite de Moringa es de muy alta calidad, poco viscoso y dulce. Contiene un 73 % de ácido oleico, de calidad por tanto similar al aceite de oliva y tiene el potencial de ser altamente valorado en el mercado.

Para cocinar y para ensaladas es muy bueno y no se vuelve rancio. El aceite es claro, dulce e inodoro. También puede tener interesantes aplicaciones en: lubricación

de mecanismos, fabricación de jabón, para fijar perfumes y en otros productos cosméticos. Este aceite arde sin producir humo, es apto por tanto como combustible para lámparas (Olson y col 2016).

c Fertilizante

Pruebas de laboratorio en Leicester, Inglaterra, confirmaron que la masa que queda después del procesado de la semilla para la extracción de aceite, es altamente valorada como fertilizante natural, con un gran contenido en nitrógeno y coagulantes activos. Además se puede obtener sin costo alguno por ser derivado de esta extracción. La masa se puede secar y almacenar (Ramachandran y col 2006).

d Tratamiento de enfermedades

En África, Asia y el Pacífico, las flores, hojas y raíces se usan en una gran variedad de medicamentos tradicionales: curan diabetes, presión alta, tumores, usan las semillas para tumores abdominales. El aceite de sus semillas no se debe ingerir, pero sirve en usos externos contra enfermedades de la piel (Gómez-Mitjans 2016).

Las semillas pulverizadas se utilizan en ungüentos/pomadas para el tratamiento de infecciones dermatológicas (Folkard y Sutherland 1996). Se corroboró en experiencias clínicas con pacientes enfermos de asma que el extracto de semillas molido disminuyó las crisis asmáticas y simultáneamente mejoró la función respiratoria (Agrawal y Mehta 2008).

e Alimentación

El aceite de la semilla de *M. oleifera* puede utilizarse en la cocina. Los residuos de la extracción del aceite de las semillas tienen potencial para ser utilizados como suplemento alimenticio avícola y ganadero (Folkard y Sutherland 1996). Las semillas

tienen gusto a maní al freírlas y se consumen también crudas (Dastur 1964; Ramachandran y col 2006).

f Fabricación de biodiesel

Estudios realizados en Brasil, habiendo extraído el aceite de la semilla seca (39%) con hexano arrojó un índice de acidez de 7.95 mg KOH/g. Contiene un 78% de ácido oleico, 7% de ácido palmítico, 4% de araquídico, 4% de behénico, 4% de esteárico, 2 % de palmitoleico y 1% de linoleico. Ese alto tenor de ácido oleico significa que ese aceite es adecuado para obtención de biodiesel, con un bajo tenor de insaturación. Ello indica su buena calidad por su estabilidad a la oxidación, facilitando el transporte y almacenamiento (Liñán 2010).

10 Tecnologías aplicadas para la transformación de la *Moringa oleifera*

a Generalidades

La semilla de *Moringa oleifera* se puede potencializar a nivel industrial incrementando su calidad nutricional y nutracéutica. En la actualidad, existen diversos procesos que se han utilizado para el procesamiento de la semilla de Moringa y se ha estudiado poco el efecto del procesamiento sobre el valor nutricional y nutracéutico. Entre los estudios se encuentran: tostado, germinación, fermentación en estado sólido y extrusión.

b Tostado

El tostado es un proceso el cual es capaz de alterar la textura, color, sabor y aspecto de los granos; en el producto resultante se desarrollan características únicas de carácter crujiente y de sabor en comparación con los granos crudos (Nicoli y col 1999; Chandrasekara y Shahidi 2010).

El procesamiento de tostado de diferentes semillas comestibles modifica el perfil fenólico y, en algunos casos, mejora su capacidad antioxidante (Dewanto y col 2002; Jeong y col 2004; Chandrasekara y Shahidi 2010; Kim y col 2011).

Las semillas tostadas de *Moringa oleifera*, contienen mutágenos potenciales como 4-(α -Iramnopiranosiloxi)-bencilglucosinolato (Bennett y col 2003), que aumentan la proporción de eritroblastos policromatófilos micronucleados en ratones blancos, indicativo de cierto grado de genotoxicidad (Asare y col 2011).

c Germinación

La germinación es uno de los procesos más antiguos utilizados para la elaboración de alimentos; tiene efectos importantes sobre la composición química, valor nutricional y características de aceptabilidad de las semillas germinadas tanto de cereales como leguminosas. El proceso de germinación consiste en la reanudación de la actividad metabólica y el crecimiento activo de los tejidos del embrión, lo que resulta en la ruptura de la cubierta de la semilla y la emergencia de una plántula. Las ventajas que ofrece es generación de productos en cualquier época del año, inversión económica baja, rendimiento alto, obtención de productos de valor biológico y digestibilidad elevadas (Colmenares y Bressani 1990; King 1991; Legaria-Solano y col 2000; Barrón-Yáñez y col 2009).

Los cambios sobre la composición química y valor nutricional que ocurren durante este proceso dependen, principalmente, del tipo de semilla y condiciones de germinación utilizadas. Entre las variables que tienen un mayor efecto sobre el proceso de germinación se encuentran: (1) Tiempo de cosecha del grano, (2) Tipo y proporción de agentes desinfectantes, (3) Tiempo de remojo, (4) Temperatura de germinación, (5)

Tiempo de germinación, (6) Tipo e intensidad de la luz empleada, (7) Elicitores (Mora-Escobedo y col 1994; Gajewski y col 2008; Barrón-Yáñez y col 2009; Mendoza-Sánchez y col 2016). La germinación es un proceso excelente que se puede utilizar para obtener alimentos funcionales con valor nutricional y actividad antioxidante altos (Dueñas y col 2009).

La germinación de la semilla de *Moringa oleifera* es rápida, si se emplean semillas nuevas, pero el porcentaje disminuye a medida que transcurre el tiempo de obtención de las mismas. Las semillas germinan a los 10 días de sembradas (Padilla y col 2012).

d Fermentación en estado sólido (FES)

La FES se define como un proceso biotecnológico que consiste en el crecimiento de microorganismos sobre sustratos sólidos (ej. granos) en ausencia, o casi ausencia, de agua libre superficial. El sustrato debe poseer la suficiente humedad para permitir el crecimiento y la actividad metabólica del microorganismo(s). La matriz sólida podría ser la fuente de carbono (y otros nutrientes), o podría ser un material inerte para apoyar el crecimiento de los microorganismos en él (impregnado con solución para su crecimiento). El contenido de agua varía entre 40-80%, en comparación a contenidos de más del 95% de agua en una fermentación típica en estado líquido (Mussatto y col 2012; Thomas y col 2013; Rochín-Medina y col 2015).

La FES posee ciertas ventajas sobre las fermentaciones sumergidas, entre las que se puede mencionar: (1) Pocos requerimientos de agua y energía, (2) Altos rendimientos, (3) Generación de pocos desechos con menor riesgo de contaminación bacteriana, (4) Bajo costo, (5) Mejora el valor nutricional y sensorial, además de ser una tecnología amigable con el medio ambiente. La principal desventaja es la

naturaleza heterogénea del medio debido a la estructura irregular del sustrato, dificultando el mezclado, lo que conlleva a problemas en el control de algunos parámetros como pH y temperatura (Paredes-López y Harry 1989; Chen y Qiu 2010; Sánchez-Magaña y col 2014).

A pesar de sus notables ventajas, el escalamiento de la FES a nivel industrial se ha generado lentamente, debido a dificultades del proceso (transferencia de calor, masa y especialmente, la transferencia de oxígeno) y al diseño de los biorreactores. Aunque se han empleado diferentes procedimientos (agitación o rotación) para resolver el problema de transferencia, las rupturas generadas por estos métodos afectan la porosidad del medio y el micelio fúngico dentro de los biorreactores. El tipo de biorreactor utilizado es de vital importancia para obtener rendimientos altos en un proceso fermentativo (Robledo y col 2012).

Omobolanle y col (2015) estudiaron los efectos del tiempo de fermentación sobre las propiedades funcionales de la harina de semillas de *Moringa oleifera* desgrasada obteniendo como resultado un aumento significativo en la capacidad de absorción de agua, capacidad de absorción de aceite, capacidad de formación de espuma y capacidad emulsionante con el aumento en el tiempo de fermentación pero una disminución significativa en la densidad aparente y dispersabilidad.

e Extrusión

La tecnología extrusión es un proceso continuo que combina el corte mecánico y calor para obtener productos plastificados y reestructurados con nuevas formas y texturas. El fundamento del proceso es combinar las operaciones unitarias de

transferencia de calor, amasado y presión en una sola, lo que produce cambios significativos en la textura de cereales y oleaginosas (Zhao y col 2011).

Los materiales sometidos al proceso de extrusión, en general, sufren transformaciones químicas, estructurales y nutricionales como: (1) Gelatinización parcial del almidón, (2) Desnaturalización parcial de proteína, (3) Oxidación de lípidos, (4) Degradación de vitaminas y fitoquímicos, (5) Aumento en biodisponibilidad de minerales, (6) Incremento en contenido de fibra dietaria soluble, (7) Formación de sabores. A partir de este tipo de procesamiento se obtienen productos de valor nutricional alto, con propiedades fisicoquímicas específicas. La extrusión se ha utilizado para la fabricación de varios tipos de alimentos, como botanas, cereales para desayuno, pastas, productos de confitería, harinas precocidas, bebidas y proteínas vegetales texturizadas (Serna-Saldívar y col 1988; Milán-Carrillo y col 2000; Zhao y col 2011; Reyes-Moreno y col 2012).

B EXTRUSIÓN

1 Aspectos generales

La tecnología de extrusión ha creado un enorme impacto en las industrias alimentarias para dar forma y derivar productos listos para comer (Fellows 2009). La extrusión es una de las tecnologías de procesamiento de alimentos más importantes que ha sido utilizado desde los mediados de los años 1930's para la producción de cereales para el desayuno, bocadillos listos para comer, harinas precocidas y otros alimentos con textura. Con los años, la extrusión se ha convertido en el método de mayor procesamiento de alimentos y las industrias de alimentación, y está evolucionando rápidamente de un arte a una ciencia (Riaz y col 2009).

En la última década la extrusión ha sido estudiada ampliamente para producir una gran variedad de alimentos incluyendo productos de pasta y listos para comer, cereales para el desayuno, alimentos infantiles, botanas, proteínas vegetales texturizadas, sopas secas y mezclas de bebidas. La extrusión mejora la digestibilidad y biodisponibilidad de los nutrimentos comparado con la cocción convencional. El uso de harinas de granos extrudidos para la elaboración de algunos productos alimenticios tiene varias ventajas. El proceso de extrusión es acompañado por la gelatinización parcial de los gránulos de almidón, resultando en la pérdida del orden molecular y la degradación de polímeros con la formación de fragmentos altamente solubles. El uso de la extrusión en el procesamiento de alimentos ha aumentado su popularidad debido a su versatilidad, rentabilidad, respeto al medio ambiente y generación de productos extrudidos con una mejor digestibilidad y valor biológico de las proteínas que la materia prima (granos, mezclas de granos, etc) sin procesar (Guy 2001; Singh y col 2010; Garzón-Tiznado y col 2013).

Un extrusor de alimentos es considerado un biorreactor a temperaturas altas y tiempos cortos, que transforma una variedad de ingredientes crudos en intermediarios modificados y productos terminados. Este desarrollo se ha dado en función de los requerimientos en el procesamiento de alimentos: (1) Procesamiento continuo, (2) Eficiencia de energía, (3) Procesamiento de materiales viscosos relativamente secos, (4) Textura y sabor al alimento, (5) Control de cambios térmicos de constituyentes alimenticios y (6) Uso de ingredientes no convencionales.

Al aplicar la extrusión se obtiene una amplia variedad de productos, por modificación en los ingredientes y las condiciones de operación del extrusor. El proceso es extremadamente flexible y tiene la capacidad de satisfacer la demanda de

los consumidores por nuevos productos. Dentro de los factores que contribuyen a la versatilidad se encuentran: (1) Diseños específicos del extrusor, (2) Variables de operación, (3) Variedad de materias primas a procesar y (4) Las diferentes características que pueden obtenerse en los productos terminados. La extrusión tiene costos de procesamiento muy bajos y una productividad más alta que cualquier otro proceso de cocimiento y moldeado; sus requerimientos de espacio por unidad de producción son más pequeños (Harper 1988).

Las condiciones del proceso de extrusión representan un papel muy importante en la calidad de los extrudidos. El control del proceso de extrusión del producto depende de los parámetros de los procesos primario y secundario. Los parámetros del proceso primario incluyen: (1) Velocidad de alimentación, (2) Velocidad del tornillo, (3) Temperatura del cilindro, (4) Contenido de agua, (5) Formulación de alimentación, y (6) Configuración de tornillo y matriz. Los parámetros del proceso secundario incluyen: (1) Temperatura de la matriz, (2) Presión y (3) Esfuerzo de torsión (Chessari y Sellahewa 2001).

El tratamiento de pre-acondicionamiento de las materias primas con ayuda de agua caliente o vapor durante aproximadamente 4-5 min ayuda a la gelatinización parcial del almidón y la desnaturalización parcial de proteínas de las materias primas durante el proceso de extrusión (Bailey y col 1995).

2 Clasificación general de los extrusores

La extrusión-cocción es un proceso que involucra varias operaciones unitarias que incluyen el mezclado, cocimiento, corte y moldeado. Un extrusor consta básicamente de una tolva alimentadora, que permite proporcionar un flujo uniforme y constante a la entrada del equipo. El tornillo o rotor es la parte central del extrusor que

ejecuta las operaciones de mezclado, amasado, corte, cocimiento y transporte del material que se lleva a cabo dentro del cañón o cilindro y por último la boquilla que le da forma al producto final (**Figura 4**). Los extrusores de alimentos se pueden visualizar como equipos que pueden transformar una diversidad de ingredientes crudos en productos intermedios y finalizados. Todos los extrusores consisten de uno o dos tornillos que transportan los ingredientes premezclados a través del cilindro. De forma sencilla, los extrusores pueden ser clasificados como: húmedos o secos, y a su vez de acuerdo al tipo de construcción: extrusores de tornillo simple y de doble hélice (tornillos gemelos) (Montoya-Rodríguez y col 2014).

Las diferencias generales entre los extrusores consisten en si es de tornillo sencillo o doble. El extrusor de tornillo simple se clasifica en:

- 1) extrusor de formado de bajo corte
- 2) cocimiento de bajo corte
- 3) cocimiento de corte medio
- 4) extrusor de tornillo sencillo y cocimiento de alto corte

El tamaño y la forma de los extrudidos y la eficacia del funcionamiento del extrusor son interdependientes de los parámetros operacionales como la temperatura, la

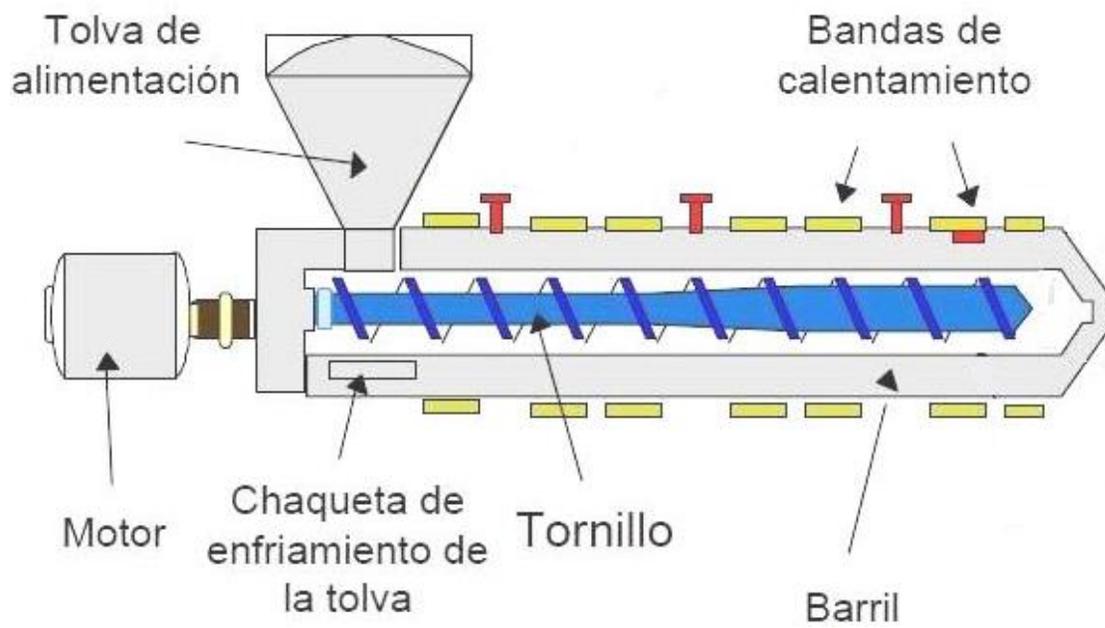


Figura 4. Componentes principales de un extrusor (Montoya-Rodríguez y col 2014)

presión y velocidad de tornillo. El tiempo de residencia en la extrusión juega un papel importante en el rendimiento del producto, puede ser controlado por la velocidad de tornillo (Sundarrajan 2014).

a Extrusores de tornillo simple

Son los más comunes en la industria de los alimentos, funcionan con un tornillo. Estos equipos se utilizan para la cocción de varios almidones y harinas de cereales. Los ingredientes se alimentan a través de una tolva hacia el tornillo cuya fuente de poder es un motor eléctrico. El tornillo gira en un canal, en la mayoría de los casos es una superficie cilíndrica, que ofrece dicha superficie para producir los esfuerzos cortantes en el material y sirve además como una superficie de transferencia de calor, ya sea para calentar o enfriar. Al generar calor por la fricción producida entre el material y las superficies metálicas del tornillo y del barril o cilindro, es posible cocer la materia prima y finalmente obtener un producto precocido o totalmente cocido (Harper 1988).

b Extrusores de doble tornillo

Son aquellos con dos tornillos de igual longitud situados en el interior del mismo cilindro. Los extrusores de doble tornillo son más complicados que los extrusores de tornillo simple. Pero al mismo tiempo proporcionan mucho más flexibilidad y un mejor control (Riaz 2002).

3 Variables en el proceso de extrusión

Los dos factores que tienen más influencia sobre la naturaleza de los productos extrudidos son las condiciones de operación del extrusor y las propiedades reológicas de los ingredientes. Mientras que los parámetros de operación más importantes son la temperatura, presión, diámetro de abertura de la boquilla y esfuerzo de corte. El

esfuerzo de corte está influenciado por la geometría del tornillo, su velocidad y diseño interno del cilindro (Harper 1988).

4 Beneficio del proceso de extrusión

La extrusión ofrece esperanza para la mejora nutritiva en las naciones menos desarrolladas. La extrusión puede producir alimentos estables por sí mismos, libres de contaminación microbiológica y que se pueden almacenar en épocas de carencias y desastres naturales (Camire 2002).

a Digestibilidad de la proteína

La extrusión mejora la digestibilidad de la proteína vía desnaturalización, que expone los puntos activos a las enzimas digestivas. La mayoría de las proteínas tales como las enzimas y los inhibidores de enzimas pierden la actividad debido a la desnaturalización (Camire 2002).

El valor nutricional en proteína vegetal por lo general se incrementa por una extrusión en condiciones de cocción suaves, debido a un aumento de la digestibilidad, cuya causa posible podría ser la desnaturalización de proteínas, la cual expone los puntos activos a las enzimas digestivas e inactiva los factores antinutricionales que afectan la digestión; sobre todo inhibidores de tripsina, hemaglutininas, taninos y fitatos, los cuales reducen la digestibilidad de la proteína, lo anterior representa una ventaja de la cocción por extrusión (Hamaker y col 1994).

Las altas temperaturas en el cilindro y las humedades bajas promueven las reacciones de Maillard en el desarrollo de la extrusión. Los azúcares reductores, incluyendo los que se forman durante el cizallamiento del almidón y la sacarosa,

pueden reaccionar con lisina, bajando de este modo el valor nutritivo proteico (Camire 2002).

La extrusión de productos con elevado contenido proteico se realiza generalmente para controlar los factores antinutricionales (FAN) que están contenidos en las materias primas. Durante el proceso de extrusión, estos inhibidores son inactivados para evitar bloquear la actividad enzimática en el intestino (Valls 1993). Además de la inactivación de los FAN por los tratamientos térmicos, las propiedades físicoquímicas de las proteínas pueden sufrir cambios significativos debido a la desnaturalización producida por el calor, la cual es irreversible. Conforme la temperatura de las proteínas y la concentración de agua se incrementan en el proceso de extrusión, las moléculas se alinean a lo largo de la matriz y se produce el desdoblamiento de las cadenas proteicas vegetales con la consecuente pérdida de su forma globular nativa tridimensional. En ausencia de cantidades importantes de almidón, la cocción por extrusión reduce la solubilidad de la proteína cuando la temperatura aumenta. Se sabe que a medida que la temperatura se va elevando, la proteína se va dañando. La cantidad de proteína dañada se puede medir y cuantificar mediante la determinación de nitrógeno soluble. Muchas proteínas son desnaturalizadas y rotas por la extrusión y pierden por tanto algunas de sus propiedades funcionales. En productos con elevado contenido en almidón, la proteína queda dentro de la matriz formada por el almidón, con lo que queda enredada y encapsulada. Sin embargo las enzimas digestivas del tracto intestinal (amilasas) disuelven la matriz de almidón, liberando la proteína (Valls 1993).

b Efecto sobre carbohidratos

El almidón es el carbohidrato predominante en los productos vegetales. El almidón se encuentra en forma de gránulos pequeños de diferentes formas (esféricos, ovalados, lentillas, irregulares) en función de su origen (Valls 1993). En el proceso de extrusión, el gránulo de almidón absorbe agua y en el instante de salida de la matriz del extrusor, el agua sometida a presión pasa a la forma de vapor y el almidón sufre un proceso de alineamiento, rizado y rotura (Valls 1993). La cocción por extrusión es un tanto única debido a que la gelatinización tiene lugar a niveles de humedad mucho más bajos (12-22 %), que son necesarios en otras operaciones alimentarias (Camire 2002). La presencia de otros compuestos alimentarios, particularmente lípidos, sacarosa, fibra dietética y sales, también afectan la gelatinización (Jin 1994). La gelatinización completa no tiene lugar, pero aun así se mejora la digestibilidad (Wang y col 1993). En extrusión sobre fibras, varias observaciones indican que las paredes de las celulosas del producto extrudido se adelgaza y la superficie es más rugosa que la inicial de partida (Valls 1993).

c Efecto sobre lípidos

Generalmente, los alimentos que contienen menos del 10 % de lípidos son más fácilmente extrudidos debido a que cantidades más grandes de lípidos reducen el deslizamiento dentro del cilindro, haciendo más difícil la extrusión, particularmente en productos expandidos (Camire 2002). La extrusión se puede utilizar para ayudar a la extracción de aceite puesto que el aceite es liberado durante las operaciones de cocción y cizallamiento (Nelson y col 1987).

Los aceites que contienen las semillas al ser el producto extrudido sufren un proceso de emulsión debido a la fuerte presión a que son sometidas las finas gotas de grasa que son recubiertas por los almidones y proteínas, quedando la grasa encapsulada. La grasa al ser emulsionada es más susceptible a la acción de los jugos digestivos, aumentando por tanto el valor energético del producto. Generalmente las lipasas y peroxidasas son inactivadas durante el proceso de extrusión en condiciones normales, mejorando la estabilidad posterior del producto (Valls 1993).

Otra cuestión nutritiva es la seguridad de la baja formación de ácidos grasos trans; Camiré (2002) encontró en extrusión de mezclas de maíz y soya formación de solamente el 1.5 % de ácidos grasos trans.

d Efecto sobre las vitaminas

Cada vitamina tiene sus propias características de estabilidad durante los procesos térmicos. Los efectos en la estabilidad en las vitaminas durante la extrusión son complicados debido a la acción de la humedad, fricción y altas temperaturas y presiones (Valls 1993).

Las vitaminas liposolubles A, D y E en general, son estables durante la extrusión. El nivel de humedad del producto durante la extrusión tiene el mayor efecto sobre la retención de vitaminas. Como norma general, alto nivel de humedad en el proceso da más vitaminas retenidas (Valls 1993).

Las vitaminas hidrosolubles, como la vitamina C o del grupo B, pueden perder estabilidad durante la extrusión. La extrusión húmeda produce una pérdida de vitamina C y tiamina (desde el 5% hasta el 100%) (Killeit 1994).

5 Efecto de la extrusión sobre niveles y perfiles de fitoquímicos

Los compuestos bioactivos en alimentos y productos alimentarios desempeñan un papel vital en el humano proporcionando protección contra enfermedades crónico - degenerativas (Van Dokkum y col 2008). Aparte de los beneficios para la salud, los compuestos fenólicos naturales en alimentos y productos alimentarios también actúan como atrapadores de radicales libres, quelantes de catalizadores metálicos y retardadores de oxidación lipídica; esto, sin duda alguna, mejora la vida útil y la aceptación del consumidor por los productos extrudidos.

Los granos y semillas son una buena fuente de compuestos bioactivos, principalmente compuestos fenólicos (ácidos fenólicos, flavonoides, antocianinas, proantocianidinas). Un porcentaje significativo de estos compuestos se pierde durante el proceso de extrusión debido a su sensibilidad hacia variables del procesamiento, como las condiciones de temperatura alta (Riaz y col 2009; Dehghan-Shoar y col 2010).

Numerosas variables del proceso de extrusión pueden influir en la composición de los productos extrudidos. Estos incluyen las características de las materias primas, mezcla y acondicionamiento de materia prima, temperatura del barril, presión, velocidad del tornillo, contenido de humedad, velocidad de alimentación, entrada de energía, tipo de residencia, configuración de tornillo, etc., todas ellas influyen en las propiedades fisicoquímicas de las piezas extrudidas. Las variables de proceso de extrusión crítico tales como temperatura, velocidad del tornillo y el contenido de humedad pueden inducir modificaciones deseables, mejorando la palatabilidad y propiedades tecnológicas de productos extrudidos (Brennan y col 2011).

Estas condiciones tienen la capacidad de producir influencias tanto positivas o negativas en los compuestos bioactivos de los productos extrudidos. Varios estudios han demostrado que el proceso de extrusión reduce significativamente mensurables compuestos bioactivos en los productos alimenticios (Brennan y col 2011).

Corrales-Bañuelos y col (2016) aplicaron el proceso de extrusión-cocción en presencia de hidróxido de calcio para la obtención de harina de maíz, a partir de maíces amarillos criollos nativos de Sinaloa, México, para la elaboración de tortillas. Ellos reportaron que el proceso de extrusión-cocción disminuyó ($p < 0.05$) el contenido total de carotenoides al compararse con granos sin procesar. Las tortillas elaboradas con harina de maíz extrudido retuvieron el 68.8-79.5% del contenido total de carotenoides presente en granos de maíz sin procesar; además estas tortillas mantuvieron una concentración del 60% de la Luteína asociada al grano crudo. Estos investigadores consideran que los maíces amarillos pueden ser considerados para la elaboración de productos alimenticios extrudidos con potencial nutracéutico.

6 Efecto de la extrusión sobre actividad antioxidante y propiedades nutracéuticas

Milán-Carrillo y col (2012) estudiaron el efecto de la extrusión de grano integral de amaranto sobre la actividad antioxidante (**AAox**). La **AAox** se evaluó aplicando la metodología de capacidad de absorción de radicales oxígeno (ORAC, por sus siglas en inglés). Ellos reportaron un incremento en la **AAox** hidrofílica total [de 4,403 a 5,046 μmol equivalentes de Trolox (ET) / 100 g muestra, bs]. Sin embargo, al analizar la contribución de fitoquímicos libres y ligados a la **AAox** y el efecto de la aplicación del proceso de extrusión comunicaron que la **AAox** atribuida a compuestos fenólicos libres decreció ($p < 0.05$) [de 1,947 a 1,467 μmol equivalentes de Trolox (ET) / 100 g

muestra, bs], mientras que la relacionada con compuestos fenólicos ligados se incrementó ($p < 0.05$) [de 2,456 a 3,579 μmol equivalentes de Trolox (ET) / 100 g muestra, bs]. Este comportamiento se atribuyó a (1) Rompimiento de fitoquímicos conjugados y liberación de los mismos como fitoquímicos libres, (Dewanto y col 2002), (2) Prevención de oxidación enzimática y (3) Oscurecimiento de las harinas de amaranto extrudido indicando la formación de productos de la reacción de Maillard que poseen actividad antioxidante (Fares y Menga 2012). Estos resultados muestran que los compuestos fenólicos ligados son los principales contribuyentes (56-71%) a la **AAox** hidrofílica, tanto en harinas de amaranto crudo como extrudido. Los compuestos bioactivos existen en formas libre, soluble-conjugada y ligada; los fitoquímicos ligados, mayormente presente en la pared celular de los materiales, son difíciles de digerir en la parte alta del intestino y podrían ser digeridos por las bacterias del colon proporcionando beneficios a la salud y reduciendo el riesgo de cáncer de colon (Adom y Liu 2002; Liu 2007).

Corrales-Bañuelos y col (2016) reportaron que el proceso de extrusión-cocción disminuyó ($p < 0.05$) la actividad antioxidante lipofílica (ORAC-L) de maíces criollos amarillos al compararse con granos crudos. Las tortillas elaboradas con harina de maíces extrudidos retuvieron el 60.3-75.5% de la actividad antioxidante lipofílica presente en grano entero. Estos investigadores sugieren que los maíces amarillo criollos originarios de Sinaloa, México pueden ser considerados para la elaboración de productos alimenticios extrudidos con potencial nutracéutico.

7 Efecto de la extrusión sobre los antinutrientes

Los factores antinutricionales pueden clasificarse como termoestables y termolábiles; los factores termoestables incluyen: factores antigénicos, oligosacáridos

y aminoácidos no proteicos tóxicos, saponinas, estrógenos, cianógenos, fitatos; siendo los más importantes los factores antigénicos, los oligosacáridos, las saponinas y los fitatos. Así mismo, entre los factores termolábiles se encuentran, los inhibidores de proteasas (tripsina y quimotripsina), lectinas, goitrogénicos y antivitaminas; siendo los más importantes los inhibidores de proteasas y las lectinas (Elizalde y col 2009). La mayor parte de estos inhibidores son termolábiles, por lo que su capacidad inhibitoria se reduce significativamente con los procesos térmicos culinarios. Se disminuye y elimina la actividad de algunos factores antifisiológicos, mientras que por otro lado, aumenta la disponibilidad de aminoácidos azufrados presentes en altas concentraciones (Serrano y Goñi 2004). Las lectinas son más sensibles al calor que los inhibidores de la tripsina, siendo la inactivación mucho más efectiva a la extrusión, al autoclave y al calor húmedo que al calor seco (Van der Poel 1990). Abd El-Hady y Habiba (2003) indican que, el remojo y la extrusión disminuye significativamente el contenido de antinutrientes, como el ácido fítico, taninos, los fenoles, inhibidores de la α -amilasa y de la tripsina. Por lo tanto, la extrusión de las leguminosas, a priori, remojadas en agua durante 16 horas se recomienda para mejorar el valor nutritivo de estas.

Camiré (2005) también ha resumido el efecto de la extrusión sobre factores antinutricionales contra diversos parámetros de extrusión. La eliminación de los inhibidores de la proteasa se puede lograr con éxito mediante el proceso de extrusión a temperaturas más altas mientras que la inhibición completa del gossypol se puede lograr aumentando el contenido de agua de la alimentación durante el proceso de extrusión.

Kaur y col (2013) realizaron extrusión de trigo, arroz y cebada a 140°C y contenido de agua (20%) dando como resultado una reducción de más del 50% en el contenido de fitatos, inhibidores de tripsina y oxalatos en los bocadillos de cereal extruido.

C ALIMENTOS FUNCIONALES PREPARADOS POR EXTRUSIÓN

Los alimentos funcionales son aquellos productos, alimentos modificados o ingredientes alimentarios que puedan proveer beneficios a la salud superiores a los ofrecidos por los alimentos tradicionales. El efecto positivo de un alimento funcional puede ser tanto en el mantenimiento del estado de salud como la reducción del riesgo de padecer una enfermedad. El desarrollo de alimentos funcionales constituye una oportunidad real de contribuir a mejorar la calidad de la dieta y la selección de alimentos que puedan afectar positivamente la salud y bienestar del individuo (Cagigas y col 2002).

El término de alimentos funcionales fue introducido primero por Japón a mediados de 1980 y se refiere a alimentos procesados que contienen ingredientes que ayudan en algunas funciones específicas del cuerpo humano (Arvanitoyannis y Van 2005).

Se ha fundamentado que los alimentos funcionales contienen componentes de actividad fisiológica, mejorando la salud y la longevidad, ya sea que provengan tanto de las plantas como de los animales (Arvanitoyannis y Van 2005).

Aguayo-Rojas y col (2012) estudiaron los perfiles fitoquímicos (fenoles totales y antocianinas) y actividades antioxidantes (AAOX) de cuatro tipos de maíz (blanco, amarillo, rojo y azul) procesados con cal mediante extrusión termoplástica en harinas integrales que luego fueron procesadas en tortillas. La extrusión generó harinas con

un contenido mayor ($P < 0.05$) de fenólicos y antioxidantes, comparado con las materias primas sin procesar. De 76.1 a 84.4 % de los fenólicos asociados a los granos y sus tortillas fueron de naturaleza ligada. Las tortillas preparadas con las harinas extrudidas retuvieron de 68.8 a 80.9 % de los fenólicos determinados en los granos enteros. Los mismos autores concluyeron que los resultados de su investigación indican claramente que la tecnología de extrusión permite retener importantes compuestos nutraceuticos que se pierden en el proceso tradicional de producción de tortillas.

Contreras-Jiménez y col (2014) estudiaron las propiedades funcionales de harinas de maíz nixtamalizado obtenidas por extrusión a baja temperatura y concluyeron que las variables más significativas en el proceso de extrusión son la temperatura de extrusión y el tamaño de partícula y si son controladas se pueden obtener características funcionales similares a las de una harina obtenida por nixtamalización tradicional.

Cerón y col (2016) estudiaron el efecto de la extrusión sobre las características físicoquímicas de harina de quinoa (*chenopodium quinoa*), su objetivo fue observar los cambios físicoquímicos en dos variedades de harina de quinoa (Tunkahuan y Blanca dulce Jericó) durante el proceso de extrusión y determinar las condiciones (humedad de las harinas, temperatura y velocidad del tornillo) que permitieran obtener un extruido con propiedades funcionales similares a una harina precocida. La extrusión de las dos harinas a temperatura promedio de extrusión de 105°C, velocidad de tornillo de 150 rpm y humedad de 25 a 30% mejoró las propiedades funcionales (El IAA incrementó de 1.81 g gel/g bs, a 4.22 g gel/g bs, en harina extruida de quinoa Tunkahuan y de 2.00 g gel/g bs, a 4.27 g gel/g bs, en harina variedad Blanca dulce de Jericó) pero las

propiedades nutricionales disminuyeron al igual que la digestibilidad excepto por un incremento del contenido de carbohidratos.

Guerrero y Quintero (2015) estudiaron un tratamiento térmico por extrusión para inactivar la actividad de las lipasas que causa la rancidez hidrolítica deteriorando el aceite en el salvado de arroz. La presencia de ácidos grasos libres (AGL) en el salvado se determinó en función de diferentes tratamientos por extrusión tales como el contenido de humedad del salvado de arroz, la velocidad de los tornillos y la temperatura en el barril del extrusor. Mencionan que el tratamiento térmico por extrusión fue eficaz para inactivar la actividad de la lipasa en el salvado de arroz, la inactivación dependió del contenido de agua en el salvado, siendo mejor a altos niveles humedad, por lo tanto en el mecanismo de la desnaturalización de una proteína, como la lipasa, la presencia de agua juega un importante papel.

IV JUSTIFICACIÓN

Las semillas de *Moringa oleifera* poseen nutrimentos valiosos para la dieta humana, principalmente aceite (42%) con alto contenido de ácidos grasos insaturados [75.8-82.9%, ácido oleico el principal (71.2-79.5%)] y proteína (30-40%) con un buen balance de aminoácidos esenciales. También tienen muchos usos medicinales, y muchas de sus actividades biológicas se atribuyen a la presencia de compuestos fenólicos. Estos compuestos actúan principalmente como agentes antioxidantes. *Moringa oleifera* también tiene excelentes propiedades agronómicas (es un árbol que crece con suma rapidez, tolera el calor, es resistente a las sequías y puede cultivarse en regiones áridas y semiáridas).

La extrusión es un proceso adecuado para producir harinas precocidas a partir de semillas, con pocos requerimientos de agua y energía, sin producir efluentes contaminantes, mínima degradación de nutrimentos, alta reducción de factores antinutricionales y mejora de la digestibilidad proteínica. Asimismo, esta tecnología incrementa la biodisponibilidad y densidad nutritiva, seguridad alimentaria, estabilidad durante el almacenamiento y palatabilidad de los alimentos elaborados a partir de granos y/o semillas de cereales y leguminosas; además, se ha reportado que esta tecnología tiene potencial para incrementar el contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante de los sustratos, mejorando su funcionalidad asociada a la salud.

Atendiendo la problemática actual en Sinaloa de aprovechamiento del suelo y problemas de salud como la desnutrición y enfermedades crónico-degenerativas es necesario promover la utilización de cultivos alternativos como la Moringa, por sus excelentes propiedades agronómicas, nutricionales y nutraceuticas. Aunado a esto, es

importante decir que el desarrollo de Sinaloa, y del país, requiere de la ejecución de investigaciones que demuestren las bondades de la aplicación de nuevas tecnologías [p ej. extrusión] para generar nuevos productos alimenticios, con valor nutricional / nutracéutico alto, a partir de semillas promisorias, como las semillas de *Moringa oleifera*.

No existen reportes en la literatura sobre la optimización del proceso de extrusión de semillas de *Moringa oleifera* para la obtención de alimentos funcionales con valor nutricional / nutracéutico alto.

Los resultados derivados del presente proyecto podrían contribuir al impulso de la agroindustria en Sinaloa, para que los productores estén en condiciones de ofertar productos alimenticios con valor agregado a la salud (a nivel nacional e internacional), y por otro lado, aportar una estrategia alimentaria que ayude en la reducción de la incidencia de algunas enfermedades crónico-degenerativas (enfermedades cardiovasculares, diabetes, hipertensión y cáncer) que aquejan a nuestra región y el país.

V HIPÓTESIS

La harina funcional de semillas de *M. oleifera*, desgrasada, obtenida con condiciones optimizadas de extrusión (temperatura de extrusión y velocidad de tornillo óptimas), presenta mejores propiedades nutricionales y antioxidantes, y mayor contenido de compuestos fenólicos que la harina de semillas de *M. oleifera* cruda.

VI OBJETIVOS

A OBJETIVO GENERAL

Optimizar las variables del proceso de extrusión (Temperatura de extrusión / Velocidad de tornillo) de semillas de *M. oleifera* desgrasada para obtener un alimento funcional (harina de semillas de Moringa extrudida optimizada) con propiedades nutricionales, antioxidantes y contenido de compuestos fenólicos altos.

B OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Evaluar las propiedades físicas, químicas y fisicoquímicas de las semillas de *M. oleifera*.
2. Optimizar las variables del proceso de extrusión de semillas de *M. oleifera*, desgrasada, para obtener un alimento funcional [harina de semillas de Moringa extrudida optimizada (**HSMEO**)] con actividad antioxidante, contenido de compuestos fenólicos y digestibilidad proteínica *in vitro* altos.
3. Evaluar composición química y propiedades fisicoquímicas y nutricionales de **HSMEO**
4. Evaluar el contenido de compuestos antinutricionales (fitatos, taninos, saponinas, inhibidores de tripsina, lectinas y oxalatos) de **HSMEO**.
5. Cuantificar la actividad antioxidante (ABTS, DPPH) y compuestos fenólicos totales de **HSMEO**.

VII MATERIALES Y MÉTODOS

A MATERIALES

Como material de estudio se utilizaron semillas de *Moringa oleifera* sembrada bajo condiciones de riego en la ciudad de Culiacán, Sinaloa, proporcionadas por el MC Raymundo Pérez Ángel (Universidad Autónoma de Sinaloa).

B MÉTODOS

1 Características físicas de la semilla de *Moringa oleifera*

a Dimensiones

El tamaño de la semilla se determinó a través de la medición por triplicado de sus dimensiones características: largo, ancho y espesor, a partir de 100 semillas seleccionadas al azar. Para ello, se utilizó como instrumento de medición un calibrador vernier. Esta determinación se realizó de acuerdo al método propuesto por Milán-Carrillo y col (2000).

b Peso de 1,000 semillas

Para determinar el peso de 1,000 semillas, éstas se seleccionaron al azar de un lote de semillas limpias y pesadas en una balanza analítica OHAUS (Mod TP2KS, Seedburo Equipment, Co., EUA). La prueba se realizó por triplicado. Esta característica está dada en función del tamaño y la densidad de la semilla.

c Peso hectolítrico

Para la determinación del peso hectolítrico se utilizó el procedimiento 55-10 de la AACCC (1995) usando una micro escala. Un recipiente de volumen conocido (100 mL) se llenó de semillas y se pesó en una balanza analítica. El peso hectolítrico se

obtuvo al dividir el peso de las semillas entre el volumen del recipiente y relacionándolo a un volumen de 100 L (kg/hL). La prueba se realizó con diez repeticiones.

2 Propiedades fisicoquímicas de la semilla de Moringa

a Diferencia total de color (ΔE)

Se utilizó la metodología reportada por Reyes-Moreno y col (2002). El color de las muestras se determinó con un colorímetro Minolta Chroma-meter mod CR-210 (Minolta LTD, Japón). Sobre la base de la teoría en color, el color Hunter **L**, **a**, **b** es un espacio tridimensional rectangular, donde “**L**” (brillantez) indica tanto la luminosidad como la oscuridad del color y varía de 0 para negro a 100 para blanco. Las dimensiones de cromaticidad son dadas por los parámetros **a** y **b**. Siendo “**a**” el eje rojo-verde con valores positivos (rojos) y negativos (verdes), y “**b**” el eje amarillo-azul con valores positivos (amarillos) y negativos (azules).

Para la evaluación del color se utilizaron aproximadamente 100 g de muestra, los cuales se colocaron en una tapa de caja Petri de vidrio Kimax de 15 cm de diámetro y se midieron los parámetros **L**, **a** y **b**. Se utilizó un mosaico blanco como referencia (estándar) de valores **L**, **a** y **b** conocidos ($L=97.63$, $a=-0.78$ y $b= 2.85$). La diferencia total de color (ΔE) de las muestras se calculó con la ecuación:

$$\Delta E = [(\Delta E^2) + (\Delta a^2) + (\Delta b^2)]^{\frac{1}{2}}$$

Donde:

ΔE = Diferencia total de color entre el estándar y la muestra

ΔL , Δa y Δb = Diferencias absolutas de los valores de **L**, **a** y **b** del estándar y los valores de la muestra.

Las determinaciones se llevaron a cabo por triplicado.

b Actividad de agua (a_w)

Se utilizó un equipo marca Aqualab mod CX2 (Decagon Devices Inc, Pullman, WA, EUA). Se colocó una muestra de 2 g en la celda porta muestras del equipo hasta alcanzar el equilibrio (40-60 min). El instrumento fue calibrado con una disolución saturada de cloruro de potasio ($a_w=0.876$). Las mediciones se realizaron por triplicado a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ (Milán-Carrillo y col 2002).

c pH

Se determinó de acuerdo a la AOAC (1999). Diez gramos de muestra se agregaron a 100 mL de agua desionizada hervida y enfriada; la suspensión se agitó en un agitador orbital por 10 min a 240 rpm, después se midió el pH de la suspensión. Las mediciones se realizaron por triplicado.

d Dispersabilidad

Se cuantificó de acuerdo a Mora-Escobedo y col (1994). Un gramo de harina se suspendió con 10 mL de agua destilada en un tubo cónico graduado. Las muestras se homogenizaron en un Ultra Turrax (10, 000 rpm x 5 min) (Mod T18BS1, IKA®, Alemania). La separación de las fases se midió después de 30 min de reposo.

e Índice de absorción de agua (IAA)

Se utilizó el método descrito por Anderson y col (1970). Una muestra de harina de 2.5 g se suspendieron en 30 mL de agua a 30°C en un tubo para centrífuga de 50 mL previamente tarado. La suspensión se agitó, en agitador orbital, a una velocidad moderada por 30 min. La suspensión se centrifugó ($3,000 \times g / 30^\circ\text{C} / 10 \text{ min}$). El líquido sobrenadante se decantó cuidadosamente en un recipiente tarado para la determinación de sólidos. El gel formado se pesó para calcular el índice de absorción

de agua en base a ese peso, reportándose como gramos de gel por gramo de muestra seca, las pruebas se realizaron por triplicado.

f Índice de solubilidad en agua (ISA)

Se determinó de acuerdo al método reportado por Anderson y col (1970). Este parámetro se evaluó pesando los sólidos obtenidos después de evaporar en una estufa el sobrenadante de las muestras donde previamente se determinó el índice de absorción de agua. El ISA se expresó como el porcentaje de sólidos secos en 2.5 g de muestra, las pruebas se realizaron por triplicado.

g Índice de absorción de aceite

La absorción de aceite de las harinas se determinó aplicando la metodología reportada por Ordorica-Falomir (1988). Muestras de 0.5 g de harina más 3 mL de aceite vegetal se colocaron en un tubo graduado para centrifuga, se agitó durante 1 min en un vortex, se dejó reposar durante 30 min y finalmente se centrifugó a 1,600 x g por 25 min. Se midió el volumen de aceite libre. La cantidad de aceite absorbido se calculó restando el volumen de aceite libre al volumen de aceite inicial y se expresó como mL de aceite absorbido / g de harina, las pruebas se realizaron por triplicado.

3 Composición química

a Humedad

Se determinó de acuerdo al método 925.09B de la AOAC (1999). Se calculó la pérdida de peso de 2 g de muestra, después de calentar a 130°C durante 1 h en una estufa de circulación de aire (FELISA mod 142a, México). La prueba se realizó por triplicado.

b Proteínas

Se utilizó el método 960.52 microKjeldahl de la AOAC (1999). Para la cuantificación de nitrógeno se empleó un sistema Kjeltex (Mod 1009 y 1002, Tecator, Suecia). Este método se basa en la transformación del nitrógeno orgánico en ion amonio (NH_4^+) mediante una digestión de la muestra con ácido sulfúrico concentrado. El ion NH_4^+ se neutralizó y el NH_3 liberado se destiló y cuantificó mediante una titulación. El N cuantificado se convirtió a contenido de proteínas por medio de un factor de conversión (6.25).

Se digirieron 0.2 g de muestra con 5 mL de ácido sulfúrico y mezcla reactiva de selenio (Merck Co., Alemania) a una temperatura de 200°C. En la destilación de la muestra previamente diluida con 25 mL de agua, se emplearon disoluciones de NaOH al 40% y ácido bórico al 4% como indicador para recibir el destilado. La titulación se llevó a cabo con una disolución valorada de HCl 0.1 N. Posteriormente la proteína cruda se calculó por multiplicación del contenido de nitrógeno total por el factor 6.25. La prueba se realizó por triplicado.

c Lípidos

Se determinó de acuerdo al método 920.39C de la AOAC (1999). Las extracciones se realizaron en muestras de 3-4 g de harina pasada a través de malla 80 (0.180mm). Se utilizó un equipo Soxtec System HT 1043 Extraction Unit (Tecator, Suecia). Como disolvente se empleó éter de petróleo. La prueba se realizó por triplicado.

d Minerales

La determinación de cenizas se basó en el método 923.03 de AOAC (1999). Se pesó de 3-5 g de muestra, se colocó dicha muestra en un crisol de porcelana y luego se llevó a cabo la combustión de la materia orgánica en una mufla a 550°C hasta obtener una ceniza gris luminosa a peso constante. El contenido de cenizas se pesó, después de ser enfriadas en un desecador y alcanzar la temperatura ambiente. La prueba se realizó por triplicado.

e Fibra dietaria

Se determinó de acuerdo al método oficial 985.29 (AOAC 1999). Se empleó un kit de análisis de fibra dietaria total (TDF-100, Sigma). Un gramo de muestra seca se gelatinizó en presencia de α -amilasa termoestable, posteriormente se llevó a cabo una digestión enzimática con proteasa y amiloglucosidasa para degradar las proteínas y almidón presentes en la muestra. Se precipitó la fibra adicionando 3 volúmenes (20 mL) de etanol al 78%, 2 volúmenes (10 mL) de etanol al 96% y 2 volúmenes (10 mL) de acetona. El residuo total se filtró y lavó con etanol al 78%, etanol al 96% y acetona. Posteriormente el residuo se secó (105°C/12 h), se registró el peso, se determinó el contenido de proteína y cenizas del residuo. El contenido de fibra dietaria total (FDT) se calculó empleando la siguiente fórmula:

$$FDT = \left[\frac{\text{Peso del residuo} - P - A}{\text{Peso de la muestra}} \right] \times 100$$

Dónde: **P** y **A** son los pesos de proteína y cenizas de los residuos respectivamente.

f Carbohidratos

Se calculó por diferencia mediante la siguiente fórmula:

$\% \text{Carbohidratos} = 100 - \% \text{Proteína} - \% \text{Lípidos} - \% \text{Minerales} - \% \text{Fibra dietaria total}$

4 Proceso de extrusión para obtener harina de semillas de Moringa extrudida optimizada (HSMEO)

a Diseño experimental

Se aplicó, como técnica de optimización, la metodología de superficie de respuesta para determinar las condiciones óptimas para la producción de harina de Moringa extrudida optimizada. Para seleccionar el número y niveles de variación de las variables de proceso en el diseño experimental se tomaron en consideración ensayos preliminares y datos de la literatura. Se seleccionó un diseño experimental central compuesto rotatable de dos factores (Temperatura de extrusión y velocidad de tornillo) y cinco niveles (dos factoriales, dos axiales, un central), trece tratamientos. Las variables de proceso independientes consideradas para este estudio fueron Temperatura de extrusión ($X_1 = \text{TE} = 70\text{-}150^\circ\text{C}$) y Velocidad de tornillo ($X_2 = \text{VT} = 50\text{-}240$ rpm). Las variables dependientes seleccionadas fueron contenido de compuestos fenólicos totales ($Y_1 = \text{CFT}$), actividad antioxidante ($Y_2 = \text{AAox}$) y digestibilidad proteínica *in vitro* ($Y_3 = \text{DPIV}$). Se aplicó un análisis de regresión y se eliminaron términos no significativos ($p > 0.1$) para obtener modelos de predicción para cada una de las variables de respuesta analizadas. Se utilizó el programa Design Expert ver 7.0 (Design Expert 2007) para el análisis y evaluación.

b Obtención de harinas de semillas Moringa extrudida (HSME)

El proceso de extrusión que fue optimizado se basó en el proceso descrito por Milán-Carrillo y col (2006) con modificaciones. Previo al proceso de extrusión las semillas de Moringa fueron descascarilladas en una perladora Reinmac serie 001

hasta tener un total de 20 kg de semillas de Moringa descascarilladas para luego ser desgrasadas con ayuda de una prensa mecánica extractora de aceite marca Jooshun modelo OPM-500, hasta alcanzar un contenido de 6% de grasa total en las semillas. Lotes de 1 kg de Moringa desgrasada fueron introducidos en un molino Perten, obteniendo fragmentos (grits) de alrededor de 0.425 – 0.074 mm de diámetro. Los grits de semillas de Moringa desgrasada se ajustaron a contenidos de humedad de 17% con agua destilada, se empacaron en bolsas de polietileno y se almacenaron (4°C/12 h) para asegurar el equilibrio de la humedad. La extrusión se realizó en un extrusor de tornillo simple modelo 20 DN (CW Brabender Instruments Inc, NY, EUA) con diámetro de tornillo de 19 mm, relación de longitud a diámetro 20:1, razón de compresión nominal 1:1 y apertura de dado de 3 mm. Las condiciones de operación del extrusor se seleccionaron del diseño experimental empleado para optimizar el proceso (**Cuadro 5**). Los extrudidos se recolectaron en charolas de aluminio perforadas, se enfriaron y secaron a temperatura ambiente (25°C/8h) con ayuda de un abanico doméstico. Una vez enfriados los extrudidos provenientes de cada uno de los tratamientos se molturaron y envasaron, por separado, en bolsas de polietileno con cierre hermético y se almacenaron en refrigeración (4-6°C) hasta su utilización. Los extrudidos se evaluaron acorde a tres respuestas: contenido de compuestos fenólicos totales, actividad antioxidante y digestibilidad proteínica *in vitro* de todos los tratamientos.

Cuadro 5. Diseño experimental utilizado para obtener **HSMEO**

Orden estándar	Orden de corrida	Temperatura de extrusión (°C)	Velocidad de tornillo (rpm)
1	1	82	78
2	13	138	78
3	2	82	212
4	6	138	212
5	5	70	145
6	7	150	145
7	11	110	50
8	12	110	240
9	9	110	145
10	3	110	145
11	8	110	145
12	10	110	145
13	4	110	145

c Extracción de fitoquímicos libres

La extracción de fitoquímicos libres se realizó con el método descrito por Adom y Liu (2002). Se tomaron 0.5 g de cada muestra y se mezclaron con 10 mL de etanol al 80% (v/v). Posteriormente se centrifugó a 3,000 x g por 10 min, el sobrenadante se colectó y concentró a 35°C a baja presión (Speed Vac Concentrator, Thermo Electron Corporation) hasta un volumen final de 2 mL. La muestra concentrada se almacenó a -20°C hasta su utilización.

d Extracción de fitoquímicos ligados

Los fitoquímicos ligados se extrajeron por el método de Adom y Liu (2002), con modificaciones menores. Se utilizó el precipitado obtenido de la extracción de fitoquímicos libres, se realizó una hidrólisis alcalina con 10 mL de hidróxido de sodio 2M y se sometió a un baño María (95°C por 30 min), se agitó por un lapso de una hora a temperatura ambiente. La muestra se neutralizó con 2 mL de ácido clorhídrico, se agitó por 2 min y se agregaron 10 mL de hexano, se centrifugó a 3,000 x g por 10 min, se eliminó el sobrenadante. Al precipitado obtenido se le realizaron extracciones de compuestos fenólicos ligados con 10 mL de acetato de etilo, se agitó por 2 min y se centrifugó. A la muestra se le realizaron cuatro extracciones. El sobrenadante obtenido se colectó y evaporó hasta sequedad (Speed Vac Concentrator, Thermo Electron Corporation). Los fitoquímicos ligados se reconstituyeron con 2 mL de metanol al 50% y almacenaron a -20°C hasta su utilización.

e Evaluación de actividad antioxidante (ABTS y DPPH)

La determinación de la actividad antioxidante de las harinas de semillas de Moringa procesadas por extrusión se llevó a cabo por los métodos de ABTS y DPPH.

1) ABTS

Se determinó la capacidad de captación de radicales libres mediante el método de ABTS (ácido 2, 2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico), de acuerdo a la metodología reportada por Re y col (1999), con algunas modificaciones. El radical ABTS•+ se obtuvo al reaccionar ABTS (7 mM) con persulfato potásico (2,42 mM) e incubación a temperatura ambiente (25°C) en la oscuridad durante 16 h. Una vez formado el radical ABTS•+ se diluyó con agua desionizada para obtener un valor de absorbancia cercano a 0.70 ($\pm 0,02$) a 734 nm y 25°C. Se utilizaron 10 μ L de cada extracto (libres y ligados) se mezclaron con 990 μ L de la solución de radical ABTS, y se midió la absorbancia a 734 nm exactamente 1 min después de la mezcla inicial y hasta 6 min. La disminución de la coloración se expresó como el porcentaje de inhibición de ABTS, la cual se comparó con una curva estándar del antioxidante sintético de referencia, trolox (20-200 μ mol/L). Los resultados se expresaron como micromoles equivalentes de Trolox (ET) por 100g de muestra en base seca (μ mol ET/100 g, bs).

2) DPPH

Para cuantificar la capacidad captadora de radicales libres de los extractos (libres y ligados) se determinó el grado de decoloración que provocan sus componentes a una solución metanólica de DPPH mediante el método de Brand-Williams y col (1995), con algunas modificaciones. Se preparó una solución madre de DPPH aproximadamente 20 mg/L del radical en metanol, 990 mL de esta solución se mezclaron con 10 mL de solución de extracto (libres y ligados a diferentes concentraciones). Se preparó un blanco de muestra que contenía 990 mL MeOH con 10 mL de muestra y un blanco de referencia con 990 mL DPPH y 10 mL de solvente.

Se incubó a temperatura ambiente durante 30 min en la oscuridad y se midió la absorbancia a 515 nm. Los resultados se expresaron como micromoles equivalentes de Trolox por 100 g de muestra en base seca ($\mu\text{mol ET}/ 100 \text{ g, bs}$).

f Determinación del contenido de compuestos fenólicos totales

Para determinar la concentración de compuestos fenólicos totales (libres + ligados) se empleó el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu, descrito por Singleton y col (1999). En viales de 2 mL, se agregaron 20 μL de una solución estándar de ácido gálico para construir una curva de calibración y 20 μL de muestra (por cuadruplicado), se utilizó agua destilada y posteriormente se les agregó 100 μL de Folin-Ciocalteu, se anexaron 300 μL de NaCO_3 al 7% y se dejó reposar durante 8 min. Una vez transcurridos los 8 min, se agregaron 380 μL de agua destilada hasta a completar 2 mL. Obtenidos los 2 mL se dejó reposar 90 min en oscuridad. Transcurridos los 90 min se procedió a realizar la lectura en un espectrofotómetro (UV-vis Genesys 10 UV Thermo Electron Corporation, Madison, WI, EUA) a 765 nm. Los resultados se expresaron como mg equivalentes de ácido Gálico (GAE) / 100 g de muestra, bs. El contenido de los compuestos fenólicos totales se calculó al sumar los compuestos fenólicos presentes en los extractos de fitoquímicos libres y ligados.

g Digestibilidad proteínica *in vitro* (DPIV)

La digestibilidad proteínica *in vitro* de las harinas se determinó utilizando la combinación de los métodos reportados por Rathod y col (2016). Se cuantificó la cantidad de proteína presente en las muestras empleando la metodología de Bradford. Se prepararon 1.5 mL de una solución que simula el flujo gástrico (HCl 0.084 N, NaCl 35mM, 37.6 U de Pepsina, pH 1.2-2.0); ésta se incubó a 37°C en baño maría por 30

min. La hidrólisis se detuvo con 375µL de ácido tricloroacético (TCA) al 80%. Se dejó reposar toda la noche a 4°C y posteriormente se centrifugó (10,000 x g / 4°C / 5 min). Se retiró el sobrenadante y el precipitado se resuspendió en NaOH 0.1 M. Se cuantificó el contenido de proteína en el precipitado por el método Bradford. Como proteína de referencia se utilizó albúmina de suero bovino (BSA, por sus siglas en inglés). La **DPIV**, se expresó como %, se calculó con la siguiente ecuación:

$$\%DPIV = \left(\frac{PI - PP}{PI} \right) \times 100$$

Dónde: **DPIV**= Digestibilidad proteínica *in vitro*; **PI**= Proteína inicial; **PP**= Proteína en el precipitado.

h Optimización

Se aplicó el método convencional gráfico para encontrar la mejor combinación de las variables del proceso para obtener harinas con los máximos valores de contenido de compuestos fenólicos totales, actividad antioxidante y digestibilidad proteínica *in vitro*. Los cálculos se llevaron a cabo utilizando el programa Design Expert ver 7.0 (Design Expert 2007). Una vez obtenidas las condiciones óptimas de extrusión, se produjeron harinas aplicando dichas condiciones, y se evaluó su composición química, sus propiedades fisicoquímicas, nutricionales y antioxidantes.

5 Composición química y valor nutricional de harinas de semillas de Moringa cruda (HSMC), prensada (HSMP) y extrudida optimizada (HSMEO)

a Composición proximal

Se utilizaron los métodos oficiales de la AOAC (1999) 925.09B, 923.03, 960.52 y 920.39C para determinar humedad, cenizas, lípidos y proteínas, respectivamente.

Los carbohidratos se calcularon por diferencia. La fibra dietaria se determinó de acuerdo al método oficial 985.29 (1999), con ayuda de un kit de análisis de fibra dietaria total (TDF-100A, Sigma). Se realizaron cuatro réplicas de 1g de muestra cada una, previamente desgrasadas.

b Digestibilidad proteínica *in vitro* (DPIV)

La digestibilidad proteínica *in vitro* se determinó mediante el procedimiento descrito en la sección **IV g** de materiales y métodos: Digestibilidad proteínica *in vitro* (DPIV).

6 Propiedades fisicoquímicas de harinas de semillas de Moringa cruda (HSMC), prensada (HSMP) y extrudida optimizada (HSMEO)

A estas harinas se les determinaron propiedades fisicoquímicas como pH y actividad de agua (a_w) con un potenciómetro e higrómetro, respectivamente. También se les determinaron propiedades funcionales como índice de absorción de agua (IAA), índice de solubilidad en agua (ISA) (Anderson y col 1970), dispersabilidad (Mora-Escobedo y col 1994) y capacidad de absorción de aceite (Ordorica-Falomir 1988).

7 Contenido de compuestos fenólicos de harinas de semillas de Moringa cruda (HSMC), prensada (HSMP) y extrudida optimizada (HSMEO)

a Contenido de compuestos fenólicos totales

Se determinó de acuerdo a la metodología descrita en la sección **IV f** de materiales y métodos: Determinación del contenido de compuestos fenólicos totales (CFT).

8 Contenido de compuestos antinutricionales en las harinas de semilla de moringa cruda, prensada y extrudida optimizada (HSMC, HSMP y HSMEO).

a Fitatos

El contenido de fitatos (ácido fítico) fue determinado mediante el método colorimétrico descrito por Vaintraub y Lapteva (1988), con ligeras modificaciones. Se pesaron aproximadamente 0.5 g de muestra y se colocaron en tubos para centrifuga de 50 mL, se adicionaron 20 mL de HCl al 3.5%. Los tubos se agitaron durante 6 h a temperatura ambiente en un agitador orbital (marca Ovan Noria R. NR50E). Concluido el tiempo de agitación los extractos fueron recuperados por centrifugación (10000 rpm por 10 min, en centrifuga marca eppendorf modelo 5810R). Se preparó una solución estándar de fitato de sodio en agua destilada (0.01 g de fitato de sodio sigma P-8840 en 10 mL de agua destilada). A partir de esta solución se prepararon diluciones (0, 200, 400, 600, 800 $\mu\text{g/mL}$), de las cuales se tomaron alícuotas de 0.4 mL y se les añadió 2.6 mL de agua destilada y 1 mL de Reactivo de Wade (30 mg de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ + 300 mg de ácido sulfosalicílico + 100 mL de agua destilada) a cada una de las diluciones y se midió su absorbancia a 500 nm contra un blanco de agua destilada. Para la valoración de fitatos en los extractos fueron diluidos con HCl al 3.5% en una relación 1:1 (500 μL de extracto y 500 μL de HCl 3.5%). Se tomaron alícuotas de 0.2 mL a las que posteriormente se les agregó 2.8 mL de agua destilada para tener un volumen final 3 mL para la realización del análisis. Finalmente se agregó 1 mL de reactivo de Wade. Los valores de absorbancia obtenidos para cada muestra se interpolaron en la curva estándar de fitato de sodio. Los resultados fueron expresados como mg de ácido fítico por 100 g de muestra (base seca). Los cálculos se realizaron de la siguiente manera:

$$\frac{\text{mg eq.de ácido fítico}}{100\text{g de muestra}} = \mu\text{g de fitato de sodio} \times \frac{1}{\text{peso de la muestra (g)}} \times 10 \text{ ml} \times \frac{1\text{mg}}{1000\mu\text{g}} \times 1000$$

b Saponinas

El contenido de saponinas totales fue determinado usando el método espectrofotométrico descrito por Hiai y col (1976). Se pesaron aproximadamente 0.5g de muestra, se colocaron en tubos para centrifuga de 50 mL y se adicionaron 10 mL metanol acuoso al 80%. Los tubos se agitaron durante 16 h a temperatura ambiente en un agitador orbital. Concluido el tiempo de agitación los extractos fueron recuperados por centrifugación (5000 rpm, 10 min, en centrifuga marca eppendorf modelo 5810R); a los tubos con el remanente de la muestra se les adicionó 5 mL de metanol al 80%, se agitaron en vortex (marca Fisher Scientific) y se centrifugaron (5000 rpm, 10 min) para recolectar nuevamente el sobrenadante, el cual fue unido con el anterior (este procedimiento se realizó dos veces). Se preparó una solución estándar disolviendo 10 mg de diosgenina en 4 mL de agua destilada y posteriormente se añadió 16 mL de metanol absoluto, se agitó en vortex y se sonicó 5min o hasta homogeneizar para obtener una concentración final de 0.5 mg/mL. Partiendo de esta solución se realizaron diluciones con metanol al 80% para tener 0, 25, 50, 75, 100 y 125 μg en un volumen de 0.25 mL, respectivamente. A cada una de las diluciones se le agregaron 0.25 mL de reactivo de vainillina (vainillina 80mg/mL en metanol absoluto) y 2.5 mL de ácido sulfúrico al 72%. Las mezclas obtenidas se calentaron en un baño a 60°C por 10 min. Terminado este periodo de tiempo se enfriaron los tubos en un baño de hielo y finalmente se midió su absorbancia a 520 nm contra un blanco de reactivos (0.25 mL metanol al 80%, 0.25 mL reactivo de vainillina+ 2.5 mL ácido sulfúrico). Para la valoración de saponinas en los extractos se tomó 200 μL de los mismos y se les

adicionaron 50 μL de metanol al 80% a temperatura ambiente. Estas preparaciones fueron transferidas a un baño de hielo para la adición de 0.25 mL del reactivo de vainillina y 2.5 mL de ácido sulfúrico y posteriormente ser incubadas a 60°C durante 10 min. Pasado el tiempo se leyó su absorbancia y su valor fue interpolado en la curva estándar de diosgenina para obtener μg de diosgenina por cada mL, finalmente los resultados se expresaron como mg equivalentes de diosgenina en 100 g de muestra (base seca). Los cálculos se realizan de la siguiente manera:

$$\frac{\text{mg eq diosgenina}}{100\text{g muestra}} = \mu\text{g de diosgenina} \times \frac{1}{\text{peso de la muestra (g)}} \times 20 \text{ mL} \times \frac{1\text{mg}}{1000\mu\text{g}} \times 1000$$

c Taninos

Para la evaluación de taninos fue usado el método espectrofotométrico descrito por Xu y Chang (2007). Se pesaron aproximadamente 0.5 g de muestra, se colocaron en tubos para centrifuga de 50 mL y se adicionaran 5 mL de metanol al 80%. Los tubos se agitaron durante 3 h a temperatura ambiente en un agitador orbital. Concluido el tiempo de agitación los extractos fueron recuperados por centrifugación (3000 rpm, 10 min, en centrifuga marca eppendorf modelo 5810R). Se preparó una solución estándar disolviendo 0.025 g de catequina en 25 mL de metanol para obtener una concentración final de 1000ppm. Partiendo de esta solución se realizaron diluciones con metanol (25, 50, 100, 200, 400, 600, 800 y 1000 ppm). De cada una de las diluciones se tomó 20 μL y se le agregó 1200 μL de reactivo de MeOH-vainillina 4% (4g de vainillina en 100 mL de metanol) y 600 μL de ácido clorhídrico concentrado. Finalmente se medió su absorbancia a 520 nm contra un blanco de reactivos (20 μL metanol, 1200 mL reactivo de MeOH-vainillina 4% y 600 μL de ácido clorhídrico concentrado). Para la valoración de taninos en los extractos se tomarán 20 μL de los mismos y se les adicionarán

1200µL de reactivo de MeOH-vainillina 4% y 600 µL de ácido clorhídrico concentrado. Posteriormente se leyó su absorbancia y su valor fue interpolado en la curva estándar de catequina, finalmente los resultados se expresaron como:

$$\frac{mg \text{ eq. catequina}}{100g \text{ de muestra}} = \mu g \text{ de catequina} \times \frac{1}{\text{peso de la muestra (g)}} \times 10 \text{ ml} \times \frac{1mg}{100\mu g} \times 1000$$

d Inhibidores de tripsina

Para la evaluación de los inhibidores de tripsina se utilizó el método reportado por Welham & Domoney (2000), basado a su vez en el de Kakade y col (1974), con ligeras modificaciones. Estos métodos permiten determinar la capacidad de la muestra para inhibir la actividad que la tripsina control ejerce sobre el sustrato sintético α-N-benzoil-DL-arginina-p-nitroanilida (BAPNA). Para llevar a cabo la extracción de los inhibidores de tripsina, se pesaron 0.025 g de muestra, se colocaron en tubos eppendorf de 2 mL y posteriormente se les añadió 1 mL de HCl 0.05 M. Se mantuvieron en agitación durante 1h a 4°C. Pasado dicho tiempo los tubos se centrifugarán a 10,000 rpm durante 10 min a 4°C (centrifuga marca eppendorf modelo 5427R), enseguida se recolectó el sobrenadante y se mantuvo en un baño de hielo hasta el momento de su valoración. Al mismo tiempo, en tubos eppendorf mantenidos en baño maría a 37°C se preparó el control, el blanco de control y la muestra; para el control se agregó 200 µL de Tris al 7.5 (3.025 g de tris aforado a 500mL y ajustado el pH a 7.5) y se añadieron 200 µL de solución de tripsina (10 mg de tripsina de 16,700 unidades/mg de proteína disuelta en 500 mL de HCl 1mM). Pasado el tiempo de inhibición enzimático (2 min), se adicionó 500 µL de solución BTC (BAPNA en dimetilsulfoxido + Tris – HCl 0.05 M a pH 8.2 y cloruro de calcio 1M). Al cabo de 10 min de incubación, la reacción enzimática se detuvo con 100 µL de ácido acético al

30%. Para el blanco de control se agregó 200 µL de tris 7.5 y se añadieron 200 µL de solución de tripsina. Pasado el tiempo de inhibición enzimática (1 min), se agregó 100 µL de ácido acético al 30%. Al cabo de 1 min se adicionó 500 µL de solución BTC. Para preparar la muestra se agregaron 200 µL de extracto y se añadieron 200 µL de solución de tripsina. Pasado el tiempo de inhibición enzimática (2 min), se adicionaron 500 µL de solución BTC. Al cabo de 10 min de incubación, la reacción enzimática se detuvo con 100 µL de ácido acético al 30%. La muestra se centrifugó a 10,000 rpm durante 10 min a 4 °C y se midió su absorbancia a una longitud de onda de 410 nm (espectrofotómetro marca Thermo Scientific, modelo GENESYS 10UV-Visible), absorbancia a la cual el sustrato cromogénico BAPNA (amida), al ser hidrolizado por la tripsina, liberó un compuesto colorido de p-nitroanilina (amina). La actividad de los inhibidores de tripsina se expresó en términos de unidades de tripsina inhibidas, de manera que una unidad de inhibidores de tripsina (UIT) es la cantidad de inhibidores que reduce 0.01 unidades de absorbancia, en relación con la reacción control de tripsina y en las condiciones anteriormente definidas. El cálculo para obtener el número de unidades de inhibidor de tripsina se realiza de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$\text{Unidades inhibidoras de tripsina (UIT)} = \frac{\text{Abs. control de tripsina} - \text{Abs. muestra}}{0.01}$$

e Lectinas

La determinación de lectinas se realizó en base a la metodología de las diluciones seriadas con eritrocitos lavados en solución buffer de fosfatos (PBS) propuesta por de la Barca y col (1991). La extracción de la harina se llevó a cabo en relación 1:10 (peso/volumen) en PBS (0.025M Na₂HPO₄, 0.025M NaH₂PO₄, 0.9% NaCl y 5mM azida de sodio) a 30°C durante cuatro horas con agitación suave. El extracto

se centrifugó a 5,000 rpm por 15 minutos, y el sobrenadante se diluyó 1:9 en PBS. De esta dilución se tomaron 50 μ L de PBS y 50 μ L de una suspensión de glóbulos rojos al 2% en PBS, los cuales fueron lavados previamente tres veces con este buffer. A partir de este pocillo se hicieron las diluciones sucesivas en los pocillos siguientes hasta obtener la máxima dilución donde no se observó aglutinación de los eritrocitos. Los resultados se expresaron como títulos de hemaglutinación, el cual representó el número máximo de diluciones donde se observó aglutinación positiva.

f Oxalatos

El contenido de oxalato se determinó mediante el método AOAC (2005). Un gramo de la muestra se pesó en un matraz cónico de 100 mL. Se agregaron setenta y cinco mililitros de H_2SO_4 concentración 3 mol / L y la solución se agitó con un agitador magnético durante aproximadamente 1 hora y luego se filtró usando un papel de filtro Whatman No. 1. El filtrado de la muestra (extracto) (25 mL) se recogió y se valoró frente a una solución de $KMnO_4$ 0,1 N caliente (80–90°C) hasta el punto en que apareció un color rosado pálido que persistió durante al menos 30 segundos. La concentración de oxalato en cada muestra se obtuvo a partir del cálculo: 1 mL de permanganato 0,1N= 0,006303 g de oxalato.

9 Análisis estadístico

Para el análisis estadístico de los resultados de composición química proximal, contenido de antinutrientes, y propiedades fisicoquímicas, nutricionales y antioxidantes se empleó un diseño experimental de un factor (tipo de harina) con tres niveles [harina de semillas de Moringa cruda (HSMC), harina de semillas de Moringa prensada (HSMP) y harina de semillas de Moringa extrudida optimizada (HSMEO)]. A los datos generados se les realizó un análisis de varianza de una sola vía (ANOVA) y las medias de los

resultados se compararon con la prueba de rangos múltiples de Duncan, con un nivel de significancia del 5% (STATGRAPHICS Plus. Versión 6.0).

VIII RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DE LA SEMILLA DE MORINGA

Las características físicas y fisicoquímicas de las semillas de *Moringa oleifera* (**Cuadro 6**) son importantes indicadores de su calidad comercial; ofrecen una pauta para el manejo y almacenamiento de las mismas. El tamaño de las semillas de *Moringa oleifera* fue de 6.45 mm de largo, 7.02 mm de ancho y 7.26 mm de espesor. El peso de 1,000 semillas es un indicador del tamaño de las semillas; el peso hectolítrico es una medida indirecta de la densidad de las mismas. Ambos son indicadores de la calidad del grano. Las semillas de Moringa presentaron pesos de 1,000 semillas y hectolítrico de 170 g y 48.71 kg/hL, respectivamente (**Cuadro 6**). Este parámetro es necesario para la estimación del volumen de una semilla, así como para la realización de la limpieza de las semillas a través del uso de fuerzas aerodinámicas. Las características físicas de las semillas de *Moringa oleifera* coinciden con lo reportado por otros investigadores (Espíndola, 2007; Olson y Fahey 2011).

B COMPOSICIÓN QUÍMICA Y PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DE SEMILLA DE MORINGA CRUDA

El **Cuadro 7** exhibe la composición química de las semillas de *Moringa oleifera* cruda (sin procesar). El contenido de proteína, en base seca (%), de las semillas fue 30.2%. Los resultados obtenidos, en lo que respecta a contenido de proteínas, coinciden con lo reportado previamente por otros investigadores (Sala y Barroeta 2003; Escobar-Zúñiga y col 2015; de la Mora-López y col 2018). Su contenido de proteína es superior al de los cereales (promedio 10%, bs) y leguminosas (promedio 20%, bs).

Cuadro 6. Características físicas de la semilla de *Moringa oleifera*

Propiedad	Semillas de <i>Moringa oleifera</i>
Características físicas	
Dimensiones físicas (mm)	
Largo	6.45 ± 0.70
Ancho	7.02 ± 0.44
Espesor	7.26 ± 0.44
Peso de 1000 semillas (g)	170 ± 5.29
Peso hectolítrico (kg/hL)	48.71 ± 0.39

Cuadro 7. Composición química y propiedades fisicoquímicas de semillas de Moringa cruda **HSMC**

Propiedad	Harina de semillas de Moringa cruda (HSMC)
Composición química (% bs)	
Proteínas	30.20 ± 0.36
Lípidos	41.36 ± 0.78
Minerales	6.92 ± 0.08
Fibra dietaria	
Soluble	0.65 ± 0.07
Insoluble	3.79 ± 0.02
Total	4.44 ± 0.22
Carbohidratos	14.74 ± 0.51
Propiedades fisicoquímicas	
Color	
Valor Hunter (L)	60.06 ± 3.69
Diferencia total de color (ΔE)	38.96 ± 3.39
Actividad acuosa (a_w)	0.51 ± 0.01
pH	5.77 ± 0.13

Las semillas de Moringa poseen un importante contenido de lípidos totales, en el presente estudio se encontró un contenido de lípidos en base seca de 41.36% (**Cuadro 7**). En base a su perfil de ácidos grasos, el aceite de Moringa tiene un nivel de calidad similar al de aceite de oliva (55-83% de ácido oleico), lo que indica que podría tener un valor similar en el mercado (Folkard y Sutherland 1996; Abdulkarim y col 2005).

En cuanto a sus valores de minerales, carbohidratos, fibra dietaria soluble, insoluble y total, se obtuvieron contenidos de 6.92%, 14.74%, 0.65%, 3.79% y 4.44%, respectivamente (**Cuadro 7**). Estos valores son similares a los reportados por diversos autores anteriormente (Sala y Barroeta 2003; Escobar-Zúñiga y col 2015; de la Mora-López y col 2018).

Las semillas de *Moringa oleifera* tuvieron valores Hunter "L" y ΔE de 60.06 y 38.96, respectivamente (**Cuadro 7**). El valor ΔE representa la diferencia total de color en referencia a un estándar de color blanco, valores mayores de ΔE significan materiales más oscuros, debido a que las semillas de Moringa tienen un color pardo claro, el valor ΔE se encontró más cercano a cero, es decir, materiales más claros. Los valores de actividad acuosa y el pH de las semillas de *Moringa oleifera* fueron de 0.51 y 6.77, respectivamente (**Cuadro 7**). Este valor de actividad acuosa favorece una vida de anaquel prolongada, ya que se encuentra en el rango de los valores (0.4 - 0.6) donde el crecimiento microbiano, las reacciones químicas y la actividad enzimática se realizan de manera lenta (Fennema 2001).

C MEJORES CONDICIONES DE EXTRUSIÓN PARA OBTENER HARINA DE SEMILLAS DE MORINGA EXTRUDIDA OPTIMIZADA (HSMEO) CON VALORES MÁXIMOS DE CFT, AAox y DPIV

1 Modelos de predicción

En el **Cuadro 8** se muestran las diferentes combinaciones de variables del proceso de extrusión [Temperatura de Extrusión (**TE**) y Velocidad de Tornillo (**VT**)] utilizadas para la producción de harinas de semillas de Moringa extrudida (**HSME**) y los valores experimentales de las variables de respuesta [Compuestos Fenólicos Totales (**CFT**), Actividad Antioxidante (**AAox**) y Digestibilidad Proteínica *in vitro* (**DPIV**)] evaluadas a las **HSME**. A partir de los datos experimentales de **CFT**, **AAox** y **DPIV** de las **HSME** (**Cuadro 8**) se obtuvieron los modelos de predicción, como resultado de ajustar el polinomio " $\hat{Y}_i = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2$ ", que relacionan las variables de respuesta ($\hat{Y}_i = \text{CFT, AAox, DPIV}$) evaluadas a las **HSME**, con las variables de proceso de extrusión ($X_1 = \text{TE, } X_2 = \text{VT}$). A estos modelos de predicción se les probó su idoneidad y ajuste por análisis de varianza (ANOVA) (**Cuadro 8**). Un buen modelo de predicción debe tener un nivel de significancia de $P < 0.05$, una R^2 ajustada (coeficiente de determinación) ≥ 0.80 , un coeficiente de varianza (CV) $\leq 10\%$ y una prueba de falta de ajuste > 0.05 (Myers y Montgomery 2002). Se utilizaron estos criterios para decidir el nivel de satisfacción de los modelos de predicción de cada una de las variables de respuesta.

a Compuestos fenólicos totales (CFT)

Las **HSME** presentaron contenidos de compuestos fenólicos totales (**CFT**) entre 258 y 320 mg equivalentes de ácido gálico (EAG) / 100 g (bs) (**Cuadro 8**). El

Cuadro 8. Diseño experimental¹ empleado para obtener diferentes combinaciones de temperatura de extrusión y velocidad de tornillo (**TE, VT**) para la producción de harinas de semillas de Moringa extrudida y resultados experimentales de las variables de respuesta (**CFT, AAox, DPIV**)

Tratamiento ²	Variables de proceso		Variables de respuesta		
	Temperatura de extrusión (°C)	Velocidad de tornillo (rpm)	CFT ³ (mgEAG/100g,bs)	AAox ⁴ (μmolET/100g,bs)	DPIV ⁵ (%)
1	82	78	320	11,788	72.4
2	138	78	265	9,158	80.9
3	82	212	278	5,360	75.2
4	138	212	275	6,525	75.3
5	70	145	309	9,953	69.9
6	150	145	260	8,342	79.2
7	110	50	278	8,852	76.1
8	110	240	271	4,419	74.8
9	110	145	258	7,666	74.8
10	110	145	278	5,855	75.4
11	110	145	263	7,625	74.9
12	110	145	272	5,920	74.9
13	110	145	267	6,772	75.2

¹ Diseño central compuesto rotatable con dos factores y cinco niveles; 13 tratamientos.

² No corresponde al orden de procesamiento. ³ **CFT** = Compuestos fenólicos totales.

⁴ **AAox** = Actividad antioxidante. ⁵ **DPIV** = Digestibilidad de proteína *in vitro*.

contenido de **CFT** en la harina de semillas de Moringa cruda fue de 157.52 mg EAG / 100 g (bs) mientras que para las harinas de semilla de *Moringa oleifera* prensada fue de 263.23 mg EAG / 100 g (bs). La mayoría de los tratamientos de las harinas extrudidas presentó mayor contenido de compuestos fenólicos totales que las **HSMC** y **HSMP**. El análisis de varianza mostró un modelo cuadrático significativo ($p=0.0012$) para **CFT** (**Cuadro 9**). Este análisis también mostró que el contenido de **CFT** de las **HSME** dependió significativamente tanto de los términos lineales de temperatura de extrusión (**TE**) y velocidad de tornillo (**VT**) como su interacción (**TE**)(**VT**) así como del término cuadrático de temperatura de extrusión (**TE**)² ($p < 0.05$). El modelo de predicción para el contenido de **CFT** de las **HSME** fue:

Usando variables codificadas

$$Y_1 = 270.91 -15.78X_1 -5.32X_2 +13.37X_1X_2 +9.11X_1^2$$

Usando variables decodificadas

$$\text{CFT} = 593.7786 - 4.0831(\text{TE}) - 0.8532(\text{VT}) + 7.04\text{E-}03(\text{TE})(\text{VT}) + 0.0113(\text{TE})^2$$

Este modelo de predicción explicó el 87.25% de la variabilidad total ($p=0.0012$) de los valores de **CFT** de las **HSME**. El coeficiente de determinación (R^2 ajustada) del modelo fue 0.8088 y la falta de ajuste no fue significativa (0.4705). Además, la dispersión relativa de los puntos experimentales con respecto a los valores predichos con el modelo (CV) fue de 2.9% (**Cuadro 9**). Estos valores indican que el modelo experimental para **CFT** de las **HSME** fue adecuado y reproducible.

Cuadro 9. Coeficientes de regresión y análisis de varianza de los modelos experimentales de predicción que muestran la relación entre las variables de respuesta (CFT, AAox, DPIV) y variables de proceso (TE, VT) para la producción de harinas de semillas de Moringa desgrasada extrudida.

Coeficientes	Compuestos fenólicos totales (CFT)		Actividad antioxidante (AAox)		Digestibilidad proteínica <i>in vitro</i> (DPIV)	
	Codificado	Sin codificar	Codificado	Sin codificar	Codificado	Sin codificar
Intercepto						
β_0	270.91	593.7786	6776.63	39866.43	75.12	47.36
Lineal						
β_1	-15.78***	-4.0831	-467.8*	-437.46	2.67***	0.2744
β_2	-5.32**	-0.8532	-1916.22***	-83.46	-0.45**	0.1096
Cuadrático						
β_{11}	9.11**	0.0113	1267.31***	1.5841	NS	NS
β_{22}	NS	NS	NS	NS	0.31**	6.93E-05
Interacción						
β_{12}	13.37**	7.04E-03	948.95**	0.4994	-2.36***	-1.24E-03
P_{modelo}		0.0012		0.0003		0.0001
P_{falta de ajuste}		0.4705		0.7976		0.1018
CV		2.9		9.76		0.55
R²		0.8725		0.9138		0.9832
R²_{ajustada}		0.8088		0.8707		0.9749
R²_{predicha}		0.619		0.8022		0.9273

*Nivel de significancia a $P \leq 0.10$
 **Nivel de significancia a $P \leq 0.05$
 ***Nivel de significancia a $P \leq 0.01$
 NS, No significativo

El valor de **CFT** más bajo (258 mg EAG / 100 g, bs) se localizó a una **TE**=110°C y una **VT**=145 rpm (**Figura 5**). Los valores más altos de contenido de **CFT** se observan a **TE** bajas así como **VT** bajas (**Figura 5**).

De acuerdo a algunos investigadores (Hirth y col 2015) durante el proceso de extrusión, al aumentar la velocidad de tornillo, el tiempo de residencia puede ser disminuido hasta en un 50%; un menor tiempo de procesamiento puede traer como consecuencia una retención mayor de compuestos termolábiles, como algunos compuestos fenólicos. Sin embargo, al aumentar la velocidad del tornillo se incrementa la energía mecánica específica, lo que resulta en un aumento en la temperatura y, si bien se disminuye el tiempo de procesamiento, este aumento de temperatura podría afectar la retención de compuestos termolábiles. Un comportamiento similar se puede observar en la **Figura 5**, al aumentar la velocidad de tornillo, los niveles de **CFT** van en descenso, esta disminución es atribuida al incremento de temperatura debido al aumento del esfuerzo de corte producido por una mayor velocidad de tornillo.

b Actividad antioxidante (AAox)

Las **HSME** presentaron valores de **AAox** de entre 4,419 y 11,788 $\mu\text{mol ET} / 100\text{g, bs}$ (**Cuadro 8**). El valor de **AAox** para la harina de semillas de Moringa cruda (**HSMC**) fue 4,233 $\mu\text{mol ET} / 100\text{g, bs}$, mientras que para la harina de semillas de Moringa prensada (**HSMP**) fue de 6,699 $\mu\text{mol ET} / 100\text{g, bs}$. La mayoría de los tratamientos de las harinas extrudidas presentó mayor actividad antioxidante que las **HSMC** y **HSMP**. El análisis de varianza mostró un modelo cuadrático significativo ($p=0.0003$) para **AAox** (**Cuadro 9**). Este análisis también mostró que la **AAox** de las

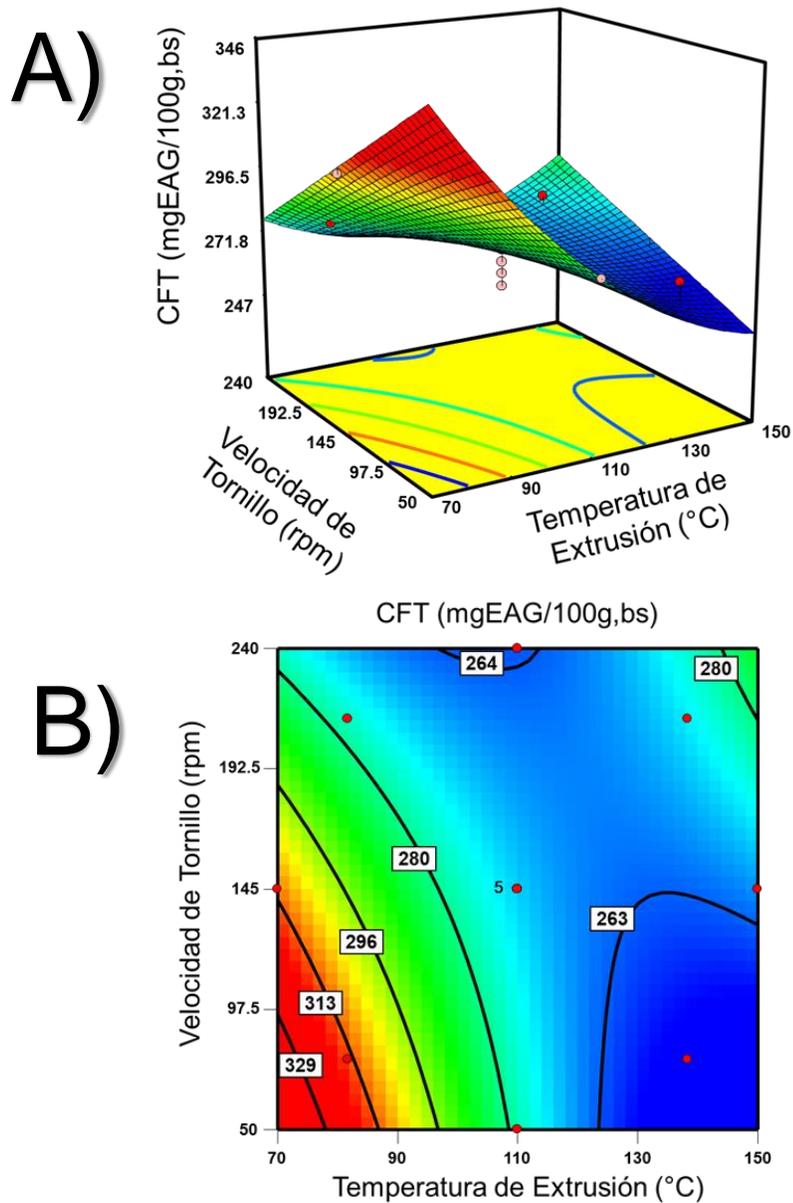


Figura 5. Gráficas de superficie de respuesta **(A)** y de contornos **(B)** mostrando el efecto de las variables de proceso de extrusión [**TE**: Temperatura de extrusión (°C), **VT**: Velocidad de tornillo (rpm)] sobre el contenido de compuestos fenólicos totales [**CFT** (mg EAG / 100 g, bs)] de las harinas de semillas de Moringa extrudida (**HSME**).

HSME dependió significativamente de los términos lineales de **TE** y **VT**, su interacción y el término cuadrático de temperatura de extrusión (**TE**)² (p<0.05). El modelo de predicción para **AAox** fue:

Usando variables codificadas

$$Y_2 = 6776.63 - 467.8X_1 - 1916.22X_2 + 948.95X_1X_2 + 1267.31X_1^2$$

Usando variables decodificadas

$$\mathbf{AAox} = 39866.4317 - 437.4696(\mathbf{TE}) - 83.4648(\mathbf{VT}) + 0.4994(\mathbf{TE})(\mathbf{VT}) + 1.5841(\mathbf{TE})^2$$

Este modelo de predicción explicó el 91.38% de la variabilidad total (p=0.0003) de los valores de **AAox** de las **HSME**. El coeficiente de determinación R² ajustada del modelo fue 0.8707 y la falta de ajuste no fue significativa (p=0.7976). Además, la dispersión relativa de los puntos experimentales con respecto a los valores predichos con el modelo (CV) fue de 9.76% (**Cuadro 9**). Estos valores indican que el modelo experimental para la **AAox** de las **HSME** fue adecuado y reproducible.

El valor más bajo de **AAox** (4,419 μmol ET / 100g, bs) se localizó a una **TE**=110°C y una **VT**=240rpm (**Figura 6**). El máximo valor de **AAox** alcanzado se ubicó **TE** y **VT** bajas. En general, se cree que los tratamientos térmicos son la causa principal de disminución en el contenido de antioxidantes naturales (Kaur y Kapoor, 2001); sin embargo, las temperaturas altas pueden inducir la formación compuestos con propiedades antioxidantes. Esto ocurre durante el desarrollo de “productos de la Reacción de Maillard” (MRP, por sus siglas en inglés). Korus y col (2007) reportaron una disminución en actividad antioxidante y contenido de polifenoles durante la extrusión de frijol común y mezcla frijol/maíz, respectivamente; atribuyéndolo principalmente a las condiciones del proceso. Ellos no llevaron a cabo optimización del proceso de extrusión.

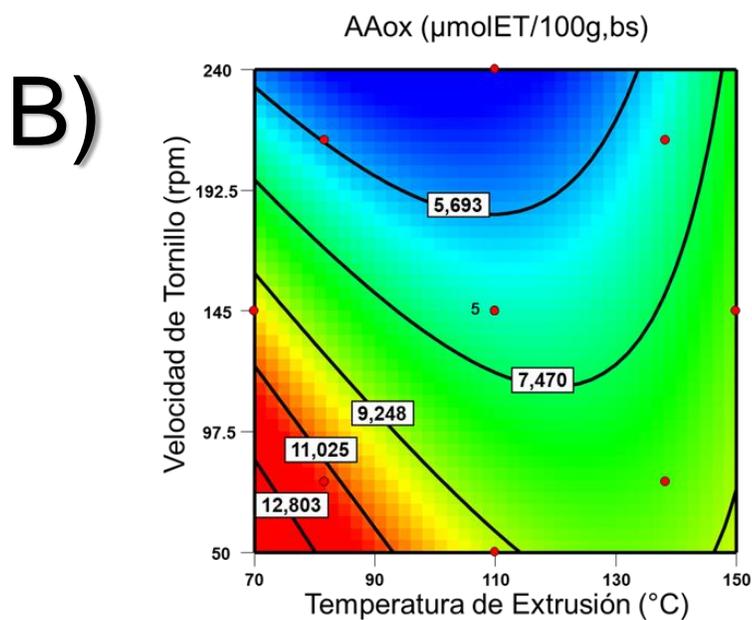
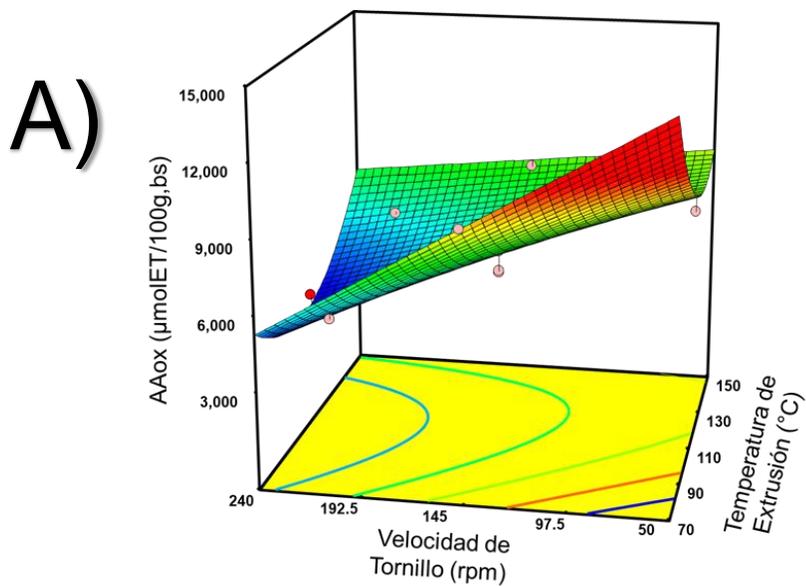


Figura 6. Gráficas de superficie de respuesta **(A)** y de contornos **(B)** mostrando el efecto de las variables de proceso de extrusión [**TE**: Temperatura de extrusión ($^{\circ}\text{C}$), **VT**: Velocidad de tornillo (rpm)] sobre la actividad antioxidante [**AAox** ($\mu\text{mol ET} / 100\text{g, bs}$)] de las harinas de semillas de Moringa extrudida (**HSME**).

Un comportamiento similar fue reportado por Zilic y col (2014) para soya extrudida, quienes reportaron un incremento de la **AAox** hasta una temperatura máxima de 110°C, posterior a este valor se presentó una disminución de esta propiedad durante el proceso. Estos investigadores atribuyeron este comportamiento al cambio de relación entre melanoproteínas de bajo y alto peso molecular formadas por la reacción de Maillard.

c Digestibilidad proteínica *in vitro* (DPIV)

Las **HSME** presentaron valores de **DPIV** entre 69.9 y 80.9% (**Cuadro 8**). El análisis de varianza mostró un modelo cuadrático significativo ($p < 0.0001$) para **DPIV** (**Cuadro 9**). Este análisis también mostró que la **DPIV** de las **HSME** dependió significativamente de los términos lineales de la temperatura de extrusión (**TE**) y la velocidad de tornillo (**VT**), así como de su interacción (**TE**)(**VT**) y el término cuadrático de velocidad de tornillo (**VT**)² ($p < 0.05$). El modelo de predicción para **DPIV** de las **HSME** fue:

Usando variables codificadas

$$Y_3 = 75.12 + 2.67X_1 - 0.45X_2 - 2.36X_1X_2 + 0.31X_2^2$$

Usando variables decodificadas

$$\text{DPIV} = 47.3669 + 0.2744(\text{TE}) + 0.1096(\text{VT}) - 1.2407\text{E-}003(\text{TE})(\text{VT}) + 6.9252\text{E-}005(\text{VT})^2$$

Este modelo de predicción explicó el 98.32% de la variabilidad total ($p < 0.0001$) de los valores de **DPIV** de las **HSME**. El coeficiente de determinación R^2 ajustada del modelo fue 0.9749 y la prueba de falta de ajuste no fue significativa ($p = 0.1018$). Además, la dispersión relativa de los puntos experimentales con respecto a los valores

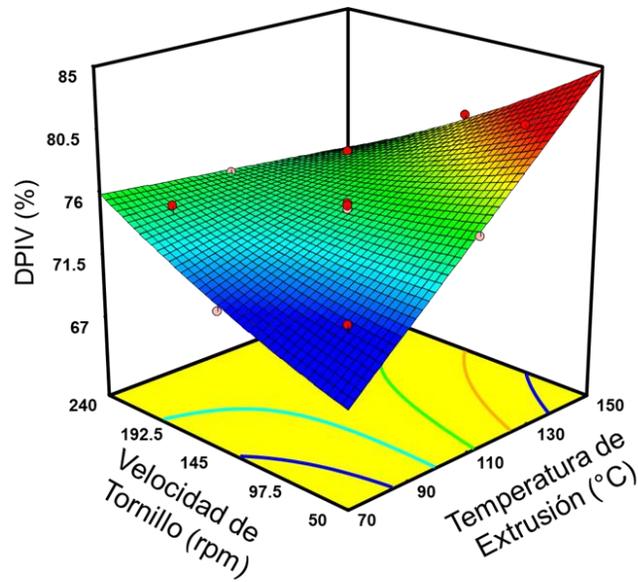
predichos con el modelo (CV) fue de 0.55% (**Cuadro 9**). Estos valores indican que el modelo experimental para **DPIV** de las **HSME** fue adecuado y reproducible.

A partir de los modelos matemáticos de predicción se construyeron gráficos de superficie de respuesta y de contornos (**Figura 7**) en los cuales se observa el efecto de las variables del proceso de extrusión (**TE**, **VT**) sobre la **DPIV** de las **HSME**. En los gráficos se observa que ambas variables de proceso (**TE**, **VT**) tuvieron un efecto significativo en el comportamiento de **DPIV**. El valor más bajo (69.9%) de **DPIV** se localizó a **TE**=70°C/**VT**=145 rpm. El área con los valores mayores de **DPIV** se encuentra a **TE** altas y a **VT** bajas (**Figura 7**).

2 Optimización del proceso de extrusión para obtener harina de semillas de Moringa extrudida optimizada (HSMEO)

La sobreposición de las gráficas de contorno (**Figuras 5, 6, 7**) de las variables de respuesta (**CFT**, **AAox**, **DPIV**) generó la **Figura 8**, la cual se utilizó para la observación y la selección de la mejor combinación de variables de proceso (temperatura de extrusión y velocidad de tornillo) para la producción de harina de semillas de Moringa extrudida optimizada (HMGO) con valores máximos de **CFT**, **AAox** y **DPIV**. El punto central de la zona de optimización (color amarillo) de la **Figura 8** correspondió a una combinación **TE**=109°C / **VT**=65 rpm; esta combinación es considerada como “condiciones óptimas” para la extrusión de semillas de *M. oleífera*.

A)



B)

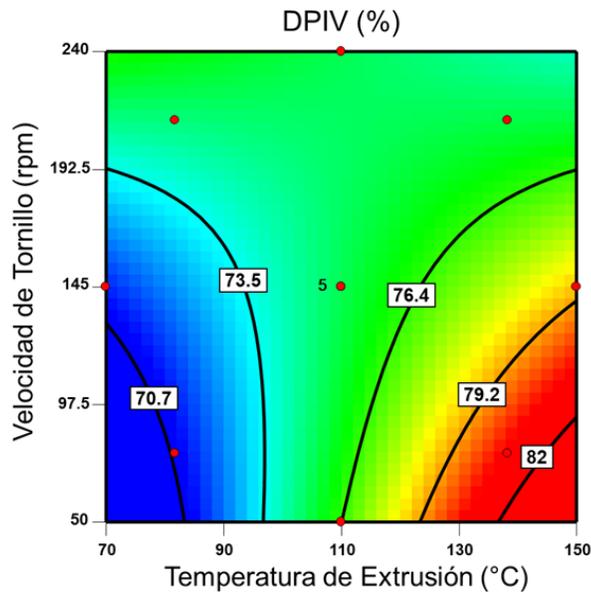


Figura 7. Gráficas de superficie de respuesta **(A)** y de contornos **(B)** mostrando el efecto de las variables de proceso de extrusión [**TE**: Temperatura de extrusión (°C), **VT**: Velocidad de tornillo (rpm)] sobre la digestibilidad proteínica *in vitro* [**DPIV** (%)] de las harinas de semilla de Moringa extrudida (**HSME**).

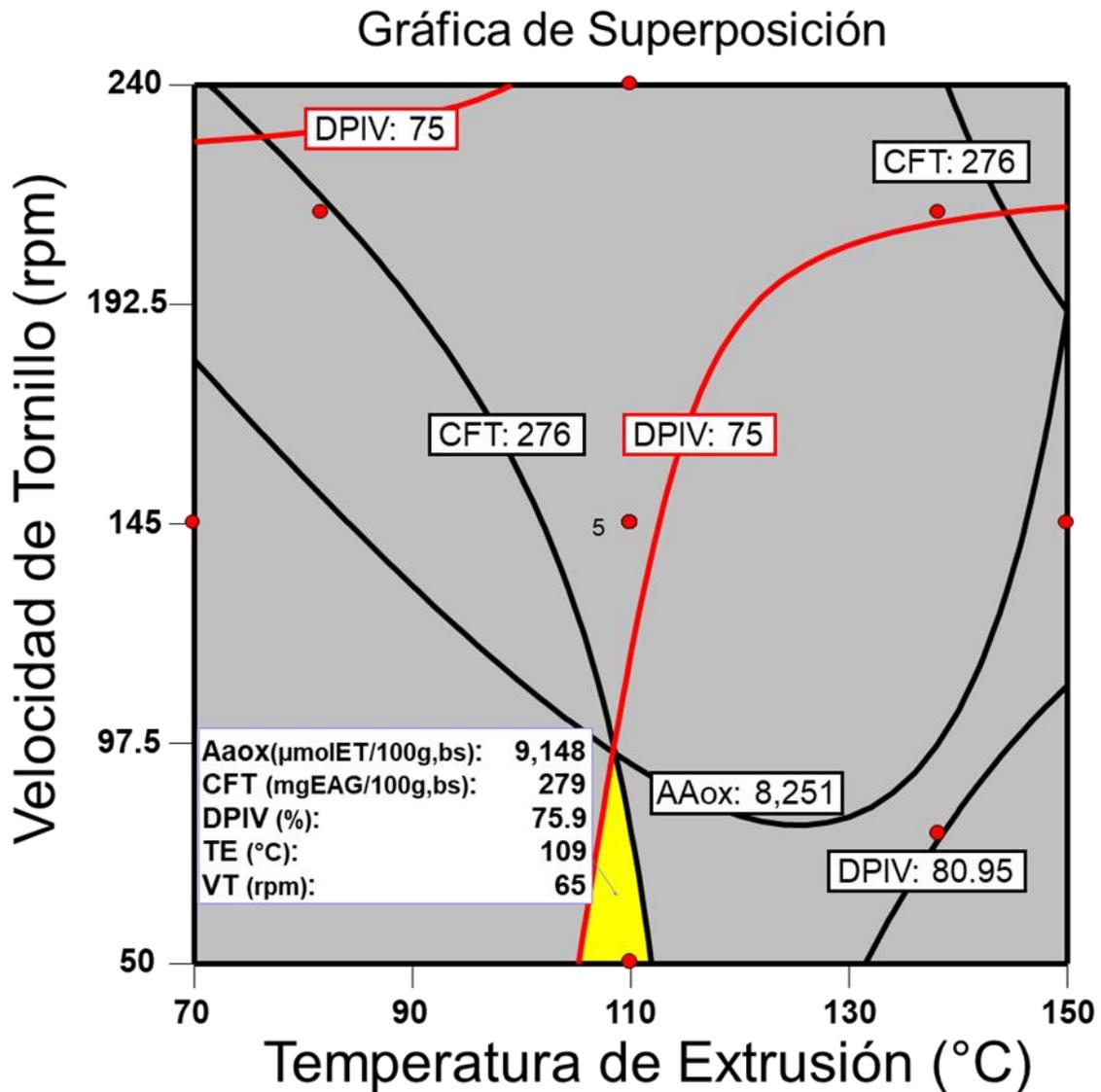


Figura 8. Gráfica de superposición mostrando la región con la mejor combinación de las variables del proceso de extrusión [(TE: Temperatura de extrusión ($^{\circ}\text{C}$), VT: Velocidad de tornillo (rpm)] para la obtención de harina de semillas de Moringa extrudida optimizada (HSMEO).

Los valores predichos para las variables de respuesta, **CFT**, **AAox** y **DPIV**, utilizando los modelos de predicción de cada una de ellas y las condiciones óptimas de procesamiento fueron: 279 mg EAG/100 muestra bs, 9,148 μmol ET/100 muestra bs, y 75.9%, respectivamente. Por otro lado, se produjo harina de semillas de Moringa extrudida optimizada (**HSMEO**) aplicando **TE**=109°C y **VT**=65 rpm; la producción se efectuó por triplicado. Los valores experimentales de **CFT**, **AAox** y **DPIV** (277.6 mg EAG/100 muestra bs, 8,909 μmol ET/100 muestra bs y 76.9%, respectivamente) fueron similares a los valores predichos. Esto indica que las condiciones óptimas del proceso de extrusión son apropiadas y reproducibles.

D EFECTO DE LA EXTRUSIÓN EN CONDICIONES OPTIMIZADAS SOBRE COMPOSICIÓN QUÍMICA Y PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DE LAS SEMILLAS DE MORINGA PRENSADA

En el **Cuadro 10** se muestra la composición química y propiedades fisicoquímicas de la harina de semillas de Moringa extrudida optimizada (**HSMEO**), obtenidas al aplicar las condiciones óptimas de proceso de extrusión (**TE**=109°C/**VT**=65 rpm) a harina de semillas de Moringa prensadas (**HSMP**) con contenido bajo de grasa [5.50% (bs)], previamente acondicionada con un contenido de humedad de 17% (**CH**=17%). En el **Cuadro 10** también se muestra la composición química y propiedades fisicoquímicas de harina de semillas de Moringa cruda (**HSMC**).

El contenido de proteína de **HSMEO** no mostró diferencia significativa ($p < 0.05$) comparada con la harina de semillas de Moringa prensada (**HSMP**) (52.57% vs 52.09%). Las semillas de Moringa se desgrasaron previo a la extrusión; materiales con contenidos de lípidos <6% favorecen el proceso de extrusión cocción cuando se

Cuadro 10. Composición química, propiedades nutricionales y fisicoquímicas de harinas de semillas de Moringa cruda, prensada y extrudida optimizada.

Propiedad	Harina de semillas de Moringa cruda (HSMC)	Harina de semillas de Moringa prensada (HSMP)	Harina de semillas de Moringa extrudida optimizada (HSMEO)
Composición química (% , bs)			
Proteínas	32.20±0.06 ^b	52.09±0.47 ^a	52.57±0.41 ^a
Lípidos	41.36±0.79 ^a	5.50±0.42 ^b	5.63±0.29 ^b
Minerales	3.87±0.04 ^b	5.91±0.19 ^a	5.71±0.22 ^a
Fibra dietaria total	4.44±0.38 ^b	13.46±2.17 ^a	12.42±3.63 ^a
Soluble	0.65±0.05 ^a	1.14±0.86 ^a	1.47±0.81 ^a
Insoluble	3.79±0.02 ^b	12.31±2.00 ^a	10.94±3.14 ^a
Carbohidratos	18.06±0.65 ^b	22.75±2.83 ^{ab}	24.45±3.85 ^a
Nutricionales			
DPIV ¹	75.55±0.76 ^b	78.07±0.21 ^a	76.91±1.05 ^{ab}
Fisicoquímicas			
Color			
Valor Hunter "L"	68.27±1.48 ^b	61.43±1.31 ^c	84.81±1.05 ^a
ΔE^2	41.22±1.75 ^a	39.64±1.19 ^a	19.40±0.85 ^b
Actividad acuosa (aw)	0.64±0.01 ^a	0.55±0.01 ^b	0.49±0.01 ^c
pH	5.77±0.05 ^b	6.27±0.14 ^a	6.09±0.03 ^a
Dispersabilidad (%)	56.14±4.36 ^a	29.85±11.03 ^b	31.48±0.64 ^b
IAA ³	2.66±0.08 ^b	3.50±0.45 ^a	2.34±0.02 ^b
ISA ⁴	26.57±0.57 ^b	41.36±4.42 ^a	43.19±0.77 ^a
CAA ⁵	1.91±0.10 ^a	1.77±0.03 ^a	1.0±0.06 ^b

† Los resultados se expresan como promedio ± desviación estándar;

^{a-c} Medias con letra diferente en el mismo renglón son diferentes (Duncan, $p < 0.05$);

¹ DPIV = Digestibilidad proteínica *in vitro* (%) ² ΔE = Diferencia total de color

³ IAA = índice de absorción de agua, (g gel/g muestra)

⁴ ISA = Índice de solubilidad en agua (g sólidos/100g muestra);

⁵ CAA = Capacidad de absorción de aceite (mL aceite absorbido/g de muestra).

utiliza un extrusor de tornillo simple con las características del empleado en esta investigación (Singh y col 2007). El contenido de lípidos de la **HSMP** no presentó diferencias significativas ($p < 0.05$) respecto a la harina de semillas de Moringa óptima (**HSMEO**) que fue sometida al proceso de extrusión (5.50% vs 5.63%, respectivamente) (**Cuadro 10**). El contenido de minerales en **HSMP** y **HSMEO** fue de 5.91 y 5.71%, bs, respectivamente (**Cuadro 10**).

Se sabe que en general el proceso de extrusión es ampliamente utilizado para el procesamiento de cereales en la industria alimentaria, gracias a las ventajas como ahorro de tiempo, eficiencia energética, bajo costo de procesamiento, mínimo deterioro de nutrimentos de los alimentos durante su procesamiento entre otros (Riaz 2000).

El proceso de desgrasado de semillas de Moringa cruda, generó un cambio en la composición química debido al cambio de proporciones por la eliminación parcial de la parte lipídica, manifestándose un efecto de “concentración” del resto de nutrimentos (proteínas, minerales, fibra dietaria, carbohidratos).

Las harinas **HSMP** y **HSMEO** tuvieron valores Hunter “L” de 61.43 y 84.81, respectivamente; mientras que los valores de ΔE fueron de 39.64 y 19.40, respectivamente (**Cuadro 10**). El proceso de extrusión de semillas de Moringa prensada provocó incremento ($p < 0.05$) en valor Hunter “L” y una disminución ($p < 0.05$) en ΔE ; esto significó un aumento en luminosidad y un “aclaramiento” de la materia prima, sin embargo, este aclareamiento no se debe al proceso de extrusión, si no a que se presentaron problemas de molienda, la **HSMEO** fue tamizada con una malla No. 80 y la **HSMP** con una malla No. 60, por lo tanto esta última presentó tamaños de partícula ligeramente superiores a los de la **HSMEO** generando más espacio entre ellas que generan sombra y consecuente una harina más “oscura”.

Los valores de actividad de agua (0.55–0.49) para harinas de semillas de Moringa prensada (**HSMP**) y extrudida optimizada (**HSMEO**) (**Cuadro 10**) se encuentran en un rango en donde el crecimiento de microorganismos, las reacciones químicas y enzimáticas ocurren lentamente, lo que significa una larga vida de anaquel (Fennema 2010).

La **HSMEO** presentó diferencia ($p < 0.05$) en el índice de absorción de agua (**IAA**) comparada con la **HSMP** (2.34 vs 3.50 g gel/g muestra, respectivamente). Estos resultados fueron similares a los de Ley-Osuna y col (2018) donde el proceso de extrusión de harina de chíá desgrasada (**HCD**) provocó una disminución significativa ($p < 0.05$) del **IAA** a la harina de chíá extrudida optimizada (**HCEO**) (9.56 vs 3.90 g gel/g muestra, respectivamente). La absorción de agua es una función de las proteínas y del contenido de almidón en alimentos viscosos como sopas, pastas y productos horneados; se sugiere que **IAA** es afectado por el efecto térmico y por la fricción durante la extrusión. El **IAA** está fuertemente correlacionado con el grado de gelatinización y dextrinización del almidón durante el proceso de extrusión. Cuanto mayor es el grado de gelatinización, los gránulos de almidón se hidratan, se hinchan y se convierten en una pasta. Una fusión simultánea de cristales y un desenrollado de la doble hélice de los polímeros del almidón contribuyen a colapsar la estructura del gránulo, rompiendo los enlaces de hidrógeno y, en consecuencia, aumentando la absorción de agua (Sandrin y col 2018). El **IAA** puede correlacionarse con la viscosidad de la pasta fría una vez que los gránulos de almidón dañados absorben agua y se hinchan a temperatura ambiente, lo que resulta en un aumento de la viscosidad. Después de alcanzar un límite de viscosidad máximo, el **IAA** disminuye con el inicio de la dextrinización. El **IAA** generalmente aumenta en paralelo con el

aumento de la temperatura de extrusión. Se ha observado que alcanza un pico máximo hasta una cierta temperatura, después de eso, probablemente disminuya debido al aumento de la dextrinización (Sandrin y col 2018). Mercier y Feillet (1975), en estudios con diferentes productos extruidos con almidón, describieron cómo los valores de **IAA** aumentaron linealmente hasta una temperatura máxima entre 180 y 200°C, y luego este parámetro se redujo por encima de este rango de temperatura. Sandrin y col (2018) reportaron que, durante la extrusión de una mezcla de harina de avena y arroz, la temperatura no fue un parámetro significativo para cambiar los niveles de absorción de agua. Ellos encontraron que **IAA** se vio afectada principalmente por la velocidad del tornillo, y se obtuvieron valores más bajos cuando el tornillo se ajustó a baja velocidad, probablemente debido al grado mínimo de gelatinización. Sin embargo, una entrada excesiva de energía térmica (excediendo el límite de temperatura) también puede conducir a una mayor degradación del almidón, lo que disminuye el **IAA**. Por otro lado, aunque en la literatura ha sido reportado que el **IAA** está relacionado con la cantidad de agua absorbida por los gránulos de almidón después de hincharse en exceso de agua, y puede usarse como un índice del grado de gelatinización, este parámetro también está relacionado con el equilibrio hidrofílico de las proteínas en una fórmula, que cambia según el grado de desnaturalización de la proteína; el proceso de extrusión cambia los perfiles de solubilidad de la proteína, debido a que las condiciones de empleadas en este proceso causan desnaturalización de las proteínas de los materiales alimenticios procesados (Rodríguez-Miranda y col 2012). En el presente trabajo de investigación la reducción en el **IAA** durante el proceso de extrusión pudo haber sido ocasionado preferentemente por cambios ocurridos en las proteínas de la **HSMP** (esta harina presentó un alto contenido de proteína = 52.09%, bs), por un

mecanismo similar al mencionado anteriormente, más que por el aumento en el grado de dextrinización en el almidón; esto debido a que durante la extrusión fueron empleadas muestras con un alto contenido de grasa (5.5%, bs) y condiciones no drásticas de operación en el extrusor (tornillo simple / **TE**=109°C / **VT**=65 rpm). Sandrin y col (2018) reportaron que condiciones de proceso menos severas o el alto contenido de grasa contribuyen a reducir las cantidades de gránulos de almidón degradados.

El índice de solubilidad de agua (**ISA**) no presentó diferencias significativas ($p < 0.05$) entre la **HSMP** y la **HSMEO** (41.36 vs 43.19 g sólidos/100g muestra, respectivamente), este resultado difiere para extrudidos de chía optimizada (Ley-Osuna y col 2018) en el cual, harina de chía desgrasada (**HCD**) presentaba valores de **ISA** menores al de las harinas de chía extrudida optimizada (**HCEO**) (1.49 vs 7.84 g sólidos/100g muestra, respectivamente). El **ISA** está relacionado con la cantidad de moléculas solubles en agua, se asocia a la dextrinización y es utilizado como un indicador de la degradación de la estructura molecular de los polímeros presentes en el almidón y en la fibra dietaría (Cabrera y col 2016). Es por ello que, durante la extrusión de materiales alimenticios que contienen almidón y fibra el **ISA** regularmente aumenta con la severidad del tratamiento térmico, sin embargo, también se debe considerar el nivel de esfuerzo cortante dentro del extrusor; después de la extrusión constituyentes de bajo peso molecular se encuentran fácilmente cuando las condiciones del proceso son más drásticas. En el presente trabajo de investigación los valores de **ISA** no cambiaron significativamente después del proceso de extrusión (**Cuadro 10**), lo cual pudiera deberse al alto contenido de grasa (5.5%, bs) de la muestra extrudida y las condiciones no drásticas empleadas en el extrusor (tornillo simple / **TE**=109°C / **VT**=65 rpm). Sandrin y col (2018) reportaron que condiciones de

proceso menos severas o el alto contenido de grasas contribuyen a reducir las cantidades de gránulos de almidón degradados y, por lo tanto, una disminución en la formación de productos solubles en agua. Por otro lado, Froes-Gomes y col (2015) reportaron que el **ISA** de un producto (p.ej. harinas) depende de su composición química, y que la interacción entre sus constituyentes químicos y el agua depende en gran medida de las proteínas y el almidón. Ellos dijeron que, la interacción proteína-agua es mucho más relevante que la relación amilosa / amilopectina-agua para el **ISA**, ya que en su estudio ellos encontraron que las harinas con mayores niveles de proteína presentaron gradualmente mayor solubilidad. De acuerdo a los resultados encontrados en el presente trabajo de investigación, los altos valores de **ISA** obtenidos en **HSMP** y **HSMEO** (41.36 y 43.19 %, respectivamente) pueden deberse principalmente a los altos contenidos de proteína obtenidos en dichas harinas (**Cuadro 10**).

La capacidad de absorción de aceite (**CAA**) de las **HSMP** y **HSMEO** fueron 1.77 y 1 mL de aceite absorbido/g de muestra, respectivamente (**Cuadro 10**). El proceso de extrusión disminuyó ($p < 0.05$) la **CAA** de los materiales, distinto a los resultados de Ley-Osuna y col 2018 donde la **HCD** no presentó diferencias significativas ($p < 0.05$) comparada con la **HCEO** (1.88 vs 2.07 mL de aceite absorbido/g muestra). La **CAA** está influenciada por la naturaleza lipófila en la superficie y el interior de las partículas de las harinas, los cuales, a su vez, son influenciados por las propiedades funcionales de los almidones (Tharise y col 2014). Sin embargo, el principal componente químico que afecta el índice de absorción de aceite es la proteína, que se compone de partes hidrófilas e hidrófobas. Las cadenas laterales de aminoácidos no polares pueden formar interacciones hidrófobas con las cadenas hidrocarbonadas del lípido (Eltayeb y col 2011) y tienen implicaciones en las propiedades funcionales (p. ej. **CAA**) de las

harinas (Tharise y col 2014). Debido a lo anteriormente mencionado, en el presente trabajo de investigación, la disminución en **CAA** durante el proceso de extrusión de la **HSMP** pudo haberse debido principalmente a cambios en el balance hidrófilo-hidrófobo de las proteínas de la muestra extrudida, causados por las condiciones de procesamiento empleadas en el extrusor. El índice de absorción de aceite es importante ya que el aceite actúa como retenedor del sabor y aumenta la sensación en la boca de los alimentos, mejora la palatabilidad y prolonga la vida útil, especialmente en productos de panadería o carne donde se desean absorciones de grasa (Tharise y col 2014).

E EFECTO DE LA EXTRUSIÓN EN CONDICIONES OPTIMIZADAS SOBRE FACTORES ANTINUTRICIONALES DE LAS HARINAS DE SEMILLAS DE MORINGA PRENSADA

La extrusión es una tecnología relativamente reciente que ha ganado gran aceptación no solo por ser eficiente y versátil, sino por evitar la destrucción de muchos nutrimentos y de manera paralela inactivar factores antinutricionales y aumentar la digestibilidad del almidón y proteína, teniendo como resultado un valor nutricional más alto del grano (Martín-Cabrejas y col 1999; Singh y col 2007).

El contenido de antinutrimentos de las harinas de semillas de Moringa cruda, prensada y extrudida optimizada se muestran en el **Cuadro 11**. Los fitatos son el principal antinutriente presente en cereales y leguminosas, llegando a alcanzar el 1

Cuadro 11. Contenido de antinutrientes en las harinas de semilla de Moringa cruda, prensada y extrudida optimizada (**HSMC, HSMP y HSMEO**)

Compuesto	Harina de semillas de Moringa cruda (HSMC)	Harina de semillas de Moringa prensada (HSMP)	Harina de semillas de Moringa extrudida optimizada (HSMEO)
Fitatos¹	336.96±6.91 ^c	610.57±2.62 ^a	597.28±29.65 ^b
Saponinas²	99.42±13.64 ^b	154.32±5.26 ^a	148.78±13.89 ^a
Taninos³	145.09±19.87 ^c	249.77±18.95 ^a	198.64±15.02 ^b
Inhibidores de Tripsina⁴	8.70±0.25 ^b	11.18±0.26 ^a	7.60±0.42 ^c
Lectinas⁵	ND	ND	ND
Oxalatos⁶	49.32±2.69 ^c	86.35±3.71 ^a	68.86±0.83 ^b

† Los resultados se expresan como promedio ± desviación estándar; ^{a-c} Medias con letra diferente en el mismo renglón son diferentes (Duncan p<0.05); ¹mg equivalentes de ácido fítico/100g; ²mg equivalentes de diosgenina/100g; ³mg equivalentes de catequina/100g; ⁴UIT/mg de muestra. Datos en base seca; ⁵títulos de hemaglutinación; ⁶mg de oxalatos/100g.

o 2% del peso de la semilla. El efecto antinutricional es significativo ya que puede reducir la biodisponibilidad de proteínas y de minerales mediante la formación de complejos con el hierro, calcio y zinc (Silva-Jaimes y col 2018). El resultado obtenido en esta investigación para contenido de fitatos en la **HSMC** fue de 336.96 mg eq ácido fítico/100g de muestra (bs), valores superiores a los reportados por Taiwo (2014); este autor mencionó que el contenido de fitatos en su muestra de semillas de moringa cruda fue de 175 mg eq ácido fítico /100g de muestra (bs). Los datos muestran que hubo una disminución significativa de este compuesto al ser sometido al proceso de extrusión, teniendo valores de 610.57 y 558.68 mg eq de ácido fítico/100g para **HSMP** y **HSMEO**, respectivamente. Este comportamiento fue similar al reportado por Sánchez-Magaña y col (2008) al realizar extrusión de frijol común, logrando disminuir significativamente este compuesto antinutricional.

Las saponinas son responsables del sabor amargo de las muestras que las contienen, son producidas en las hojas y semillas, y utilizadas como mecanismo de defensa contra insectos y herbívoros (Morris y Bogan 1994); también es necesario resaltar que, las saponinas son sustancias tóxicas en seres humanos, pues alteran la permeabilidad de las paredes celulares de eritrocitos produciendo hemólisis (ruptura de la membrana del eritrocito y por lo tanto liberación de hemoglobina), y como consecuencia, se produce anemia y hemoglobinuria (Cheeke 1991). Sin embargo, también presentan diversas actividades biológicas y farmacológicas como la actividad hemolítica, tensoactiva, antibacterial, antitumoral, entre otras (Hassan y col 2010). El valor encontrado para este antinutriente en la **HSMC** fue de 99.42 mg eq diosgenina/100g de muestra (bs), valores similares a los de Taiwo (2014), quienes reportaron un contenido de 33.33 mg eq diosgenina/100g en harinas de semillas de

moringa cruda. Podemos observar que la **HSMP** tiene una concentración de saponinas de 154.32 y para la **HSMEO** de 148.78 mg equivalentes de diosgenina /100 g. No se encontró diferencia significativa, entre la concentración de saponinas de la **HSMP** y **HSMEO**, esto debido a que las saponinas son compuestos termoestables que se ven afectadas en lo mínimo en procesos térmicos como la extrusión (Belmar 2001) (**Cuadro 11**).

Los taninos tienen la habilidad de formar complejos con proteínas, polisacáridos, ácidos nucleicos y esteroides. Se les atribuyen efectos benéficos para la salud debido a que poseen propiedades astringentes, antiinflamatorias, cicatrizantes, antioxidantes y antibacterianas, entre otras. Sin embargo, en altas concentraciones, pueden limitar la absorción y digestibilidad de algunos nutrientes, como es el caso del hierro y las proteínas (Velásquez, 2004). El presente estudio reveló una cantidad de 145.09 mg eq catequina/100 g para la **HSMC** similar al reportado por Taiwo (2014) para harinas de semillas de moringa cruda (131.67 mg eq catequina/100g). El contenido de taninos en la **HSMP** fue de 249.77 mg equivalentes de catequina /100 g de muestra (bs), mientras que en la **HSMEO** el contenido de este componente antinutricional fue de 198.64 mg equivalentes de catequina /100 g de muestra (bs) (**Cuadro 11**). Se puede observar que el proceso de extrusión logró una disminución de la concentración de taninos presente en la harina de semillas de Moringa prensada, posiblemente por cambios en su reactividad química o en la formación de complejos insolubles (Marzo y col 2002).

Los inhibidores de tripsina son los principales inhibidores de proteasas encontrados en los alimentos de origen vegetal, tienen la capacidad de inhibir la actividad proteolítica de enzimas digestivas (valencia 2009). La **HSMC** presentó

valores de 8.7 UIT/mg de muestra (bs), mientras que la **HSMP** presentó una actividad inhibitoria de tripsina de 11.18 UIT/mg de muestra (bs), así mismo, se pudo observar que los inhibidores de tripsina se encontraron en menor proporción ($p < 0.05$) en la **HSMEO** con 7.60 UIT/mg de muestra (bs) (**Cuadro 11**). Tendencia similar fue reportada por Valdez-Flores y col (2016) observando una disminución significativa ($p < 0.05$) de los inhibidores de tripsina (**IT**) al someter al proceso de extrusión harina de jatrofa (*Jatropha curcas*) cruda (20.20 vs 0.22 mg/g). Los **IT** producen una inhibición competitiva de esta enzima, afectando la digestión de las proteínas y de manera indirecta la utilización de la energía. La disminución de este factor antinutricional después de la extrusión se puede deber a la sensibilidad que tiene por las altas temperaturas al ser termolábil; la aplicación de tratamientos térmicos puede lograr la desactivación de los mismos.

Las lectinas o hemaglutininas se clasifican como termolábiles, es decir son muy susceptibles a su degradación si son expuestas a un proceso térmico como la extrusión (D'Mello 2000), sin embargo, en las **HSMC**, **HSMP** y **HSMEO**, mediante la técnica utilizada, no se encontró presencia alguna de lectinas.

Al igual que el ácido fítico, el ácido oxálico se une a minerales formando sales insolubles de calcio y magnesio, especialmente, reduciendo su absorción intestinal (Berdonces 1996). En el presente trabajo se encontraron valores de 49.32 mg de oxalatos/100g de muestra (bs) para la **HSMC** similares a los reportados por Igwilo (2010) con 51.24 mg de oxalatos/100g de muestra (bs) en harinas de semillas de moringa cruda. Para la **HSMP** y **HSMEO** se encontraron valores de 86.35 y 68.86 mg de oxalatos/100 g de muestra (bs), respectivamente, logrando observar una disminución ($p < 0.05$) de este antinutrimiento, que pudo haber sido provocado por los

constantes esfuerzos de cizalla y las altas temperaturas, logrando formar complejos de los mismos.

Los resultados obtenidos son de utilidad para el procesamiento de semillas de Moringa y la obtención de productos a base de la misma. Así pues, la aplicación de la tecnología de extrusión daría como resultado materias primas reducidas en taninos e inhibidores de tripsina principalmente. Sin embargo, si se desean reducir fitatos y saponinas, que se encuentran principalmente en el kernel, será necesaria la aplicación de procesos alternativos para su eliminación como la fermentación, utilización de fitasas, remojo previo de las semillas, entre otros. Es importante mencionar que en la literatura han sido reportados valores para fitatos, saponinas, taninos, inhibidores de tripsina y oxalatos de 0.435-2,600; 9.4-1,060; 34.31-241.67; 39.36-42.64; 38.33-51.24, mg/100g de muestra cruda respectivamente (Makkar y Becker 1997; Igwilo 2010; Ijarotimi 2013; Taiwo 2014; Escobar-Zúñiga 2015). Como se puede observar en el **Cuadro 11** los contenidos de factores antinutricionales en **HSMC, HSMP y HSMEO** se encuentran en los niveles bajos de los valores reportados en la literatura, es por ello podemos decir que las harinas de Moringa estudiadas en el presente trabajo de investigación pueden ser empleadas para consumo humano.

F EFECTO DE LA EXTRUSIÓN EN CONDICIONES OPTIMIZADAS SOBRE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS DE SEMILLAS DE MORINGA PRENSADA

El valor de **AAox** de harinas de semilla de Moringa prensada y extrudida optimizada (**HSMP, HSMEO**), evaluada por ABTS, fue de 6,698 y 8,909 $\mu\text{mol ET}/100\text{g}$ muestra, bs, respectivamente (**Cuadro 12**). La **AAox** de **HSMEO** fue mayor que la de

la **HSMC**. En todas las harinas la mayor contribución a la **AAox** correspondió a los fitoquímicos ligados (70.08-79.33%); la contribución de los fitoquímicos libres fue significativamente menor (20.66-29.91%). Al evaluar la **AAox** de las harinas de Moringa aplicando el método DPPH se observó una tendencia similar (**Cuadro 12**). El proceso de extrusión de semillas de Moringa, llevado a cabo bajo condiciones óptimas (**TE**=109 °C / **VT**= 65 rpm), causó un incremento en la **AAox** de semillas de Moringa prensada, al compararse con semillas de Moringa cruda, evaluada mediante el método ABTS. Esto podría ser el resultado de la combinación de diversos factores tales como: **(1)** Liberación de compuestos fenólicos con actividad antioxidante durante la extrusión, **(2)** Prevención de oxidación de compuestos fenólicos producto de la inactivación enzimática durante el tratamiento y **(3)** Presencia de productos de reacción Maillard con actividad de antioxidante, generados durante la extrusión de las materias primas que contienen aminoácidos y azúcares reductores (Espinoza-Moreno y col 2016).

Son pocos los reportes sobre optimización de extrusión de oleaginosas, Valdez-Flores y col (2016) optimizaron las condiciones del proceso de extrusión de semillas de jatrofa (*Jatropha curcas*) con la finalidad de realizar una hidrólisis enzimática y aumentar las bioactividades de los hidrolizados como la actividad antioxidante (**AAox**), concluyendo que el proceso de cocción por extrusión mejora la calidad de los alimentos, haciendo al extrudido de jatrofa una fuente adecuada de compuestos bioactivos para el desarrollo de productos nutraceuticos. Ley-Osuna y col (2018) optimizaron las condiciones de extrusión de chía para aumentar sus **CFT**,

Cuadro 12. Actividad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos totales de harinas de semilla de Moringa prensada y extrudida optimizada (**HSMC, HSMP, HSMEO**).

Propiedad	Harina de semillas de Moringa cruda (HSMC)	Harina de semillas de Moringa prensada (HSMP)	Harina de semillas de Moringa extrudida optimizada (HSMEO)
Actividad antioxidante¹			
ABTS			
Fitoquímicos libres	1135±60.86 ^c	1,384±115.14 ^b	2,665±163.59 ^a
Fitoquímicos ligados	3098±297.73 ^c	5,314±697.94 ^a	6,244±170.27 ^a
Total	4233±350.34 ^c	6,698±810.96 ^b	8,909±6.67 ^a
DPPH			
Fitoquímicos libres	127.55±9.37 ^b	142.58±15.90 ^b	198.69±1.04 ^a
Fitoquímicos ligados	230.64±20.74 ^b	445.86±47.42 ^a	410.54±4.17 ^a
Total	358.20±26.43 ^b	588.44±62.33 ^a	609.23±5.21 ^a
Compuestos fenólicos²			
Fitoquímicos libres	58.04±3.03 ^c	77.04±1.63 ^b	103.73±5.56 ^a
Fitoquímicos ligados	99.47±6.81 ^b	186.19±5.98 ^a	173.91±2.44 ^b
Total	157.52±9.77 ^c	263.23±5.69 ^b	277.65±3.11 ^a

† Los resultados se expresan como promedio ± desviación estándar; ^{a-c}medias con letra diferente en el mismo renglón son diferentes (Duncan, p<0.05); ¹ μmol Equivalentes de Trolox (ET) / 100 g muestra, bs; ² mg Equivalentes de ácido gálico (EAG) / 100 g muestra, bs.

AAox y **DPIV**, encontrando que la extrusión de esta oleaginosa bajo condiciones optimizadas aumentó su **AAox** hasta en un 21.7% evaluado mediante **ABTS**, concluyendo así que la harina de chía extrudida optimizada puede ser utilizada como ingrediente para la producción de alimentos con propiedades nutraceuticos, como tortillas funcionales de mayor valor nutricional/nutraceutico.

Para compuestos fenólicos totales **CFT**, las harinas de semilla de Moringa prensada (**HSMP**) y extrudida optimizada (**HSMEO**) presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) en la fracción de fitoquímicos libres (77.04 vs 103.73 mg EAG/100 g muestra, bs) presentando un mayor contenido la **HSMEO**; en cuanto a la fracción de fitoquímicos ligados se presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) (186.19 vs 173.91 mg EAG/100 g muestra, bs) mostrando la **HSMP** un mayor contenido de esta fracción.

Algunas oleaginosas procesadas por extrusión son las semillas de chía donde Ley-Osuna y col (2018) encontraron un aumento en el contenido de compuestos fenólicos totales del 9.56% al utilizar condiciones optimizadas de extrusión sobre harinas de semilla de chía prensada.

Se sabe que los métodos de procesamiento tienen efectos variables sobre los compuestos fenólicos totales y la actividad antioxidante de las muestras de los alimentos. Los efectos incluyen poco o ningún cambio, pérdidas significativas, o aumento de las propiedades de los antioxidantes naturales o inducir la formación de nuevos compuestos con capacidad antioxidante, de manera que la actividad antioxidante global aumenta o permanece sin cambios (Miranda y col 2010).

IX CONCLUSIONES

1. Se obtuvieron modelos matemáticos de predicción adecuados y reproducibles [nivel de significancia $p < 0.05$, $R^2_{\text{ajustada}} > 0.80$, prueba de falta de ajuste $p > 0.05$, coeficiente de varianza (CV) $< 10\%$] para cada una de las variables de respuesta estudiadas (**CFT**, **AAox**, **DPIV**).
2. La mejor combinación de variables de proceso de extrusión (**TE**, **VT**) para la producción de **HSMEO** con valores altos de **CFT** (277.6 mg EAG/100g muestra, bs), **AAox** (ABTS= 8,909 $\mu\text{mol ET}/100\text{g muestra, bs}$) y **DPIV** (76.9%) fue **TE=109°C/VT=65 rpm**.
3. La extrusión de semillas de Moringa prensada, en condiciones optimizadas, permitió producir una harina funcional [harina de semillas de Moringa extrudida optimizada (**HSMEO**)] con características nutrimentales, fisicoquímicas, nutricionales y antioxidantes aceptables.
4. La **HSMEO** presentó niveles bajos de factores antinutricionales (fitatos, saponinas, taninos, inhibidores de tripsina, lectinas y oxalatos), por lo que puede ser empleada para consumo humano.
5. La **HSMEO** puede ser utilizada como una fuente natural de proteínas, fibra dietaria y antioxidantes para el desarrollo de bebidas y alimentos funcionales.

X BIBLIOGRAFÍA

- AACC. 1995.** Approved methods of the American Association of Cereal Chemists (9th ed.). St. Paul, Minnesota: The Association.
- Abd El-Hady EA, Habiba RA. 2003.** Effect of soaking and extrusion conditions on antinutrients and protein digestibility of legume seeds. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie* 36: 285–293.
- Abdulkarim S, Long K, Lai O, Muhammad S, Ghazali H. 2005.** Some physico-chemical properties of *Moringa oleifera* seed oil extracted using solvent and aqueous enzymatic methods. *Food Chemistry* 93: 253-263.
- Adom KF, Liu RH. 2002.** Antioxidant activity of grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50:6182-6187.
- Agarwal B, Mehta A. 2008.** Antiasthmatic activity of *Moringa oleifera* Lam; a clinical study. *Indian Journal of Pharmacology* 40(1): 28-31.
- Agrodesierto. 1998.** PROGRAMAS AGROFORESTALES: *Moringa - Moringa oleifera*. <<http://www.agrodesierto.com/moringa.variedades>>. [Consulta: Marzo del 2017].
- Aguayo-Rojas J, Mora-Rochín S, Cuevas-Rodríguez EO, Serna-Saldívar SO, Gutiérrez-Urbe JA, Reyes-Moreno C, Milán-Carrillo J. 2012.** Phytochemicals and antioxidant capacity of tortillas obtained after lime-cooking extrusion process of whole pigmented Mexican maize. *Plant Foods for Human Nutrition* 67:178-185.
- Alberts, Bruce. 1992.** Biología molecular de la célula. Omega. p. 46.
- Anderson RA, Conway H, Peplinski AJ. 1970.** Gelatinization of corn grits by roll cooking, extrusion cooking and steaming. *Starch-Stärke*, 22(4), 130-135.

- Anwar F, Ashraf M, Bhangar M. 2006.** Interprovenance variation in the composition of *Moringa oleifera* oilseeds from Pakistan. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 82: 45-51.
- AOAC (Association of Analytical Chemists). 1999.** Official Methods of Analysis of AOAC International 16th ed. Gaithersburg: Ed. AOAC International.
- AOAC (Association of Analytical Chemists). 2005.** Official methods of analysis. En: Horowitz W (ed). Official methods of analysis, 18th ed. AOAC, Gaithersburg, MD.
- Arvanitoyannis IS, Van Houwelingen-Koukaliaroglou M. 2005.** Functional foods: a survey of health claims, pros and cons, and current legislation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 45(5): 385-404.
- Asare AG, Gyan B, Bugyei K, Adjei S, Mahama R, Addob P, Otu-Nyarko A, Kwame WE, Nyarko A. 2011.** Toxicity potentials of the nutraceutical *Moringa oleifera* at supra-supplementation levels. *Journal of Ethnopharmacology* 139: 265-272.
- Bailey LN, Hauck BW, Severson ES, Singer RE. 1995.** Ready-to-eat breakfast Cereal Production. En: Turner A (ed). Food Technology International Europe. London: Sterling Publications International. p. 127-32.
- Balbir M. 2005.** Trees for Life: Moringa Book. [en línea]. St Louis, EUA, <<http://www.treesforlife.org/ourwork/ourinitiatives/moringa/moringa-book>>. [Consulta: Marzo del 2017].
- Barakat H, Ghazal GA. 2016.** Physicochemical properties of *Moringa oleifera* seeds and their edible oil cultivated at different regions in Egypt. *Food and Nutrition Sciences*, 7(06), 472.
- Barrón-Yáñez MR, Villanueva-Verduzco C, García-Mateos MR, Colinas-León MT. 2009.** Valor nutricional y contenido de saponinas en germinados de huauzontle

(*Chenopodium nuttalliae* Saff.), Calabacita (*Cucurbita pepo* L.), Canola (*Brassica napus* L.) y Amaranto (*Amaranthus leucocarpus* S. Watson syn. *hypochochriacus* L.). *Revista Chapingo Serie Horticultura* 15:237-243.

Becerra N, Chaparro M. 1999. Morfología y Anatomía vegetal. Primera Edición. Santafé de Bogotá. Facultad de Ciencias Departamento de Biología, Universidad Nacional de Colombia: 1999. p. 69.

Berdonces JL. 1996. Toxicología alimentaria. *Natura Medicatrix*. Num. 44.

Belmar R. 2001. Importancia de los factores antinutricionales en la alimentación de animales no rumiantes. Universidad Autónoma de Yucatán. Facultad de Medicina Veterinaria Zootecnia. p. 34-54.

Bennett RN, Mellon FA, Foidl N, Pratt JH, Dupont MS, Perkins L, Kroon PA. 2003. Profiling glucosinolates and phenolics in vegetative and reproductive tissues of the multi-purpose trees *Moringa oleifera* L. (horseradish tree) and *Moringa stenopetala* L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51:3546-53.

Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset CLWT. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.

Brennan C, Brennan M, Derbyshire E, Tiwari B. 2011. Effects of extrusion on the polyphenols, vitamins and antioxidant activity of foods. *Trends in Food Science and Technology* 22:570-575.

Cabrera-Canales ZE, Acevedo-Sandoval OA, Navarro-Cortez RO, Falfán-Cortés RN, Castro-Rosas J, Gómez-Aldapa CA. 2016. Elaboración de un cereal para desayuno a base de maíz azul (*Zea Mays* L) y amaranto (*Amaranthus spp*). *Investigación y desarrollo en ciencia y tecnología de alimentos*. 1:756-761.

- Caceres A, Freire Giron L Aviles O, Pacheco G. 1991.** Estudio etnobotánico de Guatemala de *Moringa oleifera* Lam. Centro mesoamericano para estudio de tecnología apropiada CEMAT. Economic botanic 1991 45(4): 522 – 523.
- Cagigas ME, Vázquez E, Blanco G, Sánchez JA. 2002.** Phylogeographical lineages in brown trout (*Salmo trutta*): investigating microgeographical differentiation between native populations from Northern Spain. *Freshwater Biology*, 47(10), 1879-1892.
- Camire ME. 2002.** Extrusión y calidad nutritiva. En: Guy R. Extrusión de los alimentos. Zaragoza, España. Editorial ACRIBIA, S.A. p. 107-127.
- Camire ME, Dougherty MP, Briggs JL. 2005.** Antioxidant-rich foods retard lipid oxidation in extruded corn. *Cereal Chemistry* 82:666-670.
- Canett-Romero R, Arvayo-Mata K, Ruvalcaba-Garfias N. 2014.** Aspectos Tóxicos más relevantes de *Moringa oleifera*/XVI (2): 36-43.
- Castillo-Lopez RI, Leon-Felix J, Angulo-Escalante MA, Gutierrez-Dorado R, Mui-Rangel MD, Heredia JB. 2017.** Nutritional and phenolic characterization of *Moringa oleifera* leaves grown in Sinaloa, Mexico. *Pak. J. Bot.*, 49: 161-168.
- CEMAT - Centro Mesoamericano de estudios sobre tecnología apropiada. 1989.** Evaluación de la aplicación de *Moringa oleifera* en la purificación de agua y fitoterapia. Sociedad alemana de Cooperación Técnica, Guatemala. Ficha informativa No. 1.
- Cerón-Fernandez CL, Guerra-Morcillo LV, Legarda-Quintero JA, Enríquez-Collazos MG, Pismag-Portilla YA. 2016.** Efecto de la extrusión sobre las características físico-químicas de harina de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd). *Bioteología en el sector Agropecuario y Agroindustrial*, 14(2), 92-99.

- Cerrato I. 2014.** Cultivo de moringa. Programa Nacional De Desarrollo Agroalimentario. [Enlínea]. pronagro.sag.gob.hn/dmsdocument/298 [Consultado Marzo del 2017].
- Chandrasekara A, Shahidi F. 2010.** Content of insoluble bound phenolics in millets and their contribution to antioxidant capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58:6706–6714.
- Chattopadhyay S, Maiti S, Maji G, Deb B, Pan B, Ghosh D. 2011.** Protective role of *Moringa oleifera* (Sajina) seed on arsenic-induced hepatocellular degeneration in female albino rats. *Biological trace element research*, 142(2), 200-212.
- Cheeke P. 1991.** Nutritional and physiological implications of saponins: a review. *Canadian J. Animal Sci.* 51(3): 631-632.
- Chen H, Qiu W. 2010.** Key Technologies for bioethanol production from lignocelluloses. *Biotechnology Advances* 28: 566-562.
- Chessari CJ, Sellahewa JN. 2001.** Effective Process Control. En: “Extrusion Cooking -Technologies and Applications”. Guy R (ed), Woodhead Publishing, Cambridge, 83-107.
- Colmenares de Ruiz AS, Bressani R. 1990.** Effect of germination on the chemical composition and nutritive value of amaranth grain. *Cereal Chemistry* 67:519-522.
- Compaoré WR, Nikièma PA, Bassolé HIN, Savadogo A, Mouecoucou J, Hounhouigan DJ, Traoré SA. 2011.** Chemical composition and antioxidative properties of seeds of *Moringa oleifera* and pulps of *Parkia biglobosa* and *Adansonia digitata* commonly used in food fortification in Burkina Faso. *Curr Res J Biol Sci*, 3(1): 64-72.

- Contreras-Jiménez B, Morales-Sanchez E, Reyes-Vega ML, Gaytán-Martínez M. 2014.** Propiedades funcionales de harinas de maíz nixtamalizado obtenidas por extrusión a baja temperatura. *CyTA-Journal of Food*, 12(3), 263-270.
- Cordero A. 1978.** Manual de medicina domestica; plantas dominicanas 2ed. Santo domingo, 490 pp.
- Cornejo-Sánchez VM, Paredes-Acevedo SE. 2011.** *Evaluación de bloques multinutricionales con tres niveles de follaje de terebinto (Moringa oleifera) como fuente proteica, en el desempeño reproductivo de conejas de la raza Neozelandés*(Doctoral dissertation, Universidad de El Salvador).
- Corrales-Bañuelos AB, Cuevas-Rodríguez EO, Gutiérrez-Irribé JA, Milán-Noris EM, Reyes-Moreno C, Milán-Carrillo J, Mora-Rochín S. 2016.** Carotenoid composition and antioxidant activity of tortillas elaborated from pigmented maize landraces by traditional nixtamalization or lime cooking extrusion process. *Journal of Cereal Science* 69:64-70.
- Dastur JF. 1970.** Medicinal plants of india of pakistan. India Teraporevala D.B. Sons& Co, 212 pp.
- D'Mello JPF. 2000.** Anti-nutritional substances in legumes seeds. In: Tropical Legumes in Animal Nutrition. CAB International. U.K. pp 135-165.
- De la Barca AC, Vázquez-Moreno L, Robles-Burgueno MR. 1991.** Active soybean lectin in foods: isolation and quantitation. *Food chemistry*, 39(3), 321-327.
- De la Mora-López GS, López-Cervantes J, Gutiérrez-Dorado R, Cuevas-Rodríguez EO, Milán-Carrillo J, Sánchez-Machado DI, Reyes-Moreno C. 2018.** Effect of Optimal Germination Conditions on Antioxidant Activity, Phenolic

Content and Fatty Acids and Amino Acids Profiles of Moringa Oleifera Seeds. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 17(2), 547-560.

Dehghan-Shoar Z, Hardacre AK, Brennan CS. 2010. The physicochemical characteristics of extruded snacks enriched with tomato lycopene. *Food Chemistry* 123:1117-1122.

Design Expert. 2007. Versión 7.0.0. Stat.Ease. Minneapolis, MN, USA, Design Expert Inc.

Dewanto V, Wu X, Liu RH. 2002. Processed sweet corn has higher antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50:4959-4964.

Dueñas M, Hernández T, Estrella I, Fernández D. 2009. Germination as a process to increase the polyphenol content and antioxidant activity of lupin seeds (*Lupinus angustifolius* L.). *Food Chemistry* 117:599–607.

Elizalde AD, Porrilla YP, Chaparro DC. 2009. Factores antinutricionales en semillas. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Vol. 7 (1): 45-54.

Eltayeb ARS, Ali AO, Abou-Arab AA, Abu-Salem FM. 2011. Chemical composition and functional properties of flour and protein isolate extracted from Bambara groundnut (*Vigna subterranean*). *African Journal of Food Science*, 5(2), 82-90.

Escobar-Zúñiga Y, Cuevas-Rodriguez EO, León-López L. 2015. Determinación de la composición químico-nutricional y factores antinutrimientales en semillas y fracciones de Moringa (*Moringa oleifera*)[Tesis de licenciatura]. Universidad Autónoma de Sinaloa. 99 p.

Espín JC, García-Conesa MT, Tomás-Barberán FA. 2007. Nutraceuticals: Facts and fiction. *Phytochemistry* 68:2986–3008.

- Espíndola E. 2007.** Adaptación de la Moringa en la zona de Galán, Santander. Proyecto de grado, UNIPAZ. Ingeniero Agrónomo Jefe División Agrícola Distraves S. A.
- Espinoza-Moreno RJ, Reyes-Moreno C, Milán-Carrillo J, López-Valenzuela JA, Paredes-López O, Gutiérrez-Dorado R. 2016.** Healthy ready-to-eat snack with high nutritional and antioxidant value produced from whole amarantin transgenic maize and common bean. *Plant Foods for Human Nutrition* 71:218-224
- Falasca S. Bernabé MA. 2008.** Potenciales usos y delimitación del área de cultivo de *Moringa oleifera* Lam. En Argentina. Revista virtual REDESMA, (Red de Desarrollo Sostenible y Medio Ambiente). Vol. 3.
- FAO. 2005.** Nutrientes en los alimentos. <<http://www.fao.org/3/a-y5740s/y5740s16.pdf>> [Consulta: Marzo del 2017].
- FAO. 2010.** Alimentar la mente para crecer y vivir sanos. <<http://www.fao.org/docrep/013/am288s/am288s00.pdf>> [Consultado: Marzo del 2017].
- FAO. 2017.** *Moringa, Cultivo tradicional del mes.* < <http://www.fao.org/traditional-crops/moringa/es/>>. [Consulta: Marzo del 2017].
- Fares C, Menga V. 2012.** Effects of toasting on the carbohydrate profile and antioxidant properties of chickpea (*Cicer arietinum* L) flour added to durum wheat. *Food Chemistry* 131:1140-1148.
- Fellows PJ. 2009.** Food Processing Technology - Principles and Practice (3rd Edition) Woodhead Publishing 457-75.
- Fennema OR. 2001.** Química de los alimentos (2nd Ed). Editorial Acribia.

- Fennema OR. 2010.** Química de los Alimentos. 3ra edición. Editoria Acribia, Zaragoza, ESPAÑA, pp1166.
- Ferrazzano GF, Amato I, Ingenito A, Zarrelli A, Pinto G, Pollio A. 2011.** Plant polyphenols and their anti- cariogenic properties: A review. *Molecules* 16:1486-507.
- Foidl, N, Mayorga, L, Vásquez W. 1999.** *Utilización del Marango (Moringa oleifera) como forraje fresco para el ganado.* Conferencia electrónica de la FAO sobre Agroforestal para la producción animal en América Latina.
- Folkard G, Sutherland J. 1996.** *Moringa oleifera* un árbol con enormes potencialidades. Agroforestería en las américas. Turrialba, Costa Rica. Vol. 8(3): 23-27.
- Froes-Gomes LO, Cardoso-Santiago RA, Carvalho AV, Nunes-Carvalho R, de Oliveira IG, Zaczuk-Bassinello P. 2015.** Application of extruded broken bean flour for formulation of gluten-free cake blends. *Food Science and Technology* 35: 307-313.
- Fuglie LJ. 1999.** *The miracle tree: The multiple attributes of moringa.* Technical Centre for Agricultural and Rural Cooperation, Wageningen/ Church World Service, New York.172 p.
- Fuglie LJ. 2001.** The miracle tree: The multiple attributes of moringa. Technical Centre for Agricultural and Rural Cooperation, Wageningen/ Church World Service, New York. 172 p.
- Gajewski M, Danilcenko H, Taraseviciene Z, Szymczak P, Seroczyńska A, Radzanowska J. 2008.** Quality characteristics of fresh plant sprouts and after their short-term storage. *Vegetable Crops Research Bulletin*, 68, 155-166.

- Garzón-Tiznado J, Heiras-Palazuelos M, Espinoza-Moreno R, Cano-Campos M, Delgado-Vargas F, Gutiérrez-Dorado R. Milán-Carrillo J, Reyes-Moreno C. 2013.** Antioxidant and antimutagenic activities of optimized extruded desi chickpea (*Cicer arietinum* L) flours. *Journal of Pharmacy and Nutrition Sciences* 3:38-47.
- Godino García M. 2016.** *Moringa oleifera*: árbol multiusos de interés forestal para el sur de la península ibérica. Universidad Politécnica de Madrid. Dpto. de Ingeniería y Gestión Ambiental.
- Gómez-Mitjans D, Pita-Bravo V, Zumalacárregui de Cárdenas B. 2016.** Caracterización de aceites de las semillas de *Moringa oleifera* a partir de la extracción por diferentes métodos. *Revista colombiana de Biotecnología*, 18(2).
- Govardhan SR, Pradeep SN, Radha C. 2013.** Phenolic composition, antioxidant and antimicrobial activities of free and bound phenolic extracts of *Moringa oleifera* seed flour. *Journal of Functional Foods* 5:1883–1891.
- Gray J. 2006.** Fibra dietética. Definición, análisis, fisiología y salud. International Life Science Institute Europe 5-24.
- Guerrero BG, Quintero AF. 2015.** Estabilización del salvado de arroz: Tratamiento térmico por extrusión para inactivación enzimática (lipasas). *Alimentos Hoy*, 23(36), 88-96.
- Gupta K, Wagle DS. 1988.** Nutritional and antinutritional factors of green leafy vegetables. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 36:472–474.
- Guy R. 2001.** Snack Foods. En: “Extrusion Cooking Technologies and Applications”, Woodhead Publishing Ltd, Cambridge, UK, pp 161-81.

- Hamaker BR, Mertz ET, Axtell JD. 1994.** Effect of extrusion on sorghum kafirin solubility. *Cereal Chem.* 71, 515–517.
- Harper JM. 1988.** Effects of Extrusion Processing on Nutrients. En: “Nutritional Evaluation of Food Processing”, Karmas E, Harris RS (ed), pp 360-65.
- Hassan M, Haq UA, Byrd JA, Berhow MA, Cartwright AL, Bailey CA. 2010.** Haemolytic and antimicrobial activities of saponin-rich extracts from guar meal. *Food Chemistry*, 119, 600–605.
- Hiai S, Oura H, Nakajima T. 1976.** Color reaction of some sapogenins and saponins with vanillin and sulfuric acid. *Planta Medica*, 29(02), 116-122.
- Hirth M, Preib R, Mayer-Miebach E, Schuchmann HP. 2015.** Influence of HTST extrusion cooking process parameters on the stability of anthocyanins, procyanidins and hydroxycinnamic acids as the main bioactive chokeberry polyphenols. *LWT - Food Science and Technology*, 511-516.
- Igwilo IO, Ezeonu FC, Udedi SC, Okonkwo CJ, Ozumba NA. 2010.** Nutrient composition, protein quality and anti-nutritional factors in the seeds of *Moringa oleifera* grown in Awka, Anambra state, Nigeria. *Nat. Prod. Indian J*, 6, 167-171.
- INIFAP (Instituto Nacional de Investigación Forestales, Agrícolas y Pecuarias) en el Centro de Investigación Regional del Pacífico Sur. 2011.** *Moringa oleifera*: una especie vegetal con potencial de uso en México. Campo experimental Rosario Izapa, Desplegable Informativo Núm. 10.
- INCAP - Instituto de Nutrición de Centroamérica y Panamá. 2006.** Informes del Laboratorio de Composición de Alimentos.
- Isaza JH. 2007.** Taninos o polifenoles vegetales. *Scientia et Technica*, 1(33).

- Jeong SM, Kim SY, Kim DR, Nam KC, Ahn DU, Lee SC. 2004.** Effect of seed roasting conditions on the antioxidant activity of defatted sesame meal extracts. *Journal of Food Science* 69:C377–C381.
- Jin Z, Hsieh F, Huff HE. 1994.** Extrusion cooking of corn meal with soy fiber, salt, and sugar. *Cereal Chem.* 71 (3): 227-234.
- Kakade ML, Rackis JJ, McGhee JE, Puski G. 1974.** Determination of trypsin inhibitor activity of soy products: a collaborative analysis of an improved procedure. *Cereal Chem.*, 51: 376-382.
- Kaur C, Kapoor HC. 2001.** Antioxidants in Fruits and Vegetables - The Millennium's Health. *International Journal of Food Science and Technology* 36:703-725.
- Kaur S, Sharma S, Singh B, Dar BN. 2013.** Effect of extrusion variables (temperature, moisture) on the antinutrient components of cereal brans. *Journal of Food Science and Technology* 1-7.
- Killeit U. 1994.** Vitamin retention in extrusion cooking. *Food chem.* 49 (2): 149-155.
- Kim HG, Kim GW, Oh H, Yoo SY, Kim YO, Oh MS. 2011.** Influence of roasting on the antioxidant activity of small black soybean (*Glycine max* L. Merrill). *LWT – Food Science and Technology* 44:992–998.
- King J. 1991.** The Genetic Basis of the Plant Physiological Processes. Oxford University Press. New York, NY, EUA, pp: 347-393.
- Korus J, Gumul D, Czechowska K. 2007.** Effect of extrusion on the phenolic composition and antioxidant activity of dry beans of *Phaseolus vulgaris* L. *Food Technology and Biotechnology* 45:139–146.
- Legaria-Solano J, Ponce-Romero G, Muñoz-Orozco A. 2000.** Efecto del estrés osmótico sobre la germinación de las semillas y el crecimiento de plántulas de

trigo (*Triticum aestivum* L.) y amaranto (*Amaranthus hypochondriacus* L.).
Revista Fitotécnica Mexicana 23:153- 166.

Ley-Osuna AH, Reyes-Moreno C, Milán-Carrillo J, Cuevas-Rodríguez EO, Perales-Sánchez JXK, Gutiérrez-Dorado R. 2018. Enhancing functionality with improved antioxidant activity of chía (*Salvia hispanica* L) seeds by optimizing the extrusion conditions. *Plant Foods for Human Nutrition*, 72(4), 345-352.

Li S, Zhang Q. 2001. Advances in the development of functional foods from buckwheat. *Critical Reviews in Food Sciences and Nutrition* 41:451-464.190.

Liñán Tobías, F. 2010. *Moringa oleifera*, el árbol de la nutrición. Ciencia y salud virtual. Vol. 2 No.1.

Liu RH. 2004. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: Mechanism of action. *The Journal of Nutrition* 134:3479S-3485S.

Liu RH. 2007. Whole grain phytochemicals and health. *Journal of Cereal Science* 46:207-219.

Makkar HPS, Becker K. 1997. Adaptation of cattle to tannins: rôle of proline-rich proteins in oak-fed cattle. *Animal Science* 67: 02, 277-281.

Mallillin CA, Trinidad PT, Sagum SR, de Leon PM, Borlagdan PM, Baquiran FPA, Alcantara SJ, Aviles FT. 2014. Mineral Availability and Dietary Fiber Characteristics of *Moringa oleifera*. *Food and Public Health*. 4(5): 242-246.

Martín-Cabrejas MA, Jaime L, Karanja C, Downie AJ, Parker ML, López-Andreu FJ, Maina G. Esteban RM, Smith AC, Waldron KW. 1999. Modifications to physicochemical and nutritional properties of Hard-to-cook beans (*Phaseolus vulgaris* L.) by extrusión cooking.

- Marzo F, Alonso R, Urdaneta E, Arricibita FJ, Ibáñez F. 2002.** Nutritional quality of extruded kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L. var. Pinto) and its effects on growth and skeletal muscle nitrogen fractions in rats. *J Anim Sci.* 80:875-879.
- Mendoza-Sánchez M, Guevara-gonzález R, Castaño-Tostado E, Mercado-Silva EM, Acosta-Gallegos JA, Rocha-Guzmán NE, Reynoso-Camacho R. 2016.** Effect of chemical stress on germination of cv Dalia bean (*Phaseolus vulgaris* L.) as an alternative to increase antioxidant and nutraceutical compounds in sprouts. *Food Chemistry* 212:128–137.
- Mercier C, Feillet P. 1975.** Modification of carbohydrate components by extrusion cooking of cereal products. *Cereal Chemistry* 52:283–297.
- Milán-Carrillo J, Reyes-Moreno C, Armenta-Rodelo E, Carábez-Trejo A, Mora-Escobedo R. 2000.** Physicochemical and nutritional characteristics of extruded flours from fresh and hardened chickpeas (*Cicer arietinum* L). *LWT – Food Science and Technology* 33:17-123.
- Milán-Carrillo J, Gutiérrez-Dorado R, Perales-Sánchez JXK, Cuevas-Rodríguez EO, Ramírez-Wong B, Reyes-Moreno C. 2006.** The optimization of the extrusion process when using maize flour with a modified amino acid profile for making tortillas. *International journal of food science & technology*, 41(7), 727-736.
- Milán-Carrillo J, Montoya-Rodríguez A, Reyes-Moreno C. 2012.** High Antioxidant Capacity Beverages from Roasted and Extruded Amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) flours. En: “Hispanic Foods: Chemistry and Bioactive Compounds”, Chapter 13, Tunick M y De Mejía-González E (ed), ACS Symposium Series, *American Chemical Society*, Washington, DC, USA, pp 199-216.

- Miranda M, Vega-Gálvez A, López J, Parada G, Sanders M, Aranda M, Uribe E, Di Scala K. 2010.** Impact of air-drying temperature on nutritional properties, total phenolic content and antioxidant capacity of quinoa seeds (*Chenopodium quinoa Willd*). *Industrial Crops and Products* 32:258-263.
- Moghadasian MH, Frohlich JJ. 1999.** Effects of dietary phytosterols on cholesterol metabolism and atherosclerosis: clinical and experimental evidence. *The American journal of medicine*, 107(6), 588-594.
- Montaño MHF. 2014.** Producción de Bioetanol a Partir de Material Lignocelulósico de *Moringa oleifera*. Universidad Nacional de Colombia 14-17.
- Montoya-Rodríguez A, de Mejía EG, Dia VP, Reyes-Moreno C, Milán-Carrillo J. 2014.** Extrusion improved the anti-inflammatory effect of amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) hydrolysates in LPS-induced human THP-1 macrophage-like and mouse RAW 264.7 macrophages by preventing activation of NF- κ B signaling. *Molecular nutrition & food research*, 58(5), 1028-1041.
- Mora-Escobedo R, Paredes-López O, Gutiérrez-López GF. 1994.** Effect of germination on the rheological and functional properties of amaranth seeds. *LWT – Food Science and Technology* 24:241-244.
- Morris DM, Bogán M. 1994.** Bases bioquímicas y morfológicas de la resistencia. En: Mejoramiento de plantas resistentes a insectos. México: Editorial Musa S.A. 386 pp.
- Mussato SI, Ballesteros LF, Martins S, Teixeira JA. 2012.** Use of Agro-Industrial Wastes in Solid-State Fermentation Processes. En: "Industrial Waste". Kuan YS, Xinxin G (ed), ISBN: 978-953-51-0253-3, InTech, Disponible en:

<http://www.intechopen.com/books/industrial-waste/use-of-agro-industrial-wastes-in-solid-state-fermentation-processes>. Consultado en Marzo de 2016.

Nelson AI, Wijeratne WB, Yeh SW, Wei TM, Wei LS. 1987. Dry extrusión as an aid to mechanical expelling of oil from soybeans. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 64 (9): 1341-1347.

Nicoli MC, Anese M, Parpinel M. 1999. Influence of processing on the antioxidant properties of fruit and vegetables. *Trends in Food Science and Technology* 10:94–100.

Nzikou J, atos L, Moussounga J, Ndangui C, Kimbonguila A, Silou T, Linder M, Desobry S. 2009. Characterization of *Moringaoleifera* seed oil variety Congo Brazzaville. *Journal of Food Technology*, 7(3): 59-65.

Odee D. 1998. Forest biotechnology research in drylands of Kenya: the development of *Moringa* species. *Dryland Biodivers.* 2:7-8.

Ogunsina BS, Indira TN, Bhatnagar AS, Radha C, Debnath S, Krishna AG. 2014. Quality characteristics and stability of *Moringa oleifera* seed oil of Indian origin. *Journal of food science and technology*, 51(3), 503-510.

Oliveira JTA, Silveira SB, Vasconcelos KM, Cavada BS, Moreira RA. 1999. Compositional and nutritional attributes of seeds from the multiple purpose tree *Moringa oleifera* Lamarck. *Journal Science of Food and Agriculture* 79(6):815-20.

Oliver-Bever B. 1983. Medicinal plants in tropical West Africa. III. Anti-infection therapy with higher plants. *J Ethnopharmacol* 1983 Nov; 9: 1-83.

Olson EM, Alvarado-Cárdenas LO. 2016. ¿Dónde cultivar el árbol milagro, *Moringa oleifera*, en México? Un análisis de su distribución potencial. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 87: 1089–1102.

- Olson EM, Fahey WJ. 2011.** *Moringa oleifera*: un árbol multiusos para las zonas tropicales secas. México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 82: 1071-1082.
- Olson ME. 2002.** Combining data from DNA sequences and morphology for a phylogeny of Moringaceae. *Systematic Botany* 27:55-73.
- Omobolanle O, James SO, Ocheme B, Chiemela E, Eleojo Akpa V. 2015.** Effects of fermentation time on the functional and pasting properties of defatted *Moringa oleifera* seed flour. *Food Science & Nutrition*; 4(1): 89–95.
- Ordorica-Falomir C. 1988.** Obtención de aislados proteicos por micelización y precipitación isoeléctrica a partir de pastas de cártamo. *Preparation of protein isolates by micellization and isoelectric precipitation procedures from safflower meals*). PhD thesis, Unidad Irapuato, CIEA-IPN, Irapuato, Mexico.
- Padilla C, Fraga N, Suárez M. 2012.** Efecto del tiempo de remojo de las semillas de moringa (*Moringa oleifera*) en el comportamiento de la germinación y en indicadores del crecimiento de la planta *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, vol. 46, núm. 4, pp. 419-421.
- Paredes-López O, Harry GI. 1989.** Changes in selected chemical and antinutritional components during tempeh preparation using fresh and hardened common beans. *Journal of Food Science* 54: 968-970.
- Parrotta John AR. 2003.** Árbol de rábano, *Moringa oleifera* Lam. Fruit-bearing forest trees: technical notes. FAO. For. Pap. 34. Lahjie, AM; Seibert, B. 1987. Kelor or horse radish tree (*Moringa oleifera* Lam.). A report from East Kalimantan. German Forestry Group, Mulawarman University; GFG Rep.

- Pérez A, Sánchez T, Armengol N, Reyes F. 2010.** Características y potencialidades de *Moringa oleifera*, Lamark. Una alternativa para la alimentación animal. *Pastos y Forrajes*, Cuba. 33 (4).
- Pérez, R. 2011.** *Moringa oleifera*: una alternativa forrajera para ovinos. Fundación Produce Sinaloa AC. Universidad Autónoma de Sinaloa. 21 p.
- Ramachandran C, Peter KV, Gopalakrishnan PK. 2006.** Drumstick (*Moringa oleifera*) a multipurpose indian vegetable. *Economic Botany*, 34(3): 276-283.
- Rathod RP, Annapure US. 2016.** Effect of extrusion process on antinutritional factors and protein and starch digestibility of lentil splits. *LWT-Food Science and Technology*, 66, 114-123.
- 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 and medicine*, 26(9-10), 1231-1237.
- Reyes, Sánchez GN. 2004.** Marango cultivo y utilización en la alimentación animal. Serie técnica N° 5. UNA, Universidad Nacional Agraria Nicaragua. Dirección de Investigación, Extensión y Postgrado (DIEP).
- Reyes-Moreno C, Milán-Carrillo J, Rouzaud-Sandez O, Garzón-Tiznado JA, Mora Escobedo R. 2002.** Descascarillado/suavisación/extrusión (DSE): alternativa tecnológica para mejorar la calidad nutricional del garbanzo la calidad nutricional del garbanzo (*Cicer arietinum* L.). *Agrociencia*, 36(2).
- Reyes-Moreno C, Argüelles-López OD, Rochín-Medina JJ, Milán-Carrillo J, Rivera-López J, Valdez-Ortiz A, López-Valenzuela JA, Gutiérrez-Dorado R. 2012.** High antioxidant activity mixture of extruded whole quality protein maize and common bean flours for production of a nutraceutical beverage elaborated

with a traditional Mexican formulation. *Plant Foods for Human Nutrition* 67:450–456.

Riaz M, Asif M, Ali R. 2009. Stability of vitamins during extrusion. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 49:361-368.

Riaz MN. 2002. Selección del extrusor correcto. En: Guy R. Extrusión de los alimentos. Zaragoza, España. Editorial ACRIBIA, S.A. p. 29-50.

Robledo-Olivo A, Aguilar CN, Montañez-Sáenz JC. 2012. Uso del olote de maíz como sustrato microbiano para la obtención de xilanasas. *Acta Química Mexicana*. Vol. 4 No. 7.

Rochín-Medina JJ, Gutiérrez-Dorado R, Sánchez-Magaña LM, Milán-Carrillo J, Cuevas-Rodríguez EO, Mora-Rochín S, Valdez-Ortiz A, Reyes-Moreno C. 2015. Enhancement of nutritional properties, and antioxidant and antihypertensive potential of black common bean seeds by optimizing the solid state bioconversion process. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 66:498-504.

Rodríguez-Miranda J, Delgado-Licon E, Hernández-Santos B, Reyes-Jaquez D, Aguilar-Palazuelos E, Medrano-Roldan H, Navarro-Cortez RO, Castro-Rosas J, Gómez-Aldapa CA. 2012. The effect of pregelatinized potato starch on the functional properties of an extruded aquafeed. *Journal of Animal Production Advances* 2: 335-344.

Sala R, Barroeta AC. 2003. *Manual de microscopía de piensos*. Universidad Autónoma de Barcelona. 122: 39-42.

Sánchez-Magaña LM, Bernal-Parra A, Gutierrez-Dorado R, Rodríguez EO, Mora-Rochín S, Reyes-Moreno C, Milán-Carrillo J. 2008. Efectos de la tecnología

de extrusión-cocción sobre antinutrientes y valor nutricional de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L). *La Investigación Científica, Tecnológica y Social en la UAS*, 409.

Sánchez-Magaña LM, Cuevas-Rodríguez EO, Gutiérrez-Dorado R, Ayala-Rodríguez AE, Valdez-Ortiz A, Milán-Carrillo J, Reyes-Moreno C. 2014. Solid-state bioconversion of chickpea (*Cicer arietinum* L.) by *Rhizopus oligosporus* to improve total phenolic content, antioxidant activity and hypoglycemic functionality. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 65:558-564.

Sánchez-Peña YA, Martínez-Ávila GCG, Sinagawa-García SR, Vázquez-Rodríguez JA. 2013. Moringa oleífera; importancia, funcionalidad y estudios involucrados. *Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila*, 5(9), 25-30.

Sandrin R, Caon T, Zibetti AW, Alicia de Francisco. 2018. Effect of extrusion temperature and screw speed on properties of oat and rice flour extrudates. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 98: 3427–3436.

Sathe SK, Salunkhe DK. 1981. Functional properties of the great northern bean (*Phaseolus vulgaris* L) proteins: emulsion, foaming, viscosity, and gelation properties. *Journal of Food Science* 46:71-76.

Serna-Saldívar SO, Canett R, Vargas J, Gonzales M, Bedolla S, Medina C. 1988. Effect on value of maize and decorticated sorghum tortillas produced by extrusión-cooking. *Cereal Chemistry* 65:44-48.

Serrano J, Goñi I. 2004. Papel del frijol negro *Phaseolus vulgaris* en el estado nutricional de la población guatemalteca. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 54 (1): 36-44.

- Shahidi F, Naczk M. 1995.** Food Phenolics. Lancaster, USA: Technomic Publishing Co., Inc.
- Shi J, Mazza G, Le Maguer M. 2002.** Functional Foods: Biochemical and Processing Aspects. CRC Press Boca Raton, FL, EUA, pp 432, ISBN: 9781566769020 - CAT# TX69027.
- Silva-Jaimes MI, Cibej-López FE, Salvá-Ruíz B, Guevara-Pérez A, Pascual-Chagman G. 2018.** Efecto del desamargado de la torta de semilla de moringa (*Moringa oleifera*) sobre su composición proximal y su perfil nutricional y toxicológico. *Scientia Agropecuaria*, 9(2), 247-257.
- Singh S, Gamlath S, Wakeling L. 2007.** Nutritional aspects of food extrusion: a review. *Int J Food Sci Technol*. 42(8):916-929.
- Singh B. 2009.** Oxidative DNA damage protective activity, antioxidant and anti-quorum sensing potentials of *Moringa oleifera*. *Food Chemistry Toxicology*, 47:1109.
- Singh J, Dartois A, Kaur L. 2010.** Starch digestibility in food matrix: A review. *Trends in Food Science and Technology* 21:168-180.
- Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventós RM. 1999.** Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In *Methods in enzymology* (Vol. 299, pp. 152-178).
- Spencer JPE. 2008.** Food for thought: The role of dietary flavonoids in enhancing human memory, learning and neuro-cognitive performance. *Proceedings of the Nutrition Society* 67:238-52.
- Stangl V, Lorenz M, Stangl K. 2006.** The role of tea and tea flavonoids in cardiovascular health. *Molecular Nutrition and Food Research* 50:218-28.

- Stuardo M, San Martín R. 2008.** Antifungal properties of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) alkali treated saponins against *Botrytis cinerea*. *Industrial Crops and Products* 27:296-302.
- Sundarrajan Lakshminarasimhan, H. 2014.** Department of Food and Environmental Sciences EKT Series 1632 Effect of extrusion cooking on the nutritional properties of amaranth, quinoa, kañiwa and lupine. University of Helsinki.
- Telma JR. 2011.** Espacio telmar: Moringa (*Moringa oleifera*) [En línea] <https://telmajr.wordpress.com/2011/04/29/moringa-moringa-oleifera/> [Consultado en Marzo del 2017].
- Taiwo Olagbemid P, Philip CNA. 2014.** Proximate analysis and chemical composition of raw and defatted Moringa oleifera kernel. *Advances in Life Science and Technology*, 24, 92-99.
- Tharise N, Julianti E, Nurminah M. 2014.** Evaluation of physico-chemical and functional properties of composite flour from cassava, rice, potato, soybean and xanthan gum as alternative of wheat flour. *International Food Research Journal* 21: 1641-1649.
- Thomas L, Larroche C, Pandey A. 2013.** Current developments in solid-state fermentation. *Biochemical Engineering Journal* 81:146– 161.
- Trugo. 2004.** Lupin breeding, Encyclopedia of Seed Science. pp: 174-181. Universidad Autonoma de Sinaloa y Fundación Produce Sinaloa A.C.
- Vaintraub IA, Lapteva NA. 1988.** Colorimetric determination of phytate in unpurified extracts of seeds and the products of their processing. *Analytical Biochemistry*, 175(1), 227-230.

- Valdez-Flores M, Germán-Báez LJ, Gutiérrez-Dorado R, Medina-Godoy S, Norzagaray-Valenzuela C, Hernández-Verdugo S, Reyes-Moreno C, Valdez-Ortiz A. 2016.** Improving bioactivities of *Jatropha curcas* protein hydrolysates by optimizing with response surface methodology the extrusion cooking process. *Industrial Crops and Products* 85:353-360.
- Valencia B. 2009.** Evaluación técnica financiera de la industrialización del garbanzo (*Cicer Arietinum*) Usando un Proceso Extrusión. Quito. Escuela Politécnica Nacional. Pp.10-18.
- Valls PA. 1993.** El proceso de extrusión en cereales y habas de soja: I. Efecto de la extrusión sobre la utilización de nutrientes. IX Curso de Especialización FEDNA. Barcelona, España.
- Van der Poel AFB. 1990.** Effect of processing on antinutritional factors and protein nutritional value of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). A review. *Anim. Feed Sci. Tech.* 29: 179-208.
- Van Dokkum W, Frølich W, Saltmarsh M, Gee J. 2008.** The health effects of bioactive plant components in food: Results and opinions of the USA COST 926 action. *Nutrition Bulletin* 33:133-139.
- Velásquez AM. 2004.** “Extracción de taninos presentes en el banano verde”. *Revista Lasallista de Investigación* 1(2): 17-22.
- Wang S, Casulli J, Bouvier JM. 1993.** Effect of dough ingredients on apparent viscosity and properties of extrudates in twin-screw extrusion cooking. *International J. Food Sci. Technol.* 28 (5): 465-479.

- Welham T, Domoney C. 2000.** *Temporal and spatial activity of a promoter from a pea enzyme inhibitor gene and its exploitation for seed quality improvement.* *Plant Sci.*, 159: 289-299.
- Xu BJ, Chang SKC. 2007.** A comparative study on phenolic profiles and antioxidant activities of legumes as affected by extraction solvents. *Journal of food science*, 72(2), S159-S166.
- Zhao X, Wei Y, Wang Z, Chen F, Ojokoh AO. 2011.** Reaction kinetics in food extrusion: methods and results. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 51:835–854.
- Zilic S, Mogol BA, Akillioglu G, Serpen A, Delic N, Gokmen V. 2014.** Effects of extrusion, infrared and microwave processing on Maillard reaction products and phenolic compound in soybean. *Journal of Science Food in Agricultural*, 94: 45-51.

Abreviaturas

α	Alfa
AAPH	2-2'-Azobis-aminopropano
AAox	Actividad antioxidante
Abs	Absorbancia
ABTS	2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-ácido sulfónico)
ADN	Ácido desoxiribonucleico
AACC	American Association of Cereal Chemists
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
ATC	Ácido tricloroacético
AGPI	Ácidos grasos poliinsaturados
β	Beta
bs	Base seca
C	Carbono
CAA	Capacidad de absorción de aceite
CH	Contenido de humedad
CV	Coeficiente de variación
CFT	Compuestos fenólicos totales
cm	Centímetro(s)
ΔE	Diferencia total de color
DPIV	Digestibilidad proteínica <i>in vitro</i>
DPPH	L 2,2- Difenill-1-picrilhidrazilo
EAG	Equivalentes de ácido Gálico

ET	Equivalentes de Trolox
FAO	Organización de Alimentos y Agricultura de las Naciones Unidas
FDT	Fibra dietaria total
g	Gramo(s)
H₂O₂	Peróxido de hidrógeno
HCl	Ácido Clorhídrico
HSMC	Harina de semillas de Moringa cruda
HSME	Harina de semillas de Moringa extrudida
HSMEO	Harina de semillas de Moringa extrudida optimizada
HSMP	Harina de semillas de Moringa prensada
IAA	Índice de absorción de agua
CFEE	Capacidad de formación y estabilidad de espuma
ISA	Índice de solubilidad en agua
Mg	Miligramo(s)
Min	Minuto(s)
μ	Micro
M	Molar
mm	Milímetro(s)
nm	Nanometro
μg	Microgramo(s)
μM	Micromolar
mM	Milimolar
μL	Microlitros

ml	Mililitro(s)
MSR	Metodología de superficie de respuesta
NaOH	Hidróxido de sodio
NO•	Óxido nítrico
N	Normalidad
°C	Grado(s) Celcius(s)
O•	Oxígeno singulete
O2•	Superóxido
OH•	Radical hidroxilo
ONOO•	Peroxinitrilo
OMS	Organización Mundial de la Salud
ORAC	Capacidad de absorción de radicales de oxígeno
%	Porcentaje
R•	Radical alquilo
RH	Rendimiento de hidrolizado
RO•	Radical alcoxilo
ROO•	Radical peroxilo
ROS	Especies reactivas de oxígeno
rpm	Revoluciones por minuto
s	Segundo(s)
TE	Temperatura de extrusión (°C)
USDA	United States Department of Agriculture (Departamento de Agricultura de los Estados Unidos)

VT Velocidad de tornillo

WHO World Health Organization (Organización Mundial de la Salud)