



UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN CAMPUS TUXTEPEC

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Efecto del ultrasonido y de la hidrólisis enzimática sobre las propiedades estructurales y reológicas del residuo agroindustrial de piña (*Ananas comosus*).

PRESENTA

I.A. EDITH RIVERA CRUZ

Para obtener el grado

Maestra en Biotecnología

**Director de Tesis
Dra. Rubí Guadalupe Utrilla Coello**

**Co-Director de Tesis
Dra. Delia Esther Páramo Calderón**

San Juan Bautista Tuxtepec, Oaxaca. Diciembre, 2020



UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

MAESTRÍA EN BIOTECNOLOGÍA

OFICIO	DEP/2020/MBt/033
ASUNTO	Asignación de jurado de examen de grado

San Juan Bautista Tuxtepec, Oaxaca, a 26 de octubre de 2020

C. EDITH RIVERA CRUZ
ESTUDIANTE DE LA MAESTRÍA EN BIOTECNOLOGÍA
UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN

Por este medio le informo que el jurado de su examen para obtener el grado de Maestría en Biotecnología estará integrado por los siguientes investigadores.

M. en C. Miguel Ángel García Muñoz	Universidad del Papaloapan	Presidente
Dra. Rubí Guadalupe Utrilla Coello	Universidad del Papaloapan	Secretario
Dr. Juan Pablo Hernández Uribe	Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo	Vocal
Dr. Lucio Abel Vázquez León	Cátedra CONACyT Universidad del Papaloapan	1er Suplente
Dr. Andrés Aguirre Cruz	Universidad del Papaloapan	2do Suplente

Sin más por el momento, le envío saludos cordiales.

Atentamente

terra uberrima, mens aperta
Bou Lo-tama, chí jí jú



Dr. Adolfo López Torres
Jefe de la División de Estudios de Posgrado

M. en C. Héctor López Linares
Vice-rector Académico

Vo. Bo.



C.c.p. Dra. Rubí Guadalupe Utrilla Coello – Director de tesis.
C.c.p. Dra. Jacqueline Capataz Tafur – Coordinadora de la Maestría en Biotecnología
C.c.p. M. E. Yesenia Barrientos Arenal – Jefa de Servicios Escolares.
C.c.p. Archivo

CAMPUS TUXTEPEC

C. Circuito central No. 200, Col. Parque Industrial,
C.P. 38301, Tuxtepec, Oax.
Tel. 01(287)8759240

www.unpa.edu.mx

CAMPUS LOMA BONITA

Av. Ferrocarril S/N, Ciudad universitaria.
C.P. 68400, Loma Bonita, Oax.
Tel. 01(281)8729230



UNIVERSIDAD DEL PAPAŁOAPAN

DIVISI3N DE ESTUDIOS DE POSGRADO

MAESTRÍA EN BIOTECNOLOGÍA

OFICIO	DEP/2020/MBv/057
ASUNTO	Autorizaci3n de impresi3n de tesis

San Juan Bautista Tuxtepec, Oaxaca, M3xico a 3 de diciembre de 2020

M. EN C. H3CTOR L3PEZ ARJONA
VICE-RECTOR ACAD3MICO
UNIVERSIDAD DEL PAPAŁOAPAN

Sirva la presente para informarle que el jurado del examen para obtener el grado de Maestra en Biotecnología de la **C. Edith Rivera Cruz**, matricula **18140010**, ha autorizado la impresi3n del manuscrito que lleva por título "**Efecto del ultrasonido y de la hidrólisis enzimática sobre las propiedades estructurales y reológicas del residuo agroindustrial de piña (*Ananas comosus*)**", para su posterior presentaci3n y defensa por parte de la sustentante.

De antemano agradezco su atenci3n, sin más que agregar, quedo a sus órdenes.

Atentamente

terra uberrima, mens aperta
Bou Lo-tama, chí jí jú



Dr. Adolfo López Torres

Directora de la Divisi3n de Estudios de Posgrado

C.c.p. C. Edith Rivera Cruz – Estudiante
C.c.p. Dra. Rubi Guadalupe Utrilla Coello – Directora de Tesis
C.c.p. M.E. Yesenia Barrientos Arenal – Jefa de Servicios Escolares
C.c.p. Archivo

CAMPUS TUXTEPEC

C. Circuito central No. 200, Col. Parque Industrial,
C.P. 38301, Tuxtepec, Oax.
Tel. 01(287)8759240

www.unpa.edu.mx

CAMPUS LOMA BONITA

Av. Ferrocarril S/N, Ciudad universitaria.
C.P. 68400, Loma Bonita, Oax.
Tel. 01(281)8729230

RECONOCIMIENTO

Esta tesis fue realizada en el Taller de Alimentos y en los Laboratorios de Innovación Tecnológica Sustentable en Materiales y Nanotecnología (LITSUS-MN) y Análisis Instrumental de la Universidad del Papaloapan, Campus Tuxtepec, bajo la dirección de la Dra. Rubí Guadalupe Utrilla Coello y la codirección de la Dra. Delia Esther Páramo Calderón. Se contó con la asesoría del Dr. Gerardo Fernández Barbero para realizar el pretratamiento de la materia prima de estudio aplicando ultrasonido en el Laboratorio de Química Analítica de la Universidad de Cádiz, España.

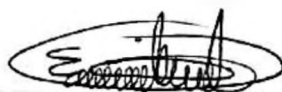
Se contó con la beca CONACyT con número de becario 942243 perteneciente al programa de Maestría en Biotecnología con registro PNPC 003131. Asimismo, se contó con el Apoyo Complementario para Mujeres Indígenas Becarias CONACyT.

CARTA DE RESPONSABILIDAD

Por medio de la presente hacemos constar que el trabajo de tesis "Efecto del ultrasonido y de la hidrólisis enzimática sobre las propiedades estructurales y reológicas del residuo agroindustrial de piña (*Ananas comosus*)" es responsabilidad de los C. Dra. Rubí Guadalupe Utrilla Coello, Dra. Delia Esther Páramo Calderón y Edith Rivera Cruz, y que ni los datos experimentales ni el texto han sido aceptados o empleados para el otorgamiento de título, grado diferente o adicional al actual en el país o en el extranjero. La tesis es resultado de las investigaciones del autor, excepto donde se indican las fuentes de información consultadas, y esta fue examinada por un comité tutorial, conformado por: *Dra. Rubí Guadalupe Utrilla Coello, Dra. Delia Esther Páramo Calderón y Dra. Sandra Trinidad del Moral Ventura* así como un jurado de examen conformado por: *M.C. Miguel Angel Garcia Muñoz, Dr. Juan Pablo Hernández Uribe y Dra. Rubí Guadalupe Utrilla Coello* de acuerdo con el Reglamento General de Posgrado vigente, con la finalidad de darle seguimiento al estudiante, así como validar que es un trabajo de investigación original e inédito.

San Juan Bautista Tuxtepec, Oaxaca a 26 de octubre del 2020.

ATENTAMENTE,



Edith Rivera Cruz



Dra. Rubí Guadalupe Utrilla Coello



Dra. Delia Esther Páramo Calderón

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Rubí Guadalupe Utrilla Coello, por ser mi directora de tesis por segunda ocasión, por confiar en mí y por siempre enseñarme disciplina y compromiso. Nunca olvidaré la bonita experiencia que pasamos juntas al ganar ese premio.

A la Dra. Delia Esther Páramo Calderón, por aceptar ser mi asesora y por todo el apoyo, paciencia y dedicación incondicional durante cada una de las etapas del desarrollo de esta tesis. Además, gracias por las facilidades brindadas que me permitieron realizar la estancia de investigación en el extranjero.

A mis revisores de tesis, M.C. Miguel Ángel García Muñoz, Dr. Juan Pablo Hernández Uribe y Dr. Andrés Aguirre Cruz por su ayuda y consejos proporcionados.

Al Dr. Lucio Abel Vázquez León, por ser mi revisor de tesis y por los conocimientos y aportaciones brindadas en el desarrollo de este trabajo. También, gracias por hacer posible mi estancia de investigación en el extranjero, fue una experiencia maravillosa.

Al Dr. Alejandro Aparicio Saguilán por su apoyo otorgado durante la parte experimental, por los conocimientos y aportaciones brindadas durante el desarrollo de este trabajo.

A la Ing. Ana Sofía por ser mi compañera de viaje en una bonita experiencia que nos tocó vivir juntas y por el apoyo brindado.

DEDICATORIA

A Dios, por permitirme vivir hasta este día a lado de todos mis seres queridos, por ser mi fortaleza en los momentos de debilidad y por ser mi apoyo incondicional. Gracias por brindarme una vida llena de aprendizajes, experiencias y sobre todo felicidad. Te amo infinitamente.

A mis padres, por su eterno amor y por creer en mí, gracias a ustedes hoy puedo ver alcanzada otra de mis metas. Pido a Dios que me conceda el tiempo necesario para poder devolverles un poco de lo mucho que me han dado todos estos años.

A mis hermanos, por su apoyo y amor incondicional, sin duda alguna su existencia enriquece la mía.

A mi novio, por su apoyo, sus cuidados y sobre todo por su amor. Gracias por escucharme siempre y ser ese motor que a veces requiero.

Mil palabras no bastarían para agradecerles su apoyo, su comprensión y sus consejos en los momentos difíciles. A todos, espero no defraudarlos y contar siempre con su valioso apoyo, sincero e incondicional.

Dios los bendiga. Los amo mucho.

ÍNDICE

ÍNDICE.....	v
ÍNDICE DE TABLAS	vii
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
ABREVIATURAS	x
RESUMEN.....	xi
ABSTRACT	xii
INTRODUCCIÓN.....	1
1 ANTECEDENTES	2
1.1 PIÑA.....	2
1.1.1 Producción.....	3
1.1.2 Comercialización.....	3
1.1.3 Composición química	4
1.1.4 Residuos agroindustriales derivados de la piña y su uso	6
1.2 MODIFICACIÓN DE RESIDUOS AGROINDUSTRIALES DERIVADOS DE LA PIÑA	8
1.2.1 Hidrólisis enzimática.....	10
1.2.2 Ultrasonido	11
1.3 FIBRA DIETÉTICA	15
1.3.1 Fibra dietética soluble	15
1.3.2 Fibra dietética insoluble	15
1.3.2.1 Celulosa.....	16
1.3.2.2 Hemicelulosas	17
1.3.2.3 Lignina.....	17
1.3.3 Beneficios a la salud	18
1.3.4 Ingesta de fibra dietética.....	21
1.4 CARACTERIZACIÓN DE RESIDUOS AGROINDUSTRIALES.....	22
1.4.1 Caracterización estructural	23
1.4.1.1 Difracción de rayos X	23
1.4.1.2 Espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR).....	24
1.4.2 Evaluación reológica.....	26

1.4.2.1	Viscoelasticidad.....	27
1.4.2.2	Métodos de determinación de viscoelasticidad.....	28
2	JUSTIFICACIÓN	32
3	HIPÓTESIS.....	33
4	OBJETIVOS.....	34
4.1	OBJETIVO GENERAL	34
4.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	34
5	MATERIALES Y MÉTODOS	35
5.1	MATERIALES	35
5.1.1	Materia prima.....	35
5.2	MÉTODOS.....	35
5.2.1	Preparación de la harina de bagazo de piña	36
5.2.2	Análisis químico proximal de la harina de bagazo de piña	36
5.2.3	Pretratamiento con ultrasonido e hidrólisis enzimática	36
5.2.4	Caracterización estructural por difracción de rayos X (DRX)	38
5.2.5	Caracterización estructural por espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR).....	38
5.2.6	Evaluación de las propiedades reológicas.....	38
5.2.7	Diseño experimental y análisis estadístico.....	39
6	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	40
6.1	COMPOSICIÓN QUÍMICA PROXIMAL DE LA HARINA DE BAGAZO DE PIÑA	40
6.2	DIFRACCIÓN DE RAYOS X	42
6.3	ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO CON TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)	50
6.4	EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES REOLÓGICAS.....	54
6.4.1	Barridos de amplitud	54
6.4.2	Barridos de frecuencia.....	55
7	CONCLUSIONES	59
8	PERSPECTIVAS	60
	ANEXOS	61
	REFERENCIAS.....	63

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición nutrimental de la piña (<i>Ananas comosus</i>).....	5
Tabla 2. Composición química proximal de harina de bagazo de piña variedad MD-2.....	8
Tabla 3. Productos comerciales adicionados con fibra dietética.....	22
Tabla 4. Clasificación de materiales según los valores de $\tan \delta$	31
Tabla 5. Tratamientos evaluados en la modificación de la harina del residuo agroindustrial de piña (<i>Ananas comosus</i>) variedad MD-2.....	37
Tabla 6. Composición química proximal de la harina de bagazo de piña (<i>Ananas comosus</i>) variedad MD-2.	40
Tabla 7. Grado de cristalinidad de harinas de bagazo de piña pretratadas con ultrasonido (US).	43
Tabla 8. Grado de cristalinidad de harinas de bagazo de piña modificadas enzimáticamente con pretratamiento ultrasónico (UE).	46

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Cadenas de celulosa rodeadas de hemicelulosa y lignina	12
Figura 2. Métodos de aplicación de ultrasonidos	13
Figura 3. Esquemas de (a) unidad de repetición de la cadena de celulosa, que muestra la direccionalidad del enlace 1-4 y el enlace de hidrógeno intramolecular (línea de puntos) y, (b) microfibrilla de celulosa idealizada que muestra una de las configuraciones sugeridas de las regiones cristalina y amorfa	16
Figura 4. Monómeros que conforman la molécula de lignina: a) trans-coniferil, b) trans-p-cumaril y c) trans-sinapil.....	18
Figura 5. Mecanismos por el que el butirato suprime el desarrollo de cáncer colorrectal.....	19
Figura 6. El mecanismo general de acción de los AGCC en la salud metabólica	20
Figura 7. Esquema del patrón de difracción de rayos X.....	24
Figura 8. Componente básico del espectrómetro infrarrojo por transformada de Fourier	25
Figura 9. Espectros infrarrojos típicos de la transformada de Fourier. El recuadro corresponde a la estructura molecular de la celulosa.....	26
Figura 10. Prueba dinámica oscilatoria de baja amplitud.....	30
Figura 11. Estrategia experimental del proyecto.	35
Figura 12. Diagramas de difracción de rayos X de celulosa comercial (CEL) y de harina de bagazo de piña sin modificar (HBP).	42
Figura 13. Diagramas de difracción de rayos X de harinas de bagazo de piña sin modificar (HBP), hidrolizada enzimáticamente (HE) y pretratadas con ultrasonido (US).....	44
Figura 14. Diagramas de difracción de rayos X de harinas de bagazo de piña sin modificar (HBP), hidrolizada enzimáticamente (HE) y modificadas enzimáticamente con pretratamiento ultrasónico (UE).	47
Figura 15. Modelo de degradación sinérgica de celulosa	48
Figura 16. Gráfica de superficie de respuesta de Cristalinidad vs Potencia - Tiempo de sonicación.	49
Figura 17. Espectros FTIR de harinas de bagazo de piña sin modificar (HBP), hidrolizada enzimáticamente (HE) y pretratadas con ultrasonido (US).....	50

Figura 18. Espectros FTIR de harinas de bagazo de piña sin modificar (HBP), hidrolizada enzimáticamente (HE) y modificadas enzimáticamente con pretratamiento ultrasónico (UE)...	51
Figura 19. Barridos de deformación del módulo de almacenamiento G' y del módulo de pérdida G'' de fibra dietética comercial (FC), harinas de bagazo de piña sin modificar (HBP), hidrolizada enzimáticamente (HE), pretratadas con ultrasonido (US) y modificadas enzimáticamente con pretratamiento ultrasónico (UE).	54
Figura 20. Barridos de frecuencia del módulo de pérdida G'' de fibra dietética comercial (FC), harinas de bagazo de piña sin modificar (HBP), hidrolizada enzimáticamente (HE) y pretratadas con ultrasonido (US).	55
Figura 21. Barridos de frecuencia del módulo de almacenamiento G' de fibra dietética comercial (FC), harinas de bagazo de piña sin modificar (HBP), hidrolizada enzimáticamente (HE) y modificadas enzimáticamente con pretratamiento ultrasónico (UE).	57
Figura 22. Barrido de frecuencia del módulo de almacenamiento G' y del módulo de pérdida G'' de fibra comercial.	58

ABREVIATURAS

FD	Fibra dietética
FDT	Fibra dietética total
FDS	Fibra dietética soluble
FDI	Fibra dietética insoluble
AGCC	Ácidos grasos de cadena corta
T	tonelada(s)
H	Hora
Min	Minuto
g s.s.	gramos de sólido seco
ANOVA	Análisis de varianza
DRX	Difracción de rayos X
FTIR	Espectroscopía de transmisión de infrarrojo con transformada de Fourier
MEB	Microscopía electrónica de barrido
HBP	Harina de bagazo de piña no modificada
HE	Harina de bagazo de piña modificada con 1 U de celulasa por 30 minutos
US	Harina de bagazo de piña pretratada con ultrasonido
UE	Harina de bagazo de piña modificada enzimáticamente con pretratamiento ultrasónico

RESUMEN

La generación de residuos agroindustriales actualmente es una problemática a nivel mundial, debido a que en la mayoría de los casos estos no son procesados o dispuestos adecuadamente, situación que contribuye a la contaminación ambiental. Los residuos agroindustriales derivados de la piña (*Ananas comosus*) tienen usos potenciales como materia prima para obtener productos de valor agregado, al presentar alto contenido de materia orgánica constituida principalmente por celulosa, lignina, hemicelulosa y pectina. La hidrólisis enzimática y el ultrasonido han sido las técnicas más empleadas en el aprovechamiento y la modificación de residuos agroindustriales, debido a los cambios fisicoquímicos, estructurales y organolépticos que producen. En este trabajo, se evaluó el efecto del ultrasonido y de la hidrólisis enzimática sobre las propiedades estructurales y reológicas del residuo agroindustrial de la piña variedad MD-2. Para ello, el residuo de piña se deshidrató, trituro y tamizó para la obtención de harina. La harina obtenida fue pretratada aplicando ultrasonido siguiendo un diseño Box Behnken 3³: ciclo (0.2, 0.6 y 1 s), potencia (40, 70 y 100 W) y tiempo (2, 6 y 10 min). Posterior al pretratamiento, se realizó la hidrólisis enzimática empleando la enzima celulasa a una concentración de 1 U/g de fibra dietética por 30 min de hidrólisis. Finalmente, las soluciones resultantes fueron liofilizadas. La harina del residuo de piña presentó 52.40 % de fibra dietética total. Asimismo, la harina nativa exhibió un patrón de difracción de rayos X de celulosa tipo I. Los pretratamientos con ultrasonido mejoraron la eficiencia de hidrólisis enzimática al remover moléculas de hemicelulosa y lignina y eliminar zonas amorfas en la molécula de celulosa, evaluado por DRX y espectroscopía FTIR. Además, la hidrólisis enzimática y el ultrasonido influyeron en las propiedades reológicas de la harina del residuo agroindustrial de piña, generando geles con características viscoelásticas. Las muestras pretratadas con ultrasonido (US) presentaron una predominancia del módulo viscoso ($G'' > G'$), relacionado con la formación de geles débiles; mientras que en las muestras modificadas enzimáticamente con pretratamiento ultrasónico (UE) predominó el módulo elástico ($G' > G''$), congruente con la formación de geles fuertes. El estudio realizado brinda un aporte al conocimiento para el posible desarrollo de un ingrediente funcional a partir de la fibra dietética del residuo agroindustrial de piña.

ABSTRACT

The generation of agroindustrial waste is currently a problem worldwide, because in most cases these are not processed or disposed of properly, a situation that contributes to environmental pollution. Agroindustrial residues derived from pineapple (*Ananas comosus*) have potential uses as raw material to obtain value-added products, as they present a high content of organic matter consisting mainly of cellulose, lignin, hemicellulose and pectin. Enzymatic hydrolysis and ultrasound have been the most widely used techniques in the use and modification of agroindustrial waste, due to the physicochemical, structural and organoleptic changes that they produce. In this work, the effect of enzymatic hydrolysis and ultrasound on the structural and rheological properties of the agro-industrial residue of pineapple variety MD-2 was evaluated. For this, the pineapple residue was dehydrated, crushed and sifted to obtain flour. The flour obtained was pretreated by applying ultrasound following a Box Behnken 3^3 design: cycle (0.2, 0.6 and 1 s), power (40, 70 and 100 W) and time (2, 6 and 10 min). After pretreatment, enzymatic hydrolysis was performed using the cellulase enzyme at a concentration of 1 U/g of dietary fiber for 30 min of hydrolysis. Finally, the resulting solutions were lyophilized. The pineapple residue flour presented 52.40 % of total dietary fiber. Likewise, the native flour exhibited a type I cellulose X-ray diffraction pattern. Ultrasound pretreatments improved the efficiency of enzymatic hydrolysis by removing hemicellulose and lignin molecules and eliminating amorphous areas in the cellulose molecule, evaluated by X-ray diffraction and spectroscopy FTIR. In addition, enzymatic hydrolysis and ultrasound influenced the rheological properties of the pineapple agroindustrial residue flour, generating gels with viscoelastic characteristics. The samples pretreated with ultrasound (US) showed a predominance of the viscous modulus ($G'' > G'$), related to the formation of weak gels; while in the samples enzymatically modified with ultrasonic pretreatment (UE) the elastic modulus ($G' > G''$) prevailed, consistent with the formation of strong gels. The study carried out provides a contribution to the knowledge for the possible development of a functional ingredient from the dietary fiber of the pineapple agroindustrial residue.

INTRODUCCIÓN

La piña (*Ananas comosus*) es una planta perenne de la familia Bromeliaceae, cuya fruta se comercializa en todo el mundo. En los últimos años esta fruta ha adquirido una relevancia significativa por su dinámica económica y por ser una fuente importante de empleo, tanto en la producción y comercialización de la fruta fresca, como en el proceso de industrialización. Entre los subproductos que mayor participación tienen se encuentran la piña preparada o conservada y el jugo de piña, lo cual provoca que, durante el proceso de preparación, se generen una gran cantidad de residuos. Este residuo, llamado bagazo, está constituido por el corazón y sólidos centrifugados de la piña que comprenden el 20 % del peso del fruto. Rivera-Cruz (2018) reportó que el 53.54 % del bagazo de piña de la variedad MD-2 es fibra dietética, de la cual 53.44 % pertenece a la fracción insoluble y el 0.1 % a la fracción soluble.

Una alternativa al problema en la disposición final del bagazo de piña es encontrar una tecnología apropiada para su tratamiento y valoración indirecta, aprovechando su contenido de fibra dietética. Por tal motivo, es importante buscar e investigar vías de valorización que puedan transformarlo en productos útiles para su comercialización. En los últimos años, la importancia de la fibra dietética se ha incrementado significativamente debido a los beneficios a la salud que proporciona, siendo la fracción soluble la de mayor importancia ya que influye en el metabolismo de glucosa y colesterol, así como en la fermentación colónica y el crecimiento de la microbiota intestinal (efecto prebiótico). Aunado a esto, investigaciones recientes se han centrado en la obtención y caracterización de materiales fibrosos a partir de subproductos de frutas y vegetales. Además, el uso de estos subproductos contribuye a la reducción de residuos y desechos, que representan un grave problema ambiental en todo el mundo.

Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del ultrasonido y de la hidrólisis enzimática sobre las propiedades estructurales y reológicas de la fibra dietética de piña (*Ananas comosus*). Este trabajo espera aportar conocimiento y contribuir al desarrollo de un método nuevo y eficaz para la modificación y aplicación de la fibra dietética contenida en el residuo agroindustrial de piña variedad MD-2.

1 ANTECEDENTES

1.1 PIÑA

La piña (*Ananas comosus*) es una planta perenne de la familia Bromeliaceae, es un fruto no climatérico, es decir, no continúa madurando después de la cosecha, sin embargo, su color verde puede cambiar a un color más claro o amarillento debido a que la clorofila continúa degradándose. Dependiendo de la variedad, su pulpa puede ser amarilla, anaranjada o blanca, tiene un sabor agridulce cuando está madura y un poco ácido al inicio de su madurez comercial. La acidez disminuye después de ser cosechada lo que en ocasiones mejora su sabor cuando su contenido de azúcares es apropiado (Arias y Toledo, 2000).

La planta de piña es monocotiledónea, herbácea y perenne de 1 a 1.5 m de extensión, tanto a lo alto como en lo que a su circunferencia se refiere, es originaria de América del Sur de la región de Matto Grosso, entre Uruguay y Brasil. La inflorescencia contiene entre cien y doscientas flores colocadas en forma espiral, fusionadas al eje central. La floración se prolonga entre 30 y 70 días aproximadamente; el fruto maduro se obtiene 135 días después de haber emergido la flor. Según la variedad, el fruto asume forma cilíndrica o piramidal y su peso varía de acuerdo con la variedad, la densidad de siembra, el clima y el manejo brindado a la plantación (Uriza-Ávila *et al.*, 2018).

Las principales variedades se clasifican en cinco grupos de acuerdo con las características de fruto y hojas: Cayenne, Queen, Spanish, Pernambuco y Perolera (Py *et al.*, 1984). La Cayena Lisa abarcaba la mayor parte de la producción mundial en la segunda mitad del siglo XX. Sin embargo, el programa de mejoramiento de piña más exitoso en el mundo fue implementado por el Pineapple Research Institute (PRI), ubicado en Hawái, cuyo objetivo era obtener cultivares alternativos a Cayena Lisa para usar como fruta fresca y para procesamiento. De este programa de mejoramiento resultaron dos híbridos: el 73-50 llamado CO-2 y el 73-114 conocido como MD-2. La variedad MD-2, o mejor conocida como piña miel, fue cultivada a principios de los años 1990 por la empresa Del Monte® Foods, y revolucionó el sector de la piña transformándolo de forma considerable y duradera. Esta variedad medio espinosa se impuso gracias a su buen rendimiento, su poca sensibilidad a la mancha negra y a los parásitos telúricos y su estupendo potencial de conservación. Su sabor dulce y azucarado, muy apreciado por el consumidor, la propulsó a la cima de las variedades producidas con fines comerciales (Uriza-Ávila *et al.*, 2018).

1.1.1 Producción

En 2019, la piña ocupó el segundo lugar en la producción de frutas tropicales con aproximadamente 25 millones de t, solo superada por el mango (54 millones de t) (FAO, 2020). Los principales países productores son Costa Rica, Brasil, Filipinas y Tailandia. A nivel internacional, México ocupa entre el séptimo y décimo lugar en producción de piña, con alrededor de 20 mil hectáreas sembradas por año, correspondientes a un millón de t de fruta cosechada, y un rendimiento promedio de entre 45 y 55 t/ha (FAO, 2020).

La producción de piña en el país se ha concentrado en una región específica, conocida como el Bajo Papaloapan o Cuenca del Papaloapan, la cual se ubica entre el centro-sur del estado de Veracruz y el norte de Oaxaca. En dicha zona se encuentran los principales municipios piñeros, que si bien políticamente pertenecen a estados diferentes, muestran gran similitud de factores climatológicos, topográficos e hidrológicos y, sobre todo, una relativa homogeneidad en aspectos relacionados con las modalidades de cultivo, producción y comercialización. Entre los principales municipios piñeros de esta región se encuentran: Isla, Juan Rodríguez Clara, José Azueta, Chacaltianguis, Medellín, Alvarado y Tlaxicoyan, todos en el estado de Veracruz, mientras que en Oaxaca son los municipios Loma Bonita y Tuxtepec (SIAP, 2014).

1.1.2 Comercialización

La comercialización y los precios de la piña están estrechamente vinculados a la temporalidad de las cosechas, las cuales se concentran de mayo a agosto, como resultado de las floraciones naturales. Los volúmenes y fechas de brotación son impredecibles, por tanto, es en estos meses donde la fruta alcanza los menores precios (CEFP, 2002).

La piña producida en México se destina para el consumo en fresco (nacional y de exportación) o para la industrialización como jugo o en conservas. En 2018, la producción de piña fue de un millón de t de fruta, de las cuales alrededor de 700 mil t (70 %) fueron destinadas al mercado fresco nacional, 200 mil t (20 %) a la industria procesadora y 100 mil t (10 %) al mercado fresco de exportación (Uriza-Ávila *et al.*, 2018). En 2019, México ocupó el sexto lugar entre los principales países exportadores de piña a nivel mundial, cuyo destino principal es EUA (FAO, 2020).

La piña MD2 tiene como propósito principal abastecer mercados de exportación, principalmente de EUA y, después, a mercados especializados como son las tiendas de autoservicio nacionales (Sam's Club, Aurrera, Walmart, Chedraui, Soriana, entre otras). Es importante señalar que el 100 % de la fruta destinada para exportación es la variedad MD2. Con respecto a las tiendas de autoservicio, en el mercado nacional, la mayoría de la fruta solicitada es el híbrido MD2; sin embargo, en algunos casos se llega a solicitar piña Cayena Lisa en un porcentaje no mayor al 5 % del total. Este canal de comercialización es abastecido por grandes y medianos agricultores, quienes en su mayoría poseen plantaciones con piña MD2. Por su parte, la piña Cayena Lisa es producida principalmente por pequeños agricultores, y comercializada a través de un sistema tradicional en el que no hay un vínculo formal entre éstos y los compradores, por lo que la relación se establece a través de intermediarios (Uriza-Ávila *et al.*, 2018).

1.1.3 Composición química

La piña se ha considerado una buena fuente de macro y micronutrientes, lo que la convierte en un producto nutritivo y valioso. Los nutrientes y fitoquímicos de la piña varían según el clon cultivado y las condiciones ambientales (Valderrain-Rodríguez *et al.*, 2017). A continuación, se destacará el valor nutricional del contenido de macro y micronutrientes de la piña (Tabla 1).

Los macronutrientes son aquellos nutrientes que el organismo humano necesita en mayores cantidades para el crecimiento, reparación y desarrollo de nuevos tejidos, conducción de impulsos nerviosos y regulación de procesos corporales. Generalmente, en esta categoría se incluyen el agua, los carbohidratos, las grasas y las proteínas (FAO, 2015).

El componente principal de la pulpa de la piña es el agua, que comprende el 80 % de esta composición de fruta, seguida de los carbohidratos. Según el Departamento de Agricultura de Estados Unidos (United States Department of Agriculture USDA), las variedades tradicionales y extradulces de piña tienen 11.82 % y 13.5 % de contenido de carbohidratos, respectivamente (USDA, 2016). La mayoría de estos carbohidratos corresponden a azúcares y fibra dietética, mientras que no hay informes de que se encuentre almidón en la piña madura. Por su parte, la piña hace una contribución mínima de lípidos y proteínas a la dieta.

Tabla 1. Composición nutrimental de la piña (*Ananas comosus*).

Nutriente	Cantidad (/100 g)
Agua	86 g
Energía	50 kcal
Proteína	0.54 g
Lípidos totales	0.12 g
Carbohidratos	13.12 g
Fibra dietética total	1.4 g
Azúcares totales	9.85
Minerales	
Calcio (Ca)	13 mg
Hierro (Fe)	0.29 mg
Magnesio (Mg)	12 mg
Fósforo (P)	8 mg
Potasio (K)	109 mg
Sodio (Na)	1 mg
Zinc (Zn)	0.12 mg
Vitaminas	
Vitamina C (ácido ascórbico)	47.8 mg
Vitamina B1 (Tiamina)	0.079 mg
Vitamina B2 (Riboflavina)	0.032 mg
Vitamina B3 (Niacina)	0.5 mg
Vitamina B6	0.112 mg
Ácido fólico	18 µg
Vitamina A	3 µg
Vitamina E (α -tocoferol)	0.02 mg
Vitamina K (Filoquinona)	0.7 µg

Adaptado de United States Department of Agriculture Agricultural Research Service-National. Nutrient Database for Standard Reference Legacy Release (2016).

El término "micronutrientes" se refiere a aquellos nutrientes que se requieren en cantidades bajas en la dieta humana. Este término generalmente comprende vitaminas y minerales, y los describe como un grupo completo de nutrientes. Las vitaminas son compuestos que deben estar presentes en los alimentos para permitir el crecimiento, la salud y la vida humana; mientras que

los minerales son sustancias inorgánicas requeridas por el organismo en cantidades muy pequeñas para el mantenimiento de procesos vitales esenciales para la vida (Paul y Shaha, 2004). La FDA define una 'buena fuente' de macro o micronutrientes como una porción de alimento que contiene entre el 10 % y el 19 % de la dosis diaria recomendada o una ingesta adecuada (IA) de cada nutriente. Usando ese estándar, la piña se considera como una buena fuente de vitaminas (vitamina C, tiamina y riboflavina) y minerales (potasio y sodio) (Valderrain-Rodríguez *et al.*, 2017).

Por otro lado, otros de los componentes que contiene la piña son los compuestos bioactivos, los cuales, son componentes nutricionales adicionales que normalmente se encuentran en pequeñas cantidades en los alimentos y son asociados con efectos positivos sobre la salud humana, particularmente sobre las enfermedades cardiovasculares, cáncer y el retraso del proceso de envejecimiento (Valderrain-Rodríguez *et al.*, 2017). Los principales compuestos bioactivos reportados en la pulpa de piña son compuestos antioxidantes como ácido ascórbico, compuestos fenólicos y carotenoides (Kongsuwan *et al.*, 2009). Además, la piña es una fuente rica en bromelina, un complejo de compuestos que incluyen proteinasas y otros compuestos bioactivos (Maurer, 2001).

1.1.4 Residuos agroindustriales derivados de la piña y su uso

Los residuos agroindustriales son materiales en estado sólido o líquido que se generan a partir del consumo directo de productos primarios o de su industrialización, que ya no son de utilidad para el proceso que los generó, pero que son susceptibles de aprovechamiento o transformación para generar otro producto con valor económico, ya que cuando los residuos no son reutilizados y se abandonan en el lugar que se generaron, se convierten en contaminantes de suelo y agua; la acumulación de biomasa en grandes cantidades provoca deterioro ambiental y genera pérdidas de materiales con alto potencial biotecnológico (Khalil, 2002). Ramírez (2012) resalta que el aprovechamiento de residuos es una alternativa que impulsa el desarrollo de tecnologías orientadas hacia una transformación sustentable de los recursos naturales. Por consiguiente, el aprovechamiento de residuos agroindustriales se enfoca como una estrategia base para el manejo de estos, con una diversidad de alternativas, gracias a la composición tan variada que presentan estos residuos o subproductos.

De manera particular, durante el procesamiento de la piña se producen grandes cantidades de residuos sólidos compuestos por cáscaras, corona y sólidos centrifugados. Este residuo, llamado bagazo, puede pesar alrededor del 10 % del peso total del fruto, compuesto por aproximadamente 96 % de materia orgánica y 4 % de materia inorgánica (Abdullah, 2007). De acuerdo con Conesa *et al.* (2015), en la elaboración de productos alimenticios a base de piña, este valor puede ser del 50 %. Otros autores informaron una producción de residuos en el intervalo de 20-35 % del peso total de la fruta (Seleni *et al.*, 2014). Esta diferencia puede deberse a la variedad de piña y al tipo de procesamiento utilizado.

Aunado a esto, el bagazo de piña tiene usos potenciales como materia prima para obtener productos de valor agregado y generar beneficios económicos sustanciales a la región, ya que, contienen componentes valiosos como sacarosa, glucosa, fructosa, celulosa, fibra, bromelina y otros nutrientes (Hemalatha y Anbuselvi, 2013). Estos nutrientes se pueden transformar en productos útiles de mayor valor como ácido láctico, antioxidantes, etanol, biodiesel y biometano (Abdullah, 2007; Hemalatha y Anbuselvi, 2013).

La cáscara es el principal residuo biológico generado durante el procesamiento de la piña (Ketnawa *et al.*, 2012). Los azúcares están presentes en grandes cantidades en la cáscara de piña que se pueden utilizar como nutrientes en los procesos de fermentación. La cáscara se puede utilizar como sustrato potencial para la generación de metano, etanol e hidrógeno (Díaz-Vela *et al.*, 2013; Choonut *et al.*, 2014). El segundo residuo biológico importante es el corazón que se utiliza para la producción de concentrados de jugo de piña, bebidas alcohólicas o vinagre (Ketnawa *et al.*, 2012). El tallo y la corona de la piña son componentes de desecho menores que son de naturaleza fibrosa con una cantidad insignificante de azúcares. Las coronas se pueden utilizar como material de plantación.

El contenido total de azúcar y ácido cítrico de los desechos líquidos de piña es de 7.3 % y 0.22 %, respectivamente (Abdullah y Mat, 2008). Los desechos sólidos contienen 8.2 % de glucosa y 12.2 % de fructosa, pero una cantidad insignificante de sacarosa debido a la acción de la invertasa durante el procesamiento. Este residuo puede actuar como sustrato de fermentación para producir productos de alto valor agregado como ácidos orgánicos, etanol, proteínas unicelulares, enzimas y metano.

Por otro lado, durante el procesamiento del jugo de piña, se producen importantes desechos sólidos que consisten en la cáscara y sólidos centrifugados de la fruta. Estos residuos biológicos de piña han sido material de investigación para el desarrollo de nuevos productos como barras de cereales, galletas y jaleas, extracción de ácido cítrico y bromelina (Dorta y Sogi, 2017). Además, pueden actuar como fuente de fibras dietéticas que pueden complementarse con productos alimenticios bajos en fibra. Rivera-Cruz (2018) reportó que el 53.54 % de la composición de harina de bagazo de piña, para la variedad MD-2, es fibra dietética total (FDT), de la cual el 53.44 % representa la fracción insoluble y el 0.1 % la fracción soluble (Tabla 2).

Tabla 2. Composición química proximal de harina de bagazo de piña variedad MD-2.

Componente	Porcentaje (%)
Humedad	7.07
Cenizas	2.15
Carbohidratos	81.47
Grasa cruda	0.87
Proteína ¹	8.43
Fibra dietética total	53.54
Fibra dietética insoluble	53.44
Fibra dietética soluble	0.10

Adaptada de Rivera-Cruz (2018).

Es importante considerar que a medida que aumenta la producción de piña, sus desechos también aumentarán proporcionalmente. Será necesario buscar alternativas para la utilización de estos residuos. Los usos y hallazgos anteriores han demostrado que los desechos de la piña tienen potencial para convertirse en productos de valor agregado.

1.2 MODIFICACIÓN DE RESIDUOS AGROINDUSTRIALES DERIVADOS DE LA PIÑA

Los residuos agroindustriales difieren debido a la materia prima y proceso por el cual fueron generados, aunque comparten la principal característica al presentar alto contenido de materia orgánica constituida principalmente por celulosa, lignina, hemicelulosa y pectina; esta fuente renovable de materia orgánica puede ser transformada por métodos físicos (calor, molienda, prensado, entre otros), químicos (hidrólisis con ácidos y bases) y biológicos (fermentación aerobia, anaerobia, sólida o líquida, hidrólisis enzimática, cultivo de microorganismos) en productos de interés pecuario o industrial como biocombustibles, enzimas, azúcares simples,

metabolitos secundarios y proteínas (Oliveira *et al.*, 2018; Garcia-Amezquita *et al.*, 2018; Nazzaro *et al.*, 2018).

En los últimos años, la modificación de residuos agroindustriales derivados de la piña se ha centrado principalmente en la obtención de bioetanol, bebidas fermentadas y almidón, así como para la extracción de compuestos bioactivos y glucósidos.

Cruz *et al.* (2011) estudiaron el proceso para obtener celulosa y bioetanol a partir de bagazo de piña, mediante hidrólisis ácida (utilizando H₂SO₄) y fermentación en un medio anaeróbico, utilizando el microorganismo *Saccharomyces cerevisiae*, variando tiempos de fermentación (36, 40, 48 y 72 h) y manteniendo la temperatura a 30 °C. La celulosa obtenida presentó una conversión del 60 % y mediante FTIR se corroboró que la celulosa fue tipo II. Por su parte, el bioetanol obtenido mediante destilación presentó un rendimiento del 35 % con bagazo de piña y del 57 % con celulosa con un tiempo de fermentación de 48 y 72 h, respectivamente.

Cunha *et al.* (2018) evaluaron el potencial probiótico de levaduras aisladas de cáscara de piña fermentada espontáneamente y su uso en la elaboración de bebidas fermentadas potencialmente funcionales. Las levaduras aisladas (50) fueron evaluadas por su resistencia a 6 antibióticos, actividad antimicrobiana contra 6 bacterias patógenas y propiedades de autoagregación e hidrofobicidad. Del total de los aislamientos, cinco de ellos sobrevivieron a condiciones gastrointestinales simuladas, mostraron resistencia a los antibióticos y propiedades de autoagregación. Dichos aislamientos fueron identificados por MALDI-TOF MS y secuenciación de la región ITS como *Candida lusitanae* (3) y *Meyerozyma caribbica* (2). Entre estos aislados, se evaluó *M. caribbica* en la producción de una bebida fermentada de piña, la cual, mostró concentraciones más altas de glucosa residual (24.19 g/L) y fructosa (8.67 g/L), menor concentración de ácido acético (0.22 g/L) y mayor concentración de compuestos fenólicos totales (196.93 mg/L).

Por su parte, Sepúlveda *et al.* (2018) evaluaron el proceso de autohidrólisis para la extracción de glucósidos y polifenoles de los desechos de la piña (corona y cáscara). Para ello, se llevó a cabo un diseño de Box-Behnken utilizando diferentes temperaturas (150 - 200 °C), relación sólido-líquido (1:40 - 1:10 p/v) y tiempos de reacción (15 - 45 min). Las condiciones que permitieron la mayor producción de glucosa (27.6 g/L) y fructosa (33.8 g/L) fueron 150 °C, 30 min y 1:10 p/v,

mientras que la mayor cantidad de polifenoles totales extraídos (1.75 g/L) se obtuvo a 200 °C, 30 min y una relación sólido-líquido 1:10 p/v. En todos los tratamientos se detectaron ácido gálico, ácido hidroxibenzoico, ácido clorogénico, epicatequina, ácido cumárico y ácido cafeico.

Por otro lado, Rahma *et al.* (2019) realizaron el aislamiento verde y la modificación física de almidón de desechos de tallo de piña para su aplicación como excipiente farmacéutico. El almidón aislado (AAP) se modificó físicamente mediante gelatinización y secado por pulverización para mejorar sus propiedades físicas. La imagen obtenida por microscopía electrónica de barrido (MEB) mostró un cambio morfológico con una rugosidad superficial reducida debido a la modificación física del almidón. Los resultados de difracción de rayos X confirmaron la disminución de la cristalinidad en el almidón modificado (APM). Además, el análisis termogravimétrico mostró que los eventos de degradación de APM ocurrieron a temperaturas más bajas. En resumen, los estudios demostraron que el almidón de piña modificado mostró mejores características físicas y bastante prometedoras como aglutinante y desintegrante de tabletas.

1.2.1 Hidrólisis enzimática

Por lo que se refiere a otras tecnologías empleadas en la modificación de residuos agroindustriales, la hidrólisis enzimática es la más utilizada debido a los cambios fisicoquímicos, estructurales y organolépticos que produce, la cual se enfoca principalmente en el aprovechamiento y modificación de la fibra dietética (FD) y su aplicación en la industria alimentaria.

Wen *et al.* (2017) utilizaron celulasa y xilanasas en la investigación sobre las propiedades estructurales y funcionales de la fibra dietética de salvado de arroz (FDSA). Debido a la degradación de la fibra dietética insoluble (FDI), los tratamientos de celulasa y xilanasas, aumentaron el contenido de fibra dietética soluble (FDS) en 3 y 8 veces, respectivamente. El análisis por MEB indicó que los tratamientos enzimáticos causaron la ruptura de la estructura FDSA. La celulasa y la xilanasas aumentaron la cristalinidad de FDSA debido a la hidrólisis de hemicelulosa y la porción amorfa en celulosa. Además, las enzimas redujeron la capacidad de retención de agua y aceite, pero aumentaron la capacidad de hinchamiento y la capacidad de absorción de taurocolato sódico de FDSA.

Yu *et al.* (2018) realizaron la modificación enzimática de la FDI de residuo de zanahoria empleando celulasa + xilanasas, donde los resultados mostraron que el método enzimático complejo aumentó el contenido de FDS a 15.07 %, y la capacidad de adsorción de colesterol alcanzó su punto máximo. Los resultados obtenidos permitieron aplicar el residuo de zanahoria como ingrediente funcional en diversos productos alimenticios.

Zheng y Li (2018) estudiaron los efectos de la hidrólisis con celulasa en la estructura, las propiedades fisicoquímicas y funcionales de la fibra dietética de pastel de coco (FDTC). Los resultados mostraron que la hidrólisis contribuyó a la modificación estructural de la FDTC, según el análisis de resultados de DRX, FTIR y MEB. Además, incrementó el contenido de hidratos de carbono solubles, la capacidad de retención de agua y la capacidad de hinchamiento, la inhibición de la α -amilasa, el índice de retraso de diálisis de la glucosa y la capacidad de intercambio catiónico de la FDTC; pero tuvo efectos indeseables sobre el color, la capacidad de retención de aceite y la capacidad de emulsión.

Rivera-Cruz (2018) realizó la modificación de la FD contenida en la harina de bagazo de piña (HBP) por hidrólisis enzimática, empleando la enzima celulasa a tres diferentes concentraciones (0.5, 1 y 1.5 U/g) y tres tiempos de hidrólisis (30, 60 y 90 min). Los resultados mostraron que la modificación enzimática empleando una concentración enzimática de 1 U/g por 30 min de hidrólisis y 1.5 U/g por 90 min de hidrólisis, incrementaron el contenido de FDS 59.3 y 34 veces, respectivamente, con respecto a la harina nativa. Por otro lado, debido a la hidrólisis de la porción amorfa en celulosa, los tratamientos enzimáticos influyeron en las propiedades viscoelásticas, la cristalinidad y en la estructura de la FD del bagazo de piña, lo cual se reflejó en los análisis reológicos, DRX y FTIR-ART, respectivamente. Además, la capacidad de retención de agua y aceite de la HBP incrementaron con los tratamientos enzimáticos. Los efectos en la difusión de glucosa e inhibición de la actividad de α -amilasa se vieron favorecidos por la modificación enzimática a diferentes concentraciones de enzima y tiempos de hidrólisis, lo que está relacionado con el incremento en el contenido de FDS.

1.2.2 Ultrasonido

Como se mencionó en la sección anterior, la hidrólisis enzimática ha sido ampliamente utilizada para modificar los contenidos o relaciones FDI:FDS en diversos residuos agroindustriales, esto

debido a las características sensoriales indeseables que otorga la FDI y a la mayor funcionalidad por parte de la FDS. Aunado a esto, la hidrólisis enzimática ha dado buenos resultados en la modificación de fuentes de fibra dietética, sin embargo, se ha visto la necesidad de mejorarlos mediante la aplicación de pretratamientos. El objetivo de un pretratamiento es ocasionar la ruptura de la lignina y la hemicelulosa, al igual que de las regiones cristalinas y amorfas en la estructura de la celulosa, de modo que las enzimas puedan acceder e hidrolizar fácilmente (ver Figura 1) (Karimi *et al.*, 2014).

La irradiación con ultrasonido o sonicación se considera una posibilidad, y se refiere a ondas de sonido con frecuencias entre 20 kHz y 1 MHz, las cuales viajan de forma secuencial en un medio particular (Zumar y Mohee, 2018). A medida que las ondas se mueven a través del medio, se forman burbujas de gas y vapor, las cuales aumentan de tamaño hasta alcanzar un diámetro crítico e implosionan, creando un fenómeno conocido como cavitación (Zumar y Mohee, 2018). El colapso de las burbujas de gas libera energía y da lugar a condiciones de alta temperatura y presión, lo que ocasiona alteraciones de la estructura lignocelulósica (Zumar y Mohee, 2018).

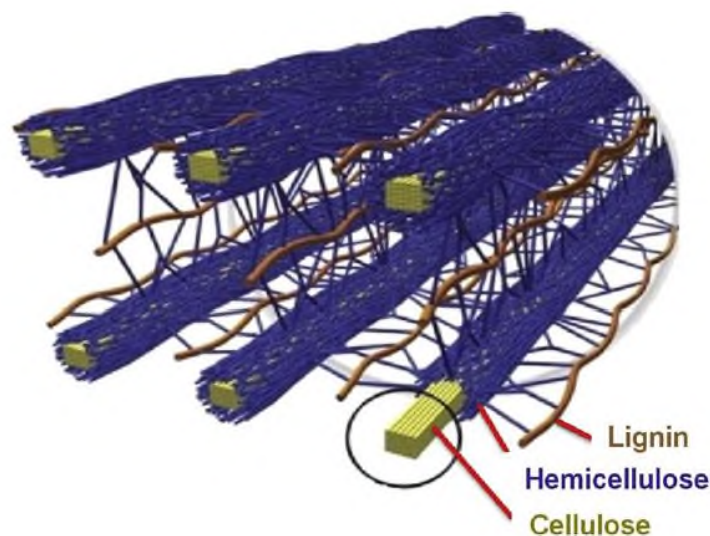


Figura 1. Cadenas de celulosa rodeadas de hemicelulosa y lignina (Ghaffar y Fan, 2013).

A nivel laboratorio, la combinación ultrasonido - hidrólisis enzimática ha sido utilizada para intensificar el proceso de deslignificación de materiales lignocelulósicos y en la obtención de biocombustibles a partir de la producción de azúcares fermentables. Subhedar *et al.* (2015)

incrementaron 2.4 veces la liberación de azúcares reductores de residuos de periódico mediante hidrólisis enzimática asistida por ultrasonido, las condiciones óptimas obtenidas fueron: carga de sustrato de 3 % (p/v), carga de enzima de 0.8 % (p/v), potencia de sonicación de 60 W, ciclo de trabajo del 70 % y tiempo de hidrólisis de 6.5 h. Además, se informó que los pretratamientos con ultrasonido y la posterior hidrólisis enzimática redujeron la lignina y aumentaron los compuestos solubles en detergentes neutros de mazorcas de maíz y brotes de vid, lo que los hizo más accesibles para la conversión de biogás (Pérez-Rodríguez *et al.*, 2016). Asimismo, el tratamiento combinado de ultrasonido - lacasa degradó un 75 % la lignina presente en césped Napier y redujo un 50 % el tiempo de tratamiento en comparación con el tratamiento convencional con álcali, las condiciones óptimas para la deslignificación se obtuvieron a una frecuencia de 24 kHz, 100 W de potencia y 6 h de sonicación (Narsappa y Pandit, 2016).

Por otro lado, en la industria alimentaria, el ultrasonido es aplicado para complementar las operaciones unitarias o en el procesamiento de productos alimenticios, ya sea mediante exposición directa o utilizando como instrumento un sonotrodo o baño de agua ultrasónico (Figura 2).

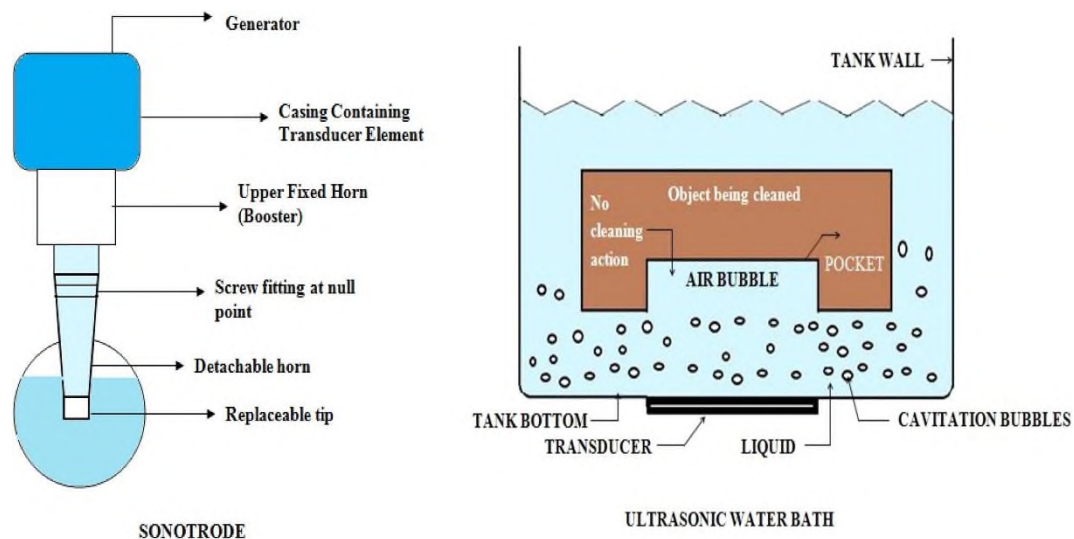


Figura 2. Métodos de aplicación de ultrasonidos (Bhargava *et al.*, 2021).

Un sonotrodo es la herramienta de un soldador y, por lo tanto, en el caso del procesamiento de alimentos, se emplea principalmente en acciones de corte y rebanado. El rebanado ultrasónico de queso, galletas, frutas y verduras, etc. da como resultado productos perfectamente cortados y rebanados. Además, contrariamente a las técnicas de corte convencionales, la tecnología

ultrasonica minimiza la pérdida de producto y aumenta la productividad (Lucas *et al.*, 2005). Por su parte, los baños de agua ultrasónicos han sido métodos ampliamente aceptados para la limpieza y el saneamiento en las operaciones de procesamiento de alimentos y bebidas. Las ondas ultrasónicas producidas por el equipo en el líquido de limpieza hacen que el alimento sea seguro para el consumo, generalmente empleado en procesos de desengrasado (Bhargava *et al.*, 2021).

La aplicación del tratamiento con ultrasonidos es eficaz en el procesamiento de diversos productos alimenticios:

En la industria cárnica, el ultrasonido se ha utilizado con éxito para mejorar procesos como la transferencia de masa y el marinado, el ablandamiento de la carne y la inactivación de microorganismos (Alarcon-Rojo *et al.*, 2019).

En frutas y verduras, la firmeza se ha visto influenciada por la aplicación de ultrasonido. Asimismo, se han observado cambios de color que podrían atribuirse a la probable inactivación de las enzimas fenolperoxidasa y polifenol oxidasa. Además, la sonicación también imparte un efecto antimicrobiano que podría deberse a la formación de radicales libres y la cavitación (Nicolau-Lapeña *et al.*, 2019).

En la industria láctea, ha sido beneficioso en la inactivación microbiana. El ultrasonido de alta intensidad es capaz de mejorar la viabilidad de la cepa probiótica para cultivos iniciadores utilizados para la fabricación de leches de cultivo y sus productos. El tratamiento con ultrasonido mejora las propiedades sensoriales de los productos lácteos fermentados junto con sus cualidades nutricionales debido a un aumento de péptidos bioactivos y oligosacáridos, reduciendo el contenido de lactosa. Además, el ultrasonido reduce el tiempo necesario para la maduración del queso, al liberar enzimas intracelulares, acelerar la degradación de la estructura de las proteínas y mejorar las propiedades texturales, sensoriales y nutricionales (Bhargava *et al.*, 2021). Asimismo, la aplicación de ultrasonido de alta intensidad disminuye el tamaño de los glóbulos de grasa en la producción de yogur, mejora la viscosidad, disminuye la sinéresis, aumenta la fuerza del gel y acelera la fermentación (Akdeniz y Akalin, 2019).

1.3 FIBRA DIETÉTICA

La fibra dietética es uno de los componentes reconocidos como ingrediente funcional, ésta se define como hidratos de carbono con tres o más unidades monoméricas que no se digieren ni se absorben en el intestino delgado humano, incluye los carbohidratos comestibles que se producen de forma natural, los obtenidos a partir de materias primas alimentarias mediante tratamientos físicos, químicos o enzimáticos y los sintetizados artificialmente pero que demuestran beneficios para la salud (CODEX, 2009).

La razón por la que el organismo humano no puede procesarla se debe a que el aparato digestivo no dispone de las enzimas que pueden hidrolizarla. Esto no significa que la FD pase intacta a través del aparato digestivo, ya que, aunque el intestino no dispone de enzimas para digerirla, las enzimas de la microbiota intestinal la fermentan parcial o totalmente y la descomponen en diversos compuestos químicos: gases (hidrógeno, dióxido de carbono y metano) y ácidos grasos de cadena corta (AGCC) (acético, propiónico y butírico) (Saura-Calixto *et al.*, 2000).

La FD está formada por una mezcla heterogénea de sustancias que por sus propiedades físicas y el efecto que cumplen en el organismo se clasifican como fibra dietética soluble (FDS) y fibra dietética insoluble (FDI), referida dicha solubilidad a las fibras que se dispersan en el agua (Rodney *et al.*, 2017).

1.3.1 Fibra dietética soluble

La FDS está formada por componentes que captan mucha agua (inulina, pectinas, β -glucanos, gomas, mucílagos y fructooligosacáridos) los cuales son capaces de formar geles viscosos en el tracto intestinal retardando la evacuación gástrica y con ello generando una mayor sensación de saciedad, además, ayuda a reducir la respuesta glucémica y el colesterol plasmático, disminuir el riesgo de enfermedades cardiovasculares y proteger contra el cáncer colorrectal (Rodney *et al.*, 2017; Vega-López *et al.*, 2018). Este tipo de fibra predomina en las leguminosas, cereales (avena y cebada) y frutas (Zambrano *et al.*, 1998).

1.3.2 Fibra dietética insoluble

La FDI no se disuelve en agua (celulosa, hemicelulosa y lignina), pasa a través del tracto intestinal sin sufrir cambios, suaviza la consistencia de las heces y aumenta la frecuencia del peso de

defecación acelerando el tránsito intestinal (Rodney *et al.*, 2017), pero tiene un impacto negativo en el color, textura y sabor cuando se añade a un producto alimenticio. De manera natural, se encuentra en todos los granos integrales, salvado de trigo y algunos vegetales (Dreher, 1999).

Las frutas y verduras (cualquier producto vegetal) contienen fibras solubles e insolubles, pero la proporción de éstas varía de acuerdo con el tipo y grado de madurez de la verdura o fruta. Cerca del 75 % de la fibra dietética en los alimentos está presente en la forma de FDI (Dreher, 1999).

1.3.2.1 Celulosa

La celulosa consiste en una cadena lineal de monómeros de glucosa con enlaces β -(1 \rightarrow 4) y es el componente estructural de las paredes celulares en plantas y vegetales (Figura 3a). Es insoluble en agua e inerte a las enzimas digestivas en el intestino delgado. Sin embargo, puede pasar por una fermentación microbiana hasta cierto punto en el intestino grueso y producir AGCC (James y Mark, 2010).

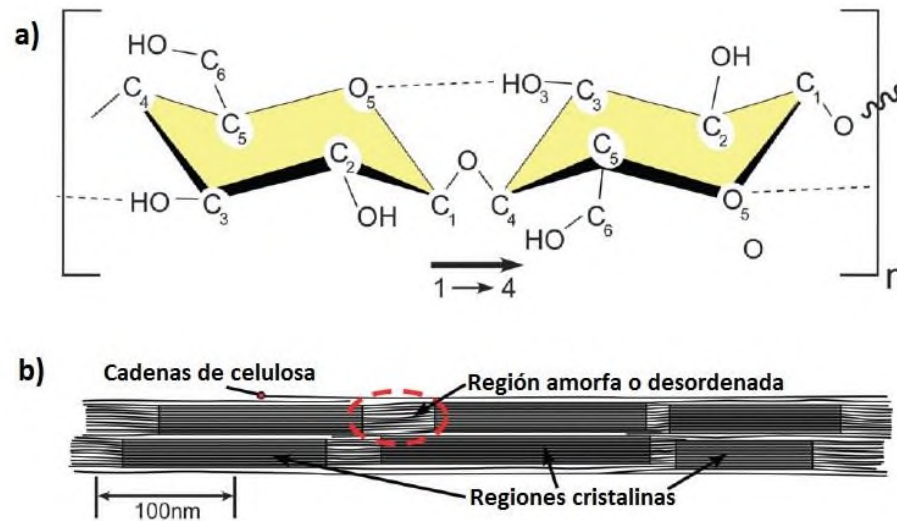


Figura 3. Esquemas de (a) unidad de repetición de la cadena de celulosa, que muestra la direccionalidad del enlace 1-4 y el enlace de hidrógeno intramolecular (línea de puntos) y, (b) microfibrilla de celulosa idealizada que muestra una de las configuraciones sugeridas de las regiones cristalina y amorfa (Moon *et al.*, 2011).

Las moléculas de celulosa tienen regiones amorfas desordenadas y cristalinas altamente ordenadas a lo largo de su cadena (Figura 3b). Las unidades individuales de β -D-glucosa unidas por un enlace glicosídico (1-4), así como los enlaces de hidrógeno intermoleculares e intramoleculares y las interacciones hidrófobas dan lugar a una estructura de celulosa rígida e insoluble en agua (Lindman *et al.*, 2010). Sin embargo, se han desarrollado muchas celulosas

modificadas, como celulosa en polvo, celulosa microcristalina e hidroxipropilmetilcelulosa, que se utilizan como ingredientes alimentarios. La diferencia entre celulosas naturales y modificadas es el grado de cristalización y enlaces de hidrógeno. Cuando estos enlaces de hidrógeno se rompen y la cristalinidad se pierde, el derivado de celulosa se vuelve soluble en agua (Lindman *et al.*, 2010).

1.3.2.2 Hemicelulosas

Las hemicelulosas son polisacáridos de estructura compleja y diferente composición química. Aunque su clasificación es difícil, el criterio más generalizado es la denominación dependiendo del residuo monomérico predominante (Lineback, 1999). Incluyen moléculas lineales y ramificadas. Cabe destacar que la hemicelulosa tiene un grado de polimerización mucho menor (100-200 U) en comparación con el de la celulosa y la lignina. La hemicelulosa es más inestable que la celulosa y, por lo tanto, se degrada más fácilmente cuando se le somete a un tratamiento térmico (Tekin *et al.*, 2014). Dentro de este grupo tan heterogéneo se presentan, las hemicelulosas neutras que incluyen pentosas de arabinosa y xilosa, y hexosas de galactosa, manosa y glucosa, y las hemicelulosas ácidas, donde aparecen los ácidos galacturónico y glucurónico. Las diferencias en la composición química hacen que presenten diferentes propiedades físicas y químicas, de manera que en este grupo existen componentes solubles y otros insolubles (Mataix y Gassull, 2002; Gray, 2006). Entre la diversidad de polímeros hemicelulósicos, los más abundantes y ampliamente extendidos son los xilanos, los β -glucanos y los xiloglucanos (Lineback, 1999).

1.3.2.3 Lignina

La lignina no es un carbohidrato, sin embargo, se encuentra químicamente unida a las hemicelulosas en la pared de la célula vegetal y, como tiene influencia sobre algunos aspectos de la fisiología gastrointestinal, se le incluye dentro de la categoría de fibra dietética insoluble (Mataix y Gassull, 2002). Las moléculas de lignina son polímeros altamente complejos y variables y están compuestas de tres alcoholes aromáticos principales: cumarilo, coniferilo, sinapilo (Figura 4). Es un polímero de alto peso molecular, que se forma por deshidrogenación enzimática y posterior polimerización de los alcoholes antes nombrados. En las plantas, la lignina proporciona estructura e integridad, lo que permite a la planta mantener su forma, además, les proporciona sus características “leñosas” (Jalili *et al.*, 2015).

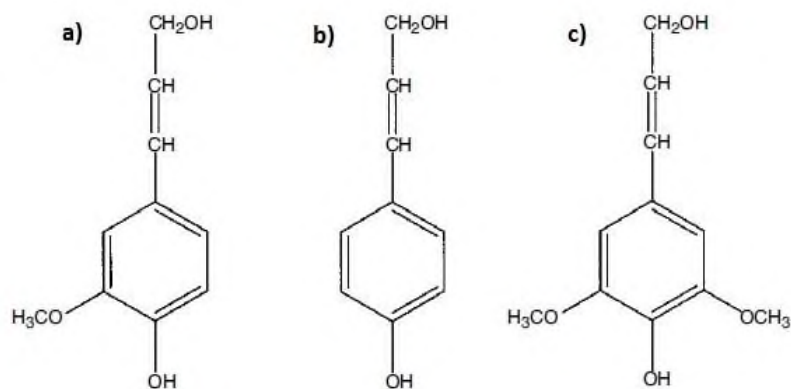


Figura 4. Monómeros que conforman la molécula de lignina: a) trans-coniferil, b) trans-p-cumaril y c) trans-sinapil (Jalili *et al.*, 2015).

1.3.3 Beneficios a la salud

La microbiota colónica fermenta parcial o completamente los carbohidratos que resisten la digestión y la absorción en el intestino delgado. De manera general, se conoce que la fermentación colónica tiene como productos finales AGCC: acético, propiónico y butírico, en una proporción molar 60:20:20, respectivamente (Boets *et al.*, 2017). Estos AGCC disminuyen el pH intestinal y ejercen un efecto vasodilatador local, por lo que se incrementa la absorción de agua y sales en el intestino grueso, haciendo que esta mayor reabsorción de agua proteja frente a la diarrea (Musch *et al.*, 2001). El acetato producido en la fermentación microbiana en el intestino escapa en gran medida al metabolismo de primer paso en el hígado. Puede aportar unidades de acetilo a la lipogénesis en el citosol de los hepatocitos y adipocitos, pero su principal sitio de oxidación es el músculo periférico. También puede regular la lipólisis del tejido adiposo y puede actuar sobre la regulación del apetito central (den Besten *et al.*, 2013). El propionato actúa localmente en el intestino sobre las células L enteroendocrinas para estimular la liberación de las hormonas intestinales anorexigénicas PYY y GLP-1. El propionato se absorbe en gran parte a través del intestino y se secuestra principalmente en el hígado, donde se puede oxidar o usar en la gluconeogénesis (Wilson *et al.*, 2017). Además, el propionato tiene un efecto inhibitorio sobre enzimas involucradas en la síntesis endógena de colesterol como la acetil-CoA reductasa, responsable de la síntesis de acetil-CoA a partir de acetato, y sobre todo la 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA reductasa (Al-Lahham *et al.*, 2010). Por su parte, el ácido butírico tiene efectos importantes sobre las células epiteliales colónicas, tanto *in vitro* como *in vivo*, por lo que actualmente se le reconoce como el principal componente protector en las dietas ricas en FD

frente al cáncer colorrectal (CCR). El butirato puede disminuir la expresión de NRP-1 mediante la inhibición de la transactivación de Sp1 para suprimir la angiogénesis, la metástasis y la supervivencia de las células de CCR, y puede promover la apoptosis de las células de CCR al hiperactivar la vía de señalización Wnt. Aunado a esto, el butirato puede restringir la proliferación celular, la formación de colonias, la invasión celular e inducir la apoptosis celular en células de CCR a través de la regulación positiva de la expresión de miR-203, P21waf1 y Bax, y promover la expresión de endocan. Así mismo, el butirato puede aumentar los niveles de mRNA de las proteínas p57 al inhibir la expresión de C-Myc, lo que reduce la transcripción del grupo de miR-17-92a y el nivel de miR-92a (Figura 5) (Wu *et al.*, 2018). Los tres AGCC potencialmente juegan un papel en la regulación de la presión arterial; acetato y propionato a través de una interacción compleja que involucra la producción de renina mediada por Olfcr78 y la contrarregulación a través de FFAR3 y butirato a través de la atenuación de la expresión inducida por angiotensina II de los receptores de prorenina renales y la renina (Chambers *et al.*, 2018) El mecanismo general de acción de los AGCC en la salud metabólica se muestra en la Figura 6.

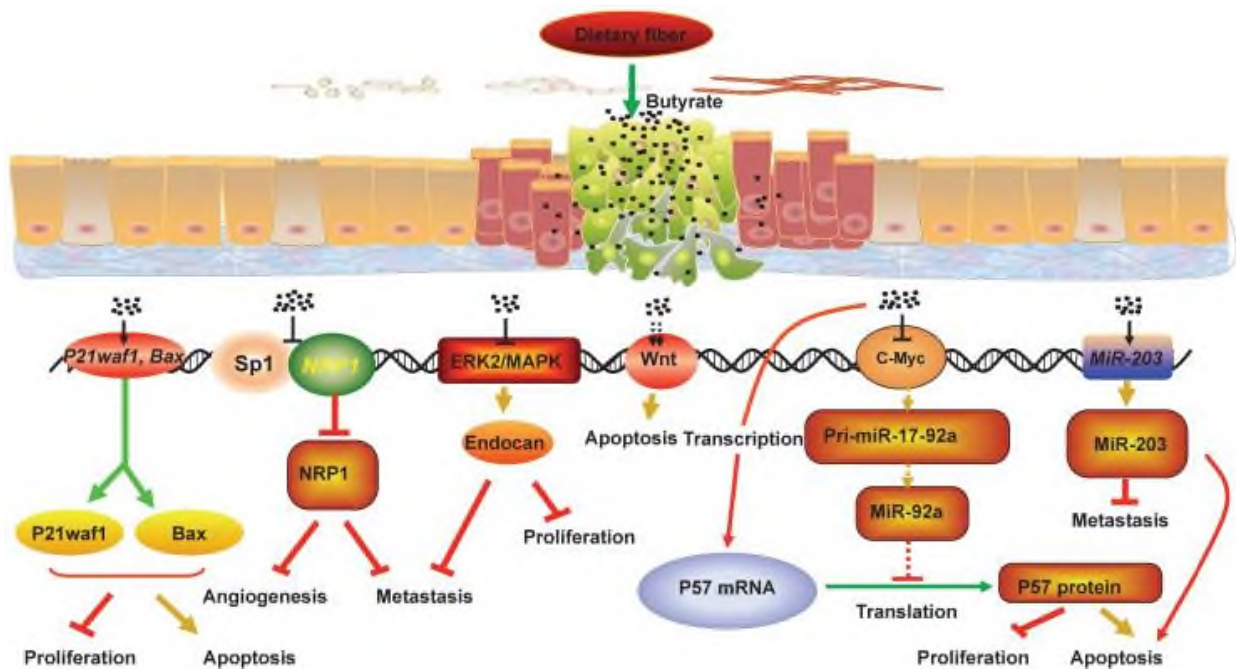


Figura 5. Mecanismos por el que el butirato suprime el desarrollo de cáncer colorrectal (Wu *et al.*, 2018).

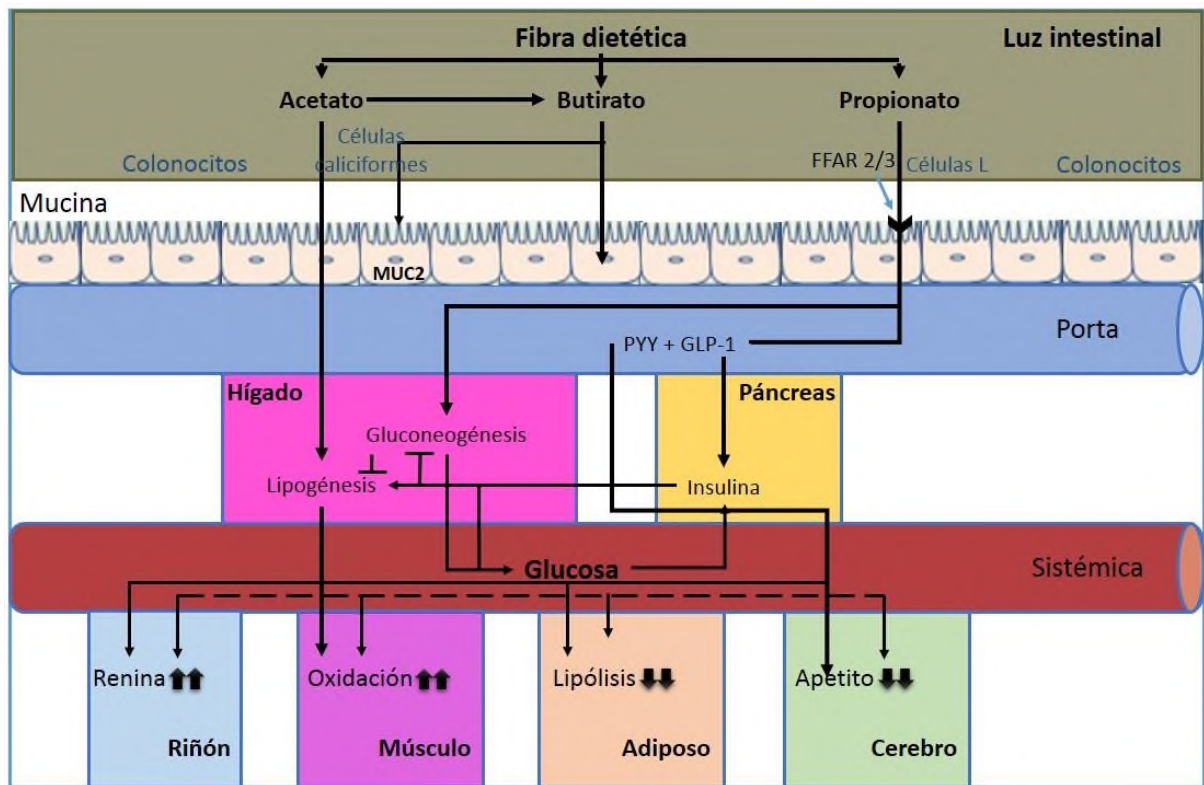


Figura 6. El mecanismo general de acción de los AGCC en la salud metabólica (Adaptado de Chambers *et al.*, 2018).

Además, los carbohidratos no digeridos que alcanzan el intestino grueso suavizan la consistencia de las heces y aumentan la frecuencia del peso de defecación. Con una mayor ingesta de FD, el peso de las heces tiende a ser mayor y el tiempo de tránsito disminuye, lo que puede contribuir a la prevención de trastornos del intestino grueso, como estreñimiento, diverticulitis y cáncer (Elleuch *et al.*, 2011). La mayoría de los carbohidratos no absorbidos tienen efectos laxantes, tanto por el aumento de la masa bacteriana o los efectos osmóticos, como por la unión del agua a la fibra no fermentada restante (Mudgil y Barak, 2013).

Estudios recientes muestran una asociación inversa entre la ingesta de FD y el riesgo de enfermedades coronarias. En general, se considera que los niveles adecuados de ingesta de FD disminuyen el riesgo de enfermedades coronarias. Los mecanismos postulados para niveles bajos de colesterol de lipoproteínas totales y de baja densidad (LDL) incluyen alteraciones en la absorción de colesterol y la reabsorción de ácidos biliares, y alteraciones en el metabolismo hepático y la depuración plasmática de las lipoproteínas. Las fibras altamente viscosas (como los β -glucanos de avena, las pectinas y la goma guar) influyen en los niveles de lípidos en la sangre,

mientras que las fibras no viscosas, como la fibra de trigo y la celulosa, generalmente no lo hacen. En algunos países, la evidencia de las propiedades reductoras del colesterol de ciertas fibras viscosas, especialmente β -glucanos de la avena, se consideran suficientes para los reclamos sobre la reducción del riesgo de enfermedades coronarias (Theuwissen y Mensink, 2008).

Por otro lado, en países desarrollados y en vías de desarrollo, la diabetes tipo 2 es reconocida como un problema importante para la salud; fisiopatología que ocasiona la disminución de la sensibilidad de insulina y la alteración de la función de las células β del páncreas que conduce a la hiperglicemia (Kim *et al.*, 2016). En la actualidad, la ingesta de alimentos ricos en FD ya sea en forma natural (cereales y leguminosas integrales), enriquecidos o como fibras purificadas; es considerada como una terapia médica y es una buena estrategia para reducir la hiperglucemia postprandial en pacientes con diabetes tipo 2. Los mecanismos están basados en la reducción de la densidad en calorías de los alimentos, tiempo prolongado de masticación, aumento de la saciedad, retraso en el vaciamiento gástrico y atenuación de la velocidad de absorción de glucosa en el intestino delgado debido a que la fibra tiene la capacidad de adsorber y retener moléculas orgánicas como la glucosa y grasas (Kim *et al.*, 2016; Bae *et al.*, 2016). Estudios en humanos, han demostrado que el consumo de 15 g/día de fibra reduce significativamente la diabetes (Slavin, 2013). Por otro lado, la Asociación Americana de Diabetes (sigla en inglés: ADA) recomienda el consumo de fibra entre 20 y 25 g/día (soluble e insoluble) en personas saludables para mantener un mejor control glucémico e insulínico, y en pacientes con diabetes tipo 2 hasta 50 g/día de fibra; aunque esta cantidad puede presentar limitaciones en la palatabilidad y problemas gastrointestinales secundarios (distensión abdominal, meteorismo y dolor abdominal) (Miller, 2014).

1.3.4 Ingesta de fibra dietética

La fibra es un carbohidrato que no se digiere ni se absorbe, por lo que aporta pocas calorías, o ninguna. El Instituto de Medicina (The Institute of Medicine, Washington, DC) recomienda que los adultos sanos consuman: 25 g de fibra diaria para mujeres y 38 g de fibra diaria para hombres. Las recomendaciones de fibra para niños y ancianos son 14 g de fibra por cada 1000 calorías consumidas (Rodney *et al.*, 2017).

En México, el consumo de FD es de 13.6 g/día, valor muy por debajo al recomendado por la OMS, esto es debido a que la mayoría de la población, especialmente en la zona urbana, se lleva una dieta rica en carnes rojas y azúcares y un consumo menor de frutas y verduras, aunado a que actualmente las personas llevan un ritmo de vida acelerado. Otra de las limitantes en el consumo de FD son las características sensoriales que ésta le confieren a un producto, ya que suele afectar su apariencia e imparten una sensación fibrosa dificultando su masticación y deglución (Glicerina *et al.*, 2017). Algunos de los productos disponibles comercialmente con alto contenido en fibra se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3. Productos comerciales adicionados con fibra dietética.

Producto comercial	Contenido de FD (g/100g)
Galleta de Avena 0 % azúcar (almendrada) ®	15
Thins 100 % integral ®	12
Multigrano linaza ®	9.38
Stila ®	9.38
Bran Frut fresa ®	6.25

BIMBO, 2020; QUAKER, 2020.

1.4 CARACTERIZACIÓN DE RESIDUOS AGROINDUSTRIALES

Los residuos agroindustriales presentan una característica común, la fracción orgánica (constituida principalmente por celulosa), ideal para su aprovechamiento en un sinnúmero de procesos dentro del mismo sector y/o en el flujo económico del país. Sin embargo, es necesaria la caracterización de estos para conocer la cantidad generada, composición química y cantidad y calidad de sus componentes, con el objetivo de seleccionar el proceso o sector donde puede ser aprovechado para su transformación y con ello lograr productos con alto valor añadido, o bien, su disposición como residuo orgánico por no tener un valor comercial. Aunado a esto, y como se señaló en la sección anterior, diversas investigaciones se han encargado de caracterizar los residuos agroindustriales (modificados o no) en términos de sus propiedades funcionales, estructurales, reológicas y térmicas, siendo conveniente entender los principios básicos de las técnicas que permitirán explicar los cambios observados.

1.4.1 Caracterización estructural

La difracción por rayos X y la espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR), han llegado a ser técnicas bien establecidas para analizar la cristalinidad de los polímeros y el comportamiento de varios enlaces químicos, especialmente en celulosa y almidón.

1.4.1.1 Difracción de rayos X

En materiales lignocelulósicos, como son los residuos agroindustriales, el patrón de difracción de rayos X es usado para identificar los polimorfos de celulosa cristalina (I, II, III, IV) y para detectar cambios en el grado cristalino de la celulosa, causados por tratamientos físicos, químicos y biológicos. Por lo tanto, el patrón de DRX permite calcular la cristalinidad de los materiales.

Cuando los rayos X inciden sobre átomos de sólidos, los electrones de los átomos los dispersan. La interferencia de ondas constructivas o destructivas se produce en diferentes direcciones a medida que las ondas dispersas (patrón de difracción) son emitidas por átomos en diferentes posiciones (Fultz y Howe, 2013). Sin embargo, la interferencia constructiva ocurre si el sólido tiene una disposición ordenada de estructura atómica. Existe una fuerte relación entre los patrones de difracción y la estructura atómica periódica de los cristales en los materiales. La disposición atómica (periodicidad) con largas distancias repetidas causa difracción en ángulos pequeños, mientras que distancias cortas repetidas conducen a difracción en ángulos altos (Fultz y Howe, 2013). La posición del pico de difracción se utiliza para determinar la forma y el tamaño de la celda unitaria, mientras que la intensidad del pico de difracción determina la posición atómica dentro de la celda y el número atómico (Zhang *et al.*, 2002). Bragg proporcionó una explicación y medición alternativa simple para la difracción de rayos X monocromáticos de un solo cristal. El análisis de Bragg (Figura 7) asumió que los cristales están en capas o planos atómicos (plano de celosía - hkl) con una distancia de separación, d , y producen reflexión cuando la luz incidente o los rayos X inciden en los planos de los átomos. Posteriormente, el haz incidente forma un ángulo θ igual con el haz difractado correspondiente en el plano de la red. Para la interferencia constructiva, la condición de difracción de Bragg se satisface si la diferencia de la longitud de trayectoria es igual a $n\lambda$. De acuerdo con la ley de Bragg, la interferencia constructiva ocurre solo si (Ameh, 2019):

$$AB + BC = n\lambda \quad (1)$$

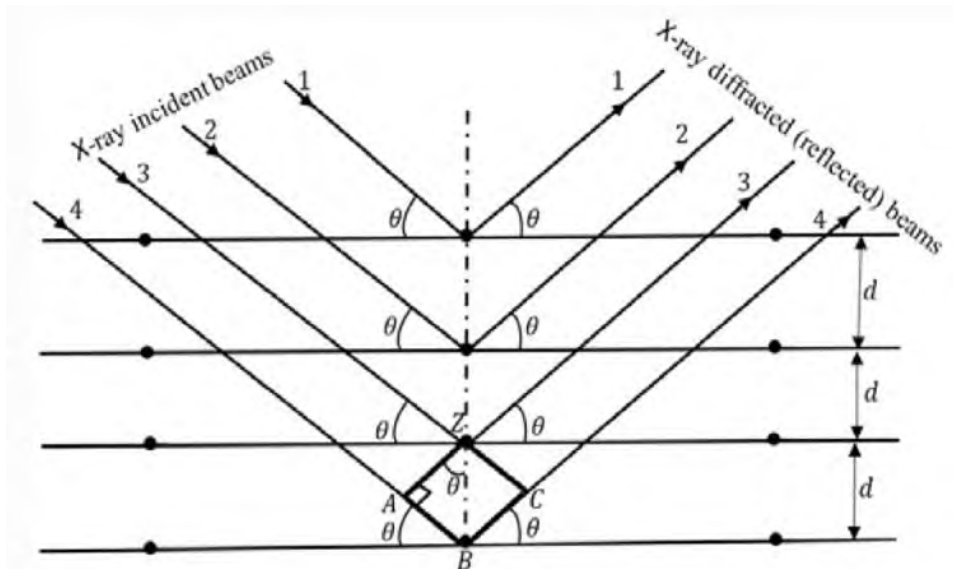


Figura 7. Esquema del patrón de difracción de rayos X (Ameh, 2019).

La longitud de onda típica de los rayos X es entre 0.1 y 1.0 nm, que es comparable al espacio molecular en un cristal. Cuando el destello del rayo X choca con un cristal colocado en una superficie especial, permite que el cristal sea rotado con respecto al destello incidente y sucede la difracción. El destello difractado es una medida para obtener información de la estructura del cristal y las moléculas que lo forman (Bello-Pérez, 1995).

1.4.1.2 Espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR)

Por otro lado, la espectroscopía FTIR analiza los enlaces químicos representativos cuando la radiación infrarroja pasa a través de una muestra. Generalmente, la espectroscopía IR es aplicable a una amplia gama de materiales y condiciones y podría utilizarse para análisis cualitativos y cuantitativos.

El instrumento que determina el espectro de absorción de un compuesto se llama espectrofotómetro. El espectrofotómetro de transformada de Fourier proporciona el espectro IR mucho más rápidamente en comparación con el espectrofotómetro tradicional. La Figura 8 ilustra esquemáticamente los componentes principales de un espectrofotómetro FTIR simple. El instrumento produce un haz de irradiación IR, que se emite desde una fuente de cuerpo negro brillante. Posteriormente, el haz pasa a través del interferómetro donde tiene lugar la codificación espectral. La recombinación de haces con diferentes longitudes de trayectoria en el

interferómetro crea una interferencia constructiva y destructiva llamada interferograma. El haz entra ahora en el compartimento de muestras y la muestra absorbe frecuencias específicas de energía, que son características únicas de la muestra del interferograma. Luego, el detector mide la señal de interferograma especial en energía vs tiempo para todas las frecuencias simultáneamente. Mientras tanto, se superpone un rayo para proporcionar una referencia (fondo) para el funcionamiento del instrumento. Finalmente, el espectro deseable se obtuvo después de que el interferograma sustrajo automáticamente el espectro del fondo del espectro de la muestra mediante el software informático de transformación de Fourier (Mohamed *et al.*, 2017).

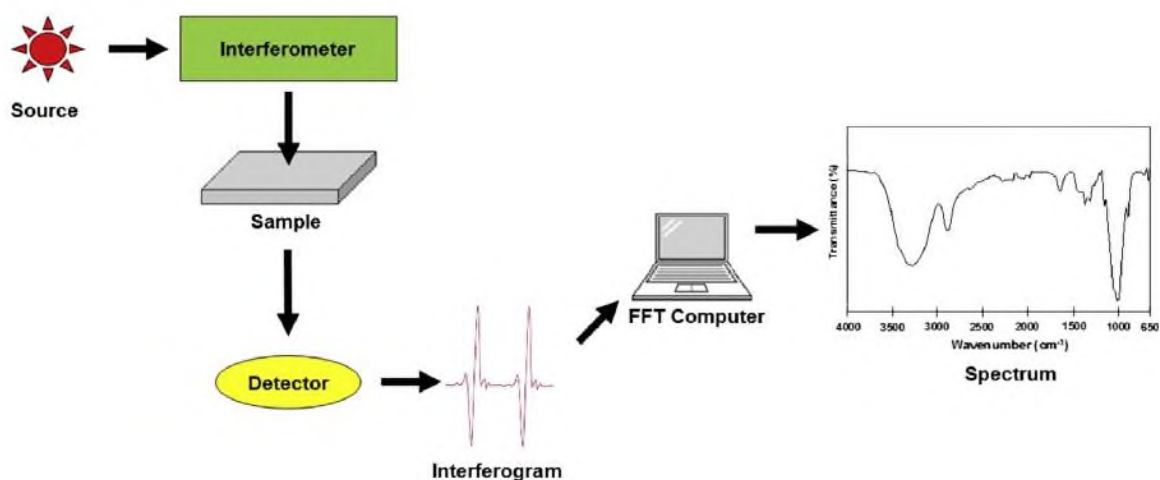


Figura 8. Componente básico del espectrómetro infrarrojo por transformada de Fourier (Mohamed *et al.*, 2017).

Básicamente, el espectro IR obtenido del espectrómetro FTIR se encuentra en la región de IR medio de 2.5 - 15 μm entre 4000 y 666 cm^{-1} . Las energías de transición correspondientes a los cambios en el estado de energía vibratoria para muchos grupos funcionales se encuentran en la región del IR medio (4000 - 400 cm^{-1}) y, por lo tanto, la aparición de una banda de absorción en esta región se puede usar para determinar si existen grupos funcionales específicos dentro de la molécula. Normalmente, hay cuatro regiones de tipos de enlaces que pueden analizarse a partir de los espectros FTIR. Como se muestra en la Figura 9, el enlace simple (O-H, C-H y N-H) es detectable en un número de onda más alto (2500 - 4000 cm^{-1}). Además, el triple enlace y el doble enlace son detectables en la región media del número de onda 2000 - 2500 cm^{-1} y 1500 - 2000 cm^{-1} , respectivamente. Asimismo, la vibración de la molécula en conjunto da lugar a un patrón

complejo de vibraciones en la región de bajo número de onda de $650 - 1500 \text{ cm}^{-1}$ que son característicos de la molécula en su conjunto y, por lo tanto, pueden usarse para la identificación (Mohamed *et al.*, 2017).

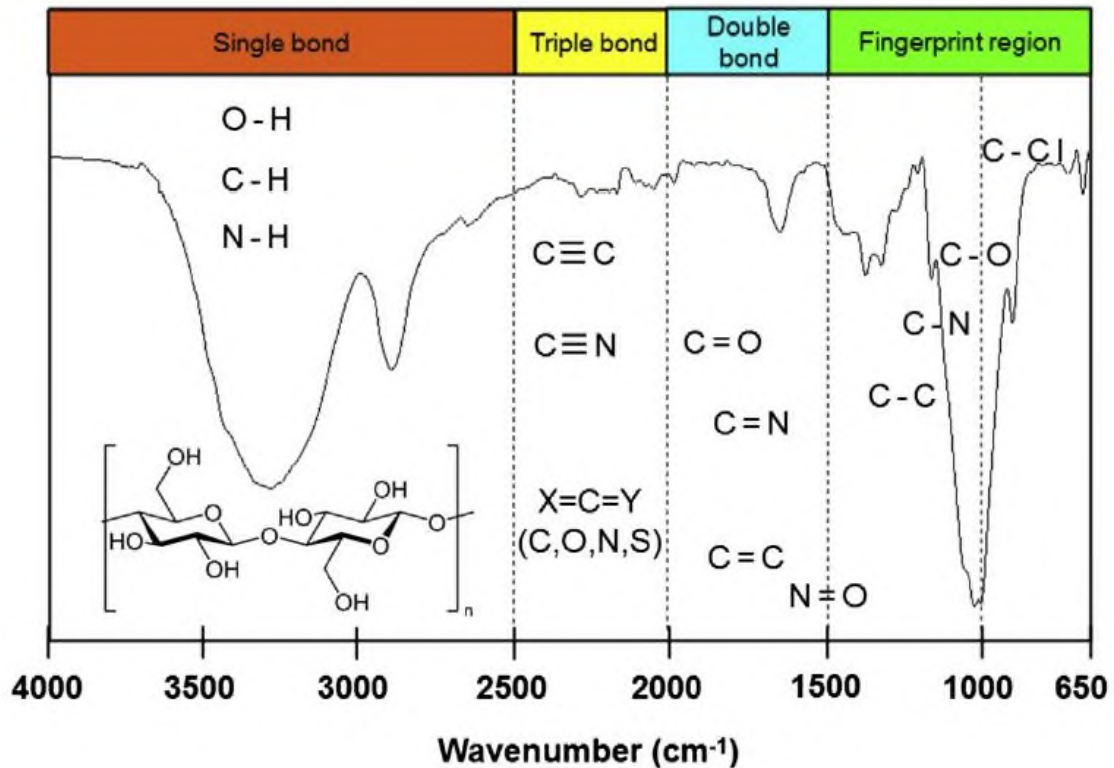


Figura 9. Espectros infrarrojos típicos de la transformada de Fourier. El recuadro corresponde a la estructura molecular de la celulosa (Mohamed *et al.*, 2017).

1.4.2 Evaluación reológica

La reología es la ciencia que estudia la relación entre el esfuerzo y la deformación a través de relaciones matemáticas constitutivas reológicas de estado (Muller, 1973). Ésta describe las propiedades mecánicas de los materiales bajo diferentes condiciones de esfuerzo y deformación.

La importancia o razones fundamentales para justificar el estudio del comportamiento reológico de los materiales son las siguientes:

1. Contribuye al conocimiento de su estructura, por ejemplo: existe cierta relación entre el tamaño y forma molecular de las sustancias en disolución y su viscosidad, así como entre el grado de entrecruzamiento de los polímeros y su elasticidad.

2. En la industria se efectúan con frecuencia medidas reológicas sobre las materias primas y los productos en elaboración que son de gran utilidad para el control de los procesos.
3. Ayuda al diseño de las máquinas; es preciso que tolvas, tuberías y bombas se adecuen a las características de los productos con los que van a ser utilizadas.

La reología se puede clasificar en viscosidad o flujo viscoso, elasticidad o deformación elástica y viscoelasticidad (Steffe, 1992; Macosko, 1994).

1.4.2.1 Viscoelasticidad

La mayoría de los materiales manifiestan simultáneamente flujo viscoso y elasticidad, fenómeno denominado viscoelasticidad. Estos materiales se caracterizan por la presencia de una estructura tridimensional incompleta que se destruye por aplicación de un esfuerzo y sólo se recupera parcialmente cuando el esfuerzo es removido. Mientras más completa y resistente a la ruptura es la estructura, más pronunciada es su elasticidad, y mientras más fácil se rompa su estructura, mayor es su comportamiento viscoso (Borwankar y Shoemaker, 1992; Steffe, 1992).

En el caso de materiales viscoelásticos, una de sus características más importantes es la dependencia del tiempo de la respuesta a ciertos esfuerzos (tensiones) y deformaciones aplicados. Consecuentemente, es necesaria la inclusión del tiempo como una variable independiente para definir adecuadamente sus propiedades viscoelásticas. De hecho, cuando se mide el comportamiento reológico de estos materiales en un intervalo de esfuerzos o deformaciones se pueden encontrar dos grupos: aquellos considerados como viscoelásticos lineales, en los cuales las propiedades viscoelásticas son una función del tiempo y no de la magnitud de la deformación ni de la velocidad de deformación. Otra clase de materiales viscoelásticos son los no lineales. Estos exhiben propiedades mecánicas que son una función no sólo del tiempo, sino de la magnitud del esfuerzo aplicado.

Un gran número de materiales presenta tanto comportamiento viscoso como elástico, como ejemplos se pueden mencionar los polímeros orgánicos, materiales de construcción, plásticos, etc. En el campo de los alimentos se puede listar infinidad de ejemplos, donde además del aroma, el sabor y la apariencia, la viscoelasticidad influye en la aceptación por parte del consumidor, como son los emulsificantes, agentes estabilizantes, hidrocoloides, polímeros biológicos como el

agar-agar, alginatos, carragenina, gelatina, goma arábica, pectinas, mayonesas, gomas de mascar, etc., (Borwankar y Shoemaker, 1992).

Los reómetros rotacionales con los utilizados para medir la viscoelasticidad de materiales, y se pueden clasificar en dos grupos:

- a) Control de deformación. En estos, la muestra se coloca entre dos placas, una de las cuales gira a una velocidad constante y se mide la fuerza de torsión (esfuerzo) producida en la otra placa. En este caso, la velocidad de rotación es la variable independiente y el torque (esfuerzo) es la variable dependiente.
- b) Control de esfuerzo. Se aplica cierto esfuerzo (torque) a una de las placas y se mide el desplazamiento o la velocidad de rotación de la misma placa.

Así mismo, existen tres tipos de geometrías utilizadas para la medición de la viscoelasticidad: los sistemas de placas paralelas, cono y placa y cilindros concéntricos.

En el sistema de placas paralelas, la velocidad de deformación varía de cero en el centro de la placa hasta un valor máximo en la periferia. Sin embargo, tiene la ventaja de que el espacio entre placas se puede ajustar para acomodar partículas gruesas, lo cual no se logra con otras geometrías.

En el caso de la geometría cono y placa, cuando el ángulo que ambos forman es menor a 3° , la velocidad de deformación se puede considerar constante; además, la inercia del fluido es despreciable, sobre todo cuando se usan bajas velocidades de deformación, se utiliza adecuadamente con muestras cuyo diámetro de partícula sea menor de 10 micrómetros de diámetro.

La geometría de cilindros concéntricos se utiliza más comúnmente para determinaciones de curvas de flujo y de esfuerzo constante de muestras de baja y mediana viscosidad.

1.4.2.2 Métodos de determinación de viscoelasticidad

En reología, los métodos para determinar las funciones viscoelásticas lineales de materiales se caracterizan por ser de baja deformación o de bajo esfuerzo, se dividen en:

- a) Métodos estáticos. Entre los que se pueden mencionar la prueba de relajación de esfuerzo (stress-relaxation) y la de esfuerzo (tensión) constante (creep).

- b) Métodos oscilatorios o dinámicos. Involucran la aplicación ya sea de un esfuerzo o de una deformación oscilatoria (Steffe, 1992).

Las pruebas dinámicas se han convertido en el método más común de estudio del comportamiento viscoelástico de un gran número de materiales, incluyendo a los alimentos, debido a que aportan resultados rápidos con mínimos cambios físicos y químicos. Estas pruebas tienen gran variedad de aplicaciones, por ejemplo: en la evaluación de la fuerza de geles, monitoreo de la gelatinización del almidón, observación de la coagulación o desnaturalización proteínica, evaluación de la formación de la cuajada de quesos, y la correlación de las propiedades reológicas con la evaluación sensorial, así como la estabilidad de productos en el almacenamiento (Borwankar, 1992; Steffe, 1992).

El desarrollo de las ecuaciones para describir las pruebas dinámicas se basa en ciertas suposiciones:

- a) La deformación es la misma en todos los puntos de la muestra.
- b) La inercia de la muestra es despreciable.
- c) El material se comporta como una sustancia viscoelástica lineal.

En las pruebas dinámicas, las muestras se someten a un movimiento que varía armónicamente con el tiempo (movimiento oscilatorio), utilizando geometrías específicas.

El gel es sometido a un periodo de torque de baja amplitud sinusoidal (esfuerzo), la aplicación del esfuerzo es alterada en una frecuencia dada (ciclos s^{-1} o ω radianes s^{-1}). Si el comportamiento de un material viscoelástico es lineal, la deformación será también sinusoidal con el esfuerzo, pero no estarán en fase. En la Figura 10 se presenta la caracterización de los materiales en función a la respuesta obtenida al aplicar un esfuerzo o una deformación oscilatoria. Para un sólido ideal, el esfuerzo está en fase con la deformación, mientras que para un líquido ideal se presentará un desfase de 90° entre el esfuerzo y la deformación. Si el material es viscoelástico, el ángulo de desfase se encontrará entre 0 y 90° (Mitchell, 1980).

Estas pruebas consisten en obtener un barrido de deformación (o esfuerzo, según sea el caso), para determinar los límites del comportamiento viscoelástico lineal de la muestra, dado que en la región lineal, las propiedades reológicas no son dependientes de la deformación ni del esfuerzo.

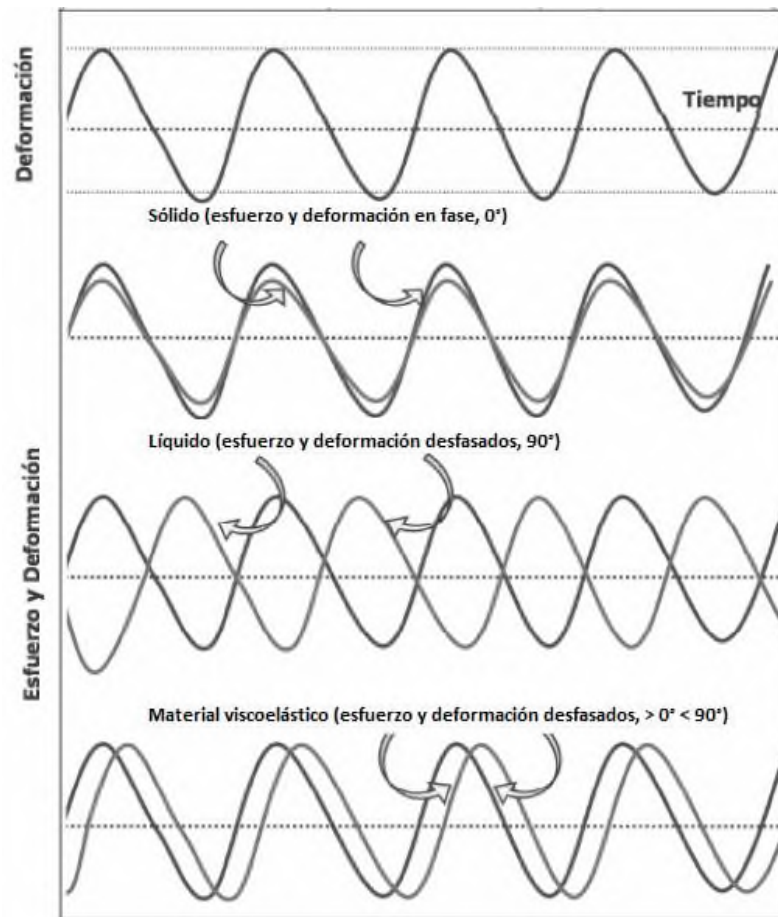


Figura 10. Prueba dinámica oscilatoria de baja amplitud.

Posteriormente, se procede a obtener un barrido de frecuencia, el cual señala los cambios en el comportamiento elástico y viscoso del material, con el tiempo de aplicación de la deformación o del esfuerzo (Ferry, 1980; Macosko, 1994). Los resultados de los experimentos dinámicos son representados por los parámetros G' , G'' y $\tan \delta$. La viscoelasticidad lineal de los módulos dinámicos es función de la frecuencia y de la sensibilidad de las pruebas de la estructura de los biopolímeros en solución y de los geles.

El módulo de almacenamiento (G'), es una medida de la energía almacenada en el material en una deformación sinusoidal y recuperada por ciclo. En una base molecular, la magnitud de G' es dependiente de los rearrreglos que tiene lugar en un periodo de oscilación (Biliaderis, 1992) y es tomado como un indicador del carácter sólido o elástico del material. Es una función de la frecuencia y se puede expresar como:

$$G' = (\tau_0/\gamma_0) \cos(\delta) \quad (2)$$

Donde

τ_0 = Amplitud del esfuerzo de corte

γ_0 = Amplitud de la deformación

δ = Ángulo de desfaseamiento

El módulo de pérdida (G''), es una medida de la energía disipada o pérdida (como calor) por ciclo de deformación, este comportamiento es generalmente mostrado por una red entrecruzada no permanente la cual resulta de una cadena entrelazada y va de altos niveles de reordenamiento molecular en la deformación. Una fuerte interacción entre las cadenas (teniendo mayores tiempos de relajación) contribuye al valor de G' , mientras que si es débil, enlaces con relajación rápida, contribuye sólo a G'' .

Otro parámetro importante en la caracterización del estado físico de un material viscoelástico es la tangente de pérdida o $\tan \delta$, o tangente del ángulo de desfaseamiento. Este parámetro adimensional es la relación entre la energía pérdida y la energía almacenada para cada ciclo de deformación:

$$\tan(\delta) = G''/G' \quad (3)$$

La $\tan \delta$ es un parámetro más sensible que G' y G'' , mostrando los cambios en el carácter viscoelástico de la red del polímero. Basándose en el valor de $\tan \delta$, los materiales se pueden clasificar de manera muy general en cuatro categorías (Tabla 4).

Tabla 4. Clasificación de materiales según los valores de $\tan \delta$.

Clasificación	$\tan \delta$
Soluciones diluidas	> 3.0
Todos los polímeros amorfos con o sin enlaces cruzados	0.2 – 3.0
Polímeros vítreos y cristalinos	$\cong 0.1$
Polímeros con pocos enlaces entrecruzados	$\cong 0.01$

Ferry, 1980.

2 JUSTIFICACIÓN

La generación de residuos agroindustriales actualmente es una problemática a nivel mundial, debido a que en la mayoría de los casos éstos no son procesados o dispuestos adecuadamente, situación que contribuye a la contaminación ambiental. Los residuos agroindustriales derivados de la piña tienen usos potenciales como materia prima para obtener productos de valor agregado, al presentar alto contenido de materia orgánica constituida principalmente por celulosa, lignina, hemicelulosa y pectina. Actualmente, los estudios de este residuo se enfocan en el aprovechamiento de la cáscara, tallos y corona, utilizados para la producción de bioetanol, bebidas fermentadas y almidón, así como para la extracción de compuestos bioactivos y glucósidos. Sin embargo, una fracción importante de este residuo, conformada por el corazón y sólidos centrifugados, no es aprovechada adecuadamente ya que es simplemente desechado contribuyendo al problema de generación de residuos sólidos.

Una alternativa en la disposición final del residuo de piña es encontrar una tecnología apropiada para su tratamiento y valoración indirecta, aprovechando su contenido de fibra dietética insoluble. En este sentido, la hidrólisis enzimática y el ultrasonido han sido las técnicas más empleadas en la modificación de residuos agroindustriales, debido a los cambios fisicoquímicos, estructurales y sensoriales que producen. Es por ello por lo que en este trabajo se propone evaluar el efecto del ultrasonido y de la hidrólisis enzimática sobre las propiedades estructurales y reológicas del residuo agroindustrial de la piña variedad MD-2. Con la gran cantidad de residuos de piña que se desechan cada año, la utilización efectiva de este residuo agroindustrial podría fortalecer la cadena productiva de la piña en la región.

3 HIPÓTESIS

El ultrasonido y la hidrólisis enzimática ocasionarán cambios en las propiedades estructurales y reológicas del residuo agroindustrial de piña (*Ananas comosus*).

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto del ultrasonido y de la hidrólisis enzimática sobre las propiedades estructurales y reológicas del residuo agroindustrial de piña (*Ananas comosus*) variedad MD-2.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Establecer las condiciones de ultrasonido para el pretratamiento del residuo agroindustrial de piña.
2. Evaluar los cambios estructurales mediante difracción de rayos X y espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier del residuo agroindustrial de piña modificado.
3. Evaluar el perfil reológico del residuo agroindustrial de piña modificado.

5.2.1 Preparación de la harina de bagazo de piña

Una vez recolectado el bagazo de piña, se lavó tres veces con agua, se escurrió el agua en exceso y se separó la pulpa y el corazón, además se eliminaron residuos de cáscara. La materia prima se sometió a un proceso térmico (15 min a 15 psi de presión en autoclave) (Felisa, Modelo FE-397, Jalisco, México). Posteriormente se deshidrató en un secador de charolas (SUSESA, México) ajustado a una temperatura de 60 °C empleando una velocidad de 1.5 m/s durante 18 h. El producto seco recolectado se trituró en una licuadora (Oster, Modelo 6832, CDMX, México) a velocidad máxima y se tamizó (tamiz de malla No. 40) para tener un tamaño de partícula homogéneo. La harina obtenida se almacenó a 25 °C en un recipiente herméticamente cerrado.

5.2.2 Análisis químico proximal de la harina de bagazo de piña

La composición química proximal de la harina de bagazo de piña se determinó mediante los métodos oficiales descritos por la AOAC (2000), comprendiendo los análisis siguientes:

- Humedad (925.09). Se realizó por pérdida de masa al calentar una muestra de harina a 110 °C en una estufa (Binder, Modelo FD 23, Tuttlingen, Alemania) hasta alcanzar peso constante (aproximadamente 4 h) a presión atmosférica.
- Cenizas (923.03). Se obtuvo por incineración de una muestra de harina en una mufla (Prendo, Modelo PCA-1500, Puebla, México) a 550 °C durante 4 h.
- Proteínas (954.01). Este análisis se basó en el método Kjeldahl (Prendo, Modelo DIK-40, Puebla, México) para la cuantificación del nitrógeno total presente en la muestra, utilizando el coeficiente 6.25 como factor de conversión a proteínas.
- Grasa cruda (920.39). Se cuantificó después de una extracción de la muestra durante 4 h con éter de petróleo en un sistema Soxhlet (Prendo Modelo PC-1000x6, Puebla, México).

5.2.3 Pretratamiento con ultrasonido e hidrólisis enzimática

El sistema consistió en una sonda de 0.5 in de diámetro acoplada a un generador de baja frecuencia (20 kHz) y un microprocesador para el control (Bandelin, SONOPULS HD 3200, Berlín, Alemania). La cantidad de sustrato tratado en cada prueba fue de 8 g de muestra (base seca). Las muestras se sonicaron en vasos de precipitado con 96 mL de tampón fosfato de sodio (0.2 M a pH 5) a 35 °C. Los experimentos del pretratamiento ultrasónico se realizaron siguiendo un diseño Box Behnken 3³: ciclo (0.2, 0.6 y 1 s), potencia (40, 70 y 100 W) y tiempo (2, 6 y 10 min).

Posterior al pretratamiento ultrasónico, se realizó la hidrólisis enzimática, en donde, se preparó una mezcla de fibra dietética con tampón fosfato de sodio (0.2 M a pH 5) en una relación 1:15 p/v. Para ello, se completó un volumen de 120 mL adicionando a la solución sonicada 24 mL de tampón fosfato de sodio. La enzima (celulasa) se adicionó a la mezcla y se incubó a 40 °C. Se utilizó una concentración de enzima de 1 U/g de fibra por 30 min de hidrólisis. Una vez pasado el tiempo de hidrólisis, se detuvo la actividad enzimática con etanol al 96 %. Las soluciones resultantes fueron liofilizadas (VirTis, benchtop K, PA, EE. UU.).

Finalmente, se obtuvieron 30 muestras modificadas (por duplicado) a partir de 15 tratamientos. Los tratamientos evaluados se presentan en la Tabla 5. Para la identificación de las muestras, se utilizó la denotación “US” para hacer referencia a aquellas muestras que solo tienen el pretratamiento con ultrasonido, “UE” para las muestras modificadas enzimáticamente con pretratamiento ultrasónico, y “HE” para la muestra modificada por hidrólisis enzimática a la concentración de enzima y tiempo establecido.

Tabla 5. Tratamientos evaluados en la modificación de la harina del residuo agroindustrial de piña (*Ananas comosus*) variedad MD-2.

Tratamiento	Ciclo (s)	Potencia (W)	Tiempo (min)
1	0.2	40	6
2	0.2	100	6
3	1	40	6
4	1	100	6
5	0.2	70	2
6	0.2	70	10
7	1	70	2
8	1	70	10
9	0.6	40	2
10	0.6	40	10
11	0.6	100	2
12	0.6	100	10
13	0.6	70	6
14	0.6	70	6
15	0.6	70	6

5.2.4 Caracterización estructural por difracción de rayos X (DRX)

Los patrones de DRX de las muestras modificadas y de la harina sin modificar se analizaron a temperatura ambiente en un difractómetro (Bruker Axs, Modelo D8 Advance, Massachusetts, EE. UU.), con un generador de radiación de Cu-K α con filtro de Ni y rejilla de 2 mm, que funciona a 40 kV y 30 mA. Los difractogramas se midieron en 2θ en un rango de 5 a 60°, usando una velocidad de exploración de 1°/min. El grado de cristalinidad (CrI) de las muestras se calculó utilizando la siguiente ecuación:

$$CrI = \frac{(I_{002} - I_{am})}{I_{002}} \times 100 \quad (4)$$

donde I_{002} es la intensidad máxima del pico de difracción reticular (0 0 2), que se encuentra en un ángulo de difracción alrededor de $2\theta = 22^\circ$ y I_{am} es la intensidad de la parte amorfa, que es la intensidad más baja en un ángulo de difracción alrededor de $2\theta = 18^\circ$ (Segal *et al.*, 1959).

5.2.5 Caracterización estructural por espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR)

Los análisis de FTIR se llevaron a cabo en un espectrómetro (Perkin Elmer, DYNASCAN Spectrum 100, Shelton, EE. UU.) utilizando un interferómetro de reflectancia total atenuada (ATR). Los espectros fueron obtenidos a una resolución de 4 cm⁻¹, en un rango de 4000-550 cm⁻¹.

5.2.6 Evaluación de las propiedades reológicas

La evaluación de las propiedades reológicas se efectuó empleando un reómetro híbrido (TA Instruments, Discovery HR-2 Hybrid, New Castle, EE. UU.), utilizando una geometría de placa plana (placa SST ST 40 mm sandblast) a 25 °C. Se realizó una mezcla de harina de bagazo de piña con agua destilada en una relación 1:10 p/v. Las muestras se cargaron y se dejaron equilibrar durante 5 min. Los experimentos se realizaron utilizando dos pasos de mediciones reológicas: (1) barridos de deformación y (2) barridos de frecuencia. Los barridos de deformación (0.1 y 100 %) de las muestras se evaluaron a 25 °C, y una frecuencia constante de 0.1 Hz. Estos experimentos se realizaron para determinar la máxima deformación alcanzable por todas las muestras en la región viscoelástica lineal (RVL). Los barridos de frecuencia de las muestras se evaluaron a 25 °C. Los resultados obtenidos se caracterizaron por G' y G'' en función de la frecuencia en el rango de 0.01 a 100 Hz, a una deformación constante (0.2 %).

5.2.7 Diseño experimental y análisis estadístico

La variable de respuesta se ajustó al modelo expresado en la Ecuación (5), que incluyó términos lineales, cuadráticos y de interacción lineal:

$$y_i = \beta_{i0} + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_3 x_3 + \beta_{11} x_{11}^2 + \beta_{22} x_{22}^2 + \beta_{33} x_{33}^2 + \beta_{12} x_1 x_2 + \beta_{13} x_1 x_3 + \beta_{23} x_2 x_3 + \beta_{123} x_1 x_2 x_3 + \epsilon \quad (5)$$

Donde β_i son los coeficientes de regresión; x_1 , x_2 y x_3 son las variables independientes codificadas (-1, 0, 1). Las variables independientes fueron el ciclo (s, x_1), la potencia (W, x_2) y el tiempo de sonicación (min, x_3). La y_i es la variable de respuesta i: grado de cristalinidad (%). β_i se calcularon mediante regresión lineal multivariable. Los términos significativos ($p \leq 0.05$) en el modelo para la variable de respuesta se determinaron mediante análisis de varianza multivariado (MANOVA).

El análisis estadístico se realizó con el software estadístico Minitab 16. Las diferencias entre las muestras para la respuesta "grado de cristalinidad" se determinaron mediante análisis de varianza (ANOVA) seguido por la prueba de Tukey (valores $p \leq 0.05$ se consideraron estadísticamente significativos).

6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 COMPOSICIÓN QUÍMICA PROXIMAL DE LA HARINA DE BAGAZO DE PIÑA

La composición química proximal de la harina de bagazo de piña se muestra en la Tabla 6. La harina nativa presentó un contenido de humedad de 4.57 g/100 g s.s., valor que se encuentra dentro del contenido de humedad característico de las harinas en general (15.5 % m/m máximo) (CODEX, 2007). Rivera-Cruz (2018) reportó un contenido de humedad para la harina de bagazo de piña de 7.07 g/100 g s.s., esta diferencia se debe al tipo de secador y a las condiciones de operación empleadas para la deshidratación de la materia prima ya que para este caso se empleó un secador de charolas y en el caso anterior un horno convectivo. Muños *et al.* (2001) mencionan que el contenido de humedad depende de la variedad de la materia prima, así como del proceso de secado al cual fue sometida.

Tabla 6. Composición química proximal de la harina de bagazo de piña (*Ananas comosus*) variedad MD-2.

Componente	Cantidad (g /100 g s.s.)
Humedad	4.57 ± 0.14
Cenizas	2.02 ± 0.03
Carbohidratos	84.08 ± 0.60
Grasa cruda	1.01 ± 0.11
Proteína ¹	8.32 ± 0.12
Fibra dietética total	52.40 ± 0.20

Los datos se presentan como media ± EE ($n = 3$). Los carbohidratos se determinaron por diferencia. ¹N x 6.25.

En cuanto a cenizas ésta se refiere al análisis de residuos inorgánicos (minerales) que quedan después de la oxidación completa de la materia orgánica de un alimento. En general, la piña es considerada una buena fuente de minerales, la cual contiene en mayor proporción potasio y sodio (228 mg/100 g y 2.9 mg/100 g, respectivamente) y en menor proporción zinc y selenio, teniendo en consideración que estos contenidos pueden variar dependiendo del tipo y variedad de piña (Rickman y Barrett, 2007). En este caso, el contenido de cenizas fue de 2.02 g/100 g s.s., valor similar al reportado por Rivera-Cruz (2018), el cual fue de 2.15 g/100 g s.s. Por otro lado, el contenido de grasas fue de 1.01 g/100 g s.s. Valderrain-Rodríguez *et al.* (2017) mencionan que la piña hace una contribución baja de lípidos, lo cual indica un aporte bajo en grasas en la ingesta diaria de los humanos. Por su parte, el contenido de proteína fue de 8.32 g/100 g s.s., en este

contexto, la piña es una fuente de bromelina, una enzima proteolítica, reconocida como el ingrediente bioactivo más valioso y estudiado de la fruta. López *et al.* (2014), reportaron un contenido de proteína de 8.7 g/100 g s.s. para el rastrojo de piña de la variedad Cayena lisa, dato similar al obtenido en este estudio. Finalmente, 84.08 g/100 g s.s. representaron el contenido de carbohidratos totales, siendo la FDT el principal componente con un 52.40 %. En general, la fibra de piña incluye sustancias de celulosa, hemicelulosa, lignina y pectina. Larrauri (1999) menciona que un ingrediente alimentario considerado alto en fibra dietética debe presentar más del 50 % de FDT, por lo que la harina de bagazo de piña cumple con esta característica. Con respecto a los carbohidratos simples, la sacarosa, la fructosa y la glucosa son los azúcares presentes en la piña, sin embargo, la sacarosa es el azúcar predominante (Cordenunsi *et al.*, 2010).

6.2 DIFRACCIÓN DE RAYOS X

El análisis de DRX se llevó a cabo para evaluar los cambios en el patrón de cristalinidad de la harina de bagazo de piña antes y después de los tratamientos. Además, se analizó celulosa comercial para tomarla como referencia (Figura 12).

La muestra no modificada (HBP) presentó el patrón de difracción de celulosa tipo I con ángulos de difracción 2θ en torno a 14.9° (1 0 1), 16.3° (1 0 $\bar{1}$), 23° (0 0 2) y 34° (0 4 0), tal como lo reportan Freire *et al.* (2006). Este tipo de polimorfo de celulosa presente en la muestra nativa coincide con lo reportado por Moon *et al.* (2011), los cuales mencionan que la celulosa tipo I es la celulosa cristalina que es producida naturalmente por una variedad de organismos (árboles, plantas, algas y bacterias), su estructura es termodinámicamente metaestable y puede convertirse en celulosa II o III.

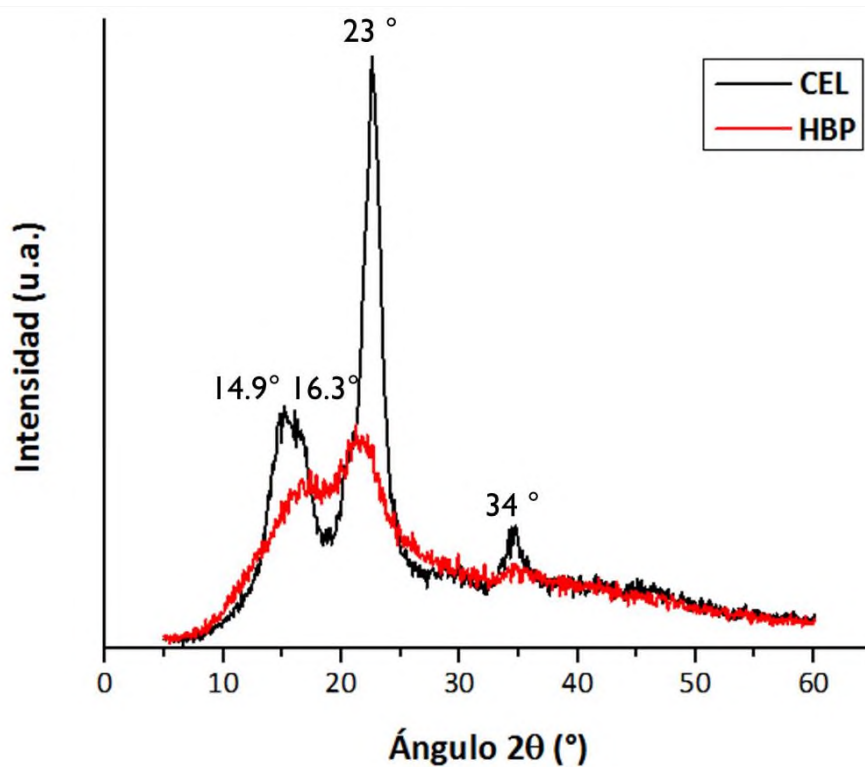


Figura 12. Diagramas de difracción de rayos X de celulosa comercial (CEL) y de harina de bagazo de piña sin modificar (HBP).

Por su parte, en la Figura 13 se muestran los patrones de DRX de las harinas de bagazo de piña: sin modificar (HBP), hidrolizada enzimáticamente (HE) y pretratadas con ultrasonido (US). Asimismo, se calculó el grado de cristalinidad de las muestras para evaluar el efecto de los factores definidos en el pretratamiento sobre la cristalinidad de la celulosa presente en la harina de bagazo de piña. Los resultados del grado de cristalinidad de las muestras US se presentan en la Tabla 7.

Tabla 7. Grado de cristalinidad de harinas de bagazo de piña pretratadas con ultrasonido (US).

Muestra	Cristalinidad (%)
HBP	24.39 ± 0.99 ^a
HE	25.61 ± 0.54 ^a
US1	32.86 ± 2.64 ^a
US2	31.90 ± 3.46 ^a
US3	25.03 ± 2.79 ^a
US4	24.46 ± 3.41 ^a
US5	30.85 ± 1.33 ^a
US6	28.57 ± 5.96 ^a
US7	28.28 ± 0.07 ^a
US8	23.89 ± 3.20 ^a
US9	25.40 ± 3.61 ^a
US10	33.41 ± 1.75 ^a
US11	25.93 ± 1.37 ^a
US12	38.57 ± 6.99 ^a
US13	32.99 ± 0.75 ^a
US14	35.02 ± 2.45 ^a
US15	34.92 ± 1.66 ^a

Donde HBP: harina de bagazo de piña sin modificar; HE: harina modificada por hidrólisis enzimática. Los datos se presentan como media ± EE ($n = 2$). Diferente letra en la misma columna indican diferencia significativa de acuerdo con la prueba de comparación de medias Tukey ($p \leq 0.05$).

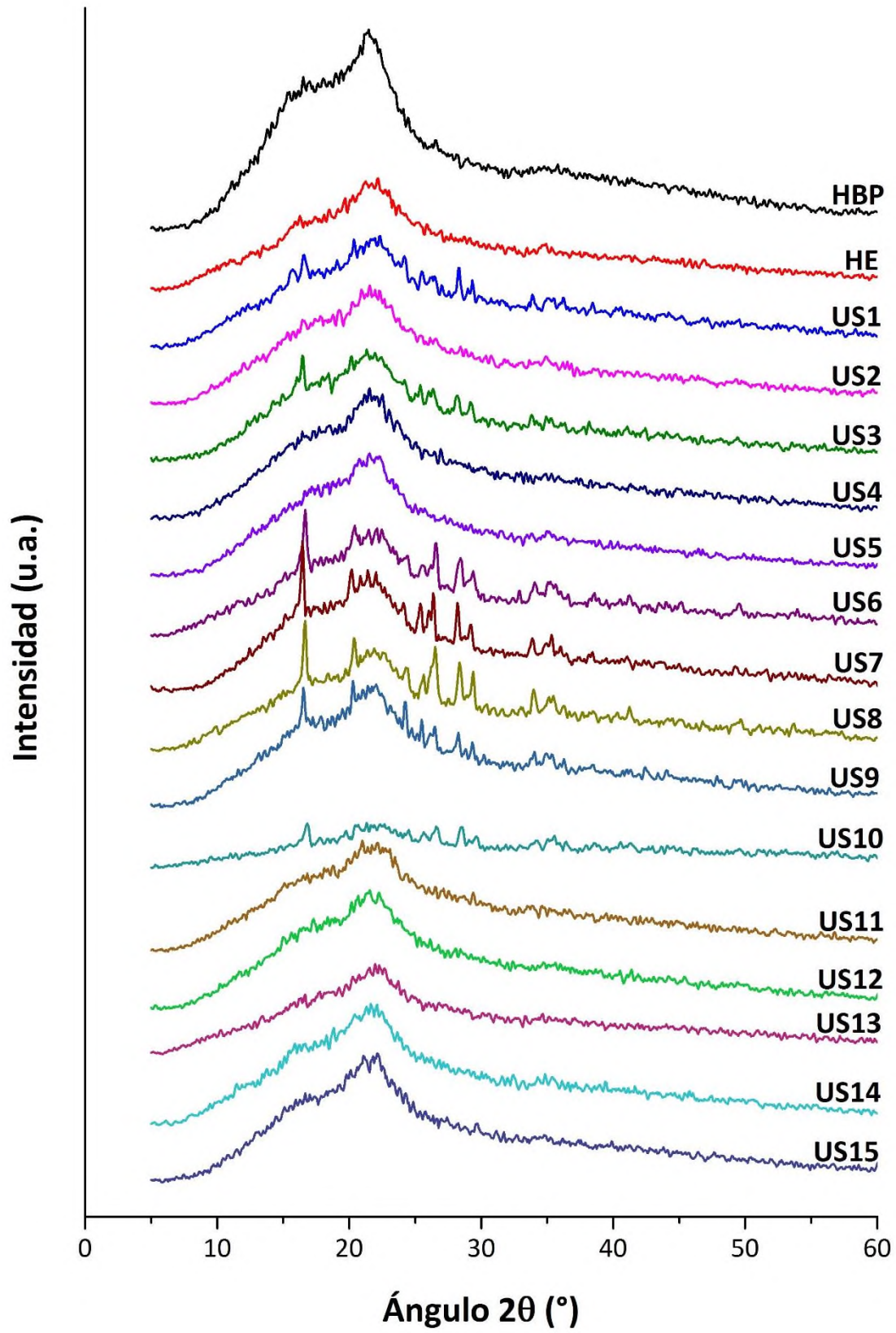


Figura 13. Diagramas de difracción de rayos X de harinas de bagazo de piña sin modificar (HBP), hidrolizada enzimáticamente (HE) y pretratadas con ultrasonido (US).

El análisis estadístico mostró que los factores ciclo cuadrado y ciclo tuvieron un efecto significativo negativo ($p \leq 0.05$) sobre la cristalinidad de las muestras pretratadas con ultrasonido (Anexo 1), esto indica que a mayores valores de ciclo cuadrado y ciclo, menor será la cristalinidad de las muestras US. Es importante mencionar que no existen reportes del efecto del ciclo de trabajo de ultrasonido sobre la cristalinidad de los materiales. Sin embargo, se ha reportado el efecto del ciclo de trabajo sobre la extracción de compuestos bioactivos en subproductos de frutas y vegetales (Kumar *et al.*, 2020). La matriz celular de estos subproductos está compuesta por celulosa, hemicelulosa y lignina. Por tanto, una alteración en la matriz celular provocará la fragmentación de la estructura celular que repercutirá en la cristalinidad inicial del material vegetal. Xu *et al.* (2014) reportaron un mayor rendimiento de extracción de pectina de la cáscara de pomelo utilizando un ciclo de trabajo medio (0.5 s), ya que observaron que un ciclo de trabajo corto es insuficiente para provocar la fragmentación del tejido y a un ciclo de trabajo alto el efecto de cavitación disminuye debido a la saturación y la colisión entre burbujas. Lo anterior coincide con lo observado en este estudio, ya que la mayor cristalinidad obtenida fue la presentada por el tratamiento US12 (ciclo: 0.6 s, potencia: 100 W y tiempo: 10 min) con un 38.57 %.

No obstante, el análisis de comparación de medias (Tukey) mostró que las muestras US no presentaron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en la cristalinidad con respecto a la harina sin modificar (HBP) y a la muestra HE, esto sugiere que para ocasionar un incremento significativo en la cristalinidad de la celulosa presente en el residuo de piña es necesario establecer nuevos ciclos de trabajo, tomando como máxima un valor de 0.6 s.

Por otro lado, se observó que la intensidad de los picos de difracción de las muestras modificadas enzimáticamente con pretratamiento ultrasónico (UE) incrementaron considerablemente con respecto a las muestra HBP y HE (Figura 14), lo cual sugiere que la combinación pretratamiento ultrasónico – hidrólisis enzimática logra un incremento significativo en la cristalinidad. Para confirmar esto, se calculó la cristalinidad de las muestras UE y se evaluó el efecto de los factores definidos en el pretratamiento sobre la variable de respuesta. El grado de cristalinidad de cada una de las muestras UE se presenta en la Tabla 8.

Tabla 8. Grado de cristalinidad de harinas de bagazo de piña modificadas enzimáticamente con pretratamiento ultrasónico (UE).

Muestra	Cristalinidad (%)
HBP	24.39 ± 0.99 ^d
HE	25.61 ± 0.54 ^d
UE1	25.55 ± 3.70 ^d
UE2	30.36 ± 3.64 ^d
UE3	28.20 ± 1.46 ^d
UE4	35.65 ± 4.97 ^{cd}
UE5	22.50 ± 1.05 ^d
UE6	58.88 ± 6.78 ^{ab}
UE7	23.10 ± 1.08 ^d
UE8	51.13 ± 2.75 ^{abc}
UE9	31.00 ± 0.52 ^{cd}
UE10	42.55 ± 1.33 ^{abcd}
UE11	30.43 ± 0.04 ^{cd}
UE12	63.30 ± 2.18 ^a
UE13	32.30 ± 5.55 ^{cd}
UE14	39.90 ± 7.82 ^{bcd}
UE15	36.84 ± 4.13 ^{cd}

Donde HBP: harina de bagazo de piña sin modificar; HE: harina modificada por hidrólisis enzimática. Los datos se presentan como media ± EE ($n = 2$). Diferente letra en la misma columna indican diferencia significativa de acuerdo con la prueba de comparación de medias Tukey ($p \leq 0.05$).

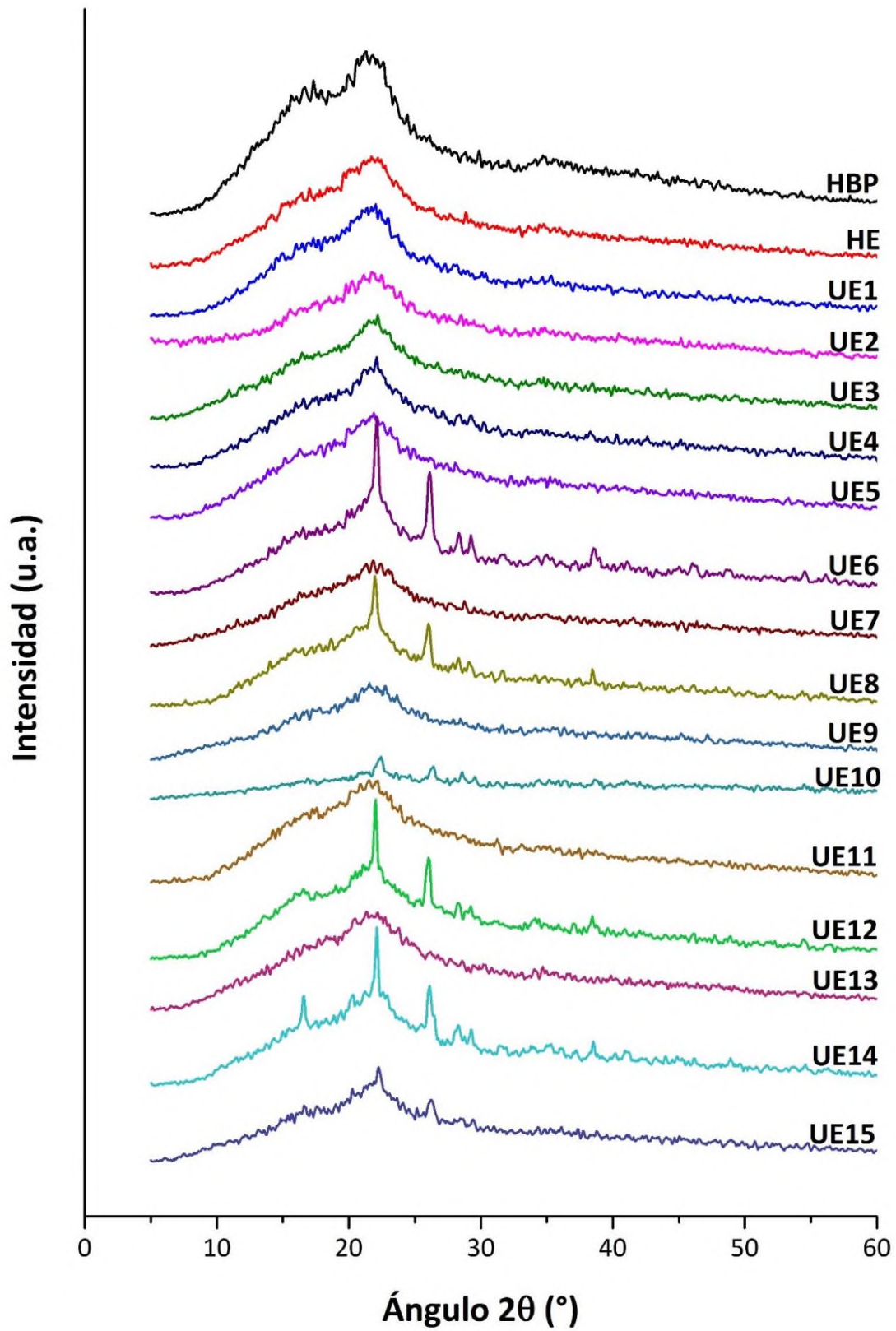


Figura 14. Diagramas de difracción de rayos X de harinas de bagazo de piña sin modificar (HBP), hidrolizada enzimáticamente (HE) y modificadas enzimáticamente con pretratamiento ultrasónico (UE).

El análisis estadístico reveló que los factores tiempo, tiempo cuadrado, potencia, interacción potencia – tiempo y ciclo cuadrado tuvieron un efecto significativo ($p \leq 0.05$) sobre la cristalinidad de las muestras (Anexo 1), lo cual indica que el pretratamiento con ultrasonido favoreció la hidrólisis enzimática de la celulosa presente en el bagazo de piña. Estos resultados coinciden con lo reportado por Li *et al.* (2019), quienes mencionan que la eficiencia de hidrólisis enzimática incrementa a medida que aumenta el tiempo de sonicación, a un nivel de potencia determinado. El efecto observado, se debe a que la sonicación permite una mejor exposición de la celulosa al eliminar o remover la lignina y la hemicelulosa que la rodea y al incidir en cierto grado sobre la región amorfa del polisacárido, de modo que la enzima logró acceder e hidrolizar fácilmente (Karimi *et al.*, 2014). Cabe mencionar que la celulosa utilizada consta de un mecanismo de degradación sinérgico, en el cual endoglucanasas, exoglucanasas y β -glucosidasas actúan en conjunto para llevar a cabo la degradación de la celulosa. El modelo 'inchworm model' explica la sinergia entre las enzimas (Figura 15): 1) las endoglucanasas escinden las regiones amorfas de la celulosa, creando más extremos reductores y no reductores y/o eliminando regiones amorfas, los "obstáculos" en la molécula, 2) las exoglucanasas se dirigen a estos grupos expuestos, se unen a ellos y degradan la celulosa a celobiosa, además, actúan en las regiones cristalinas del polímero, 3) finalmente, las β -glucosidasas hidrolizan la celobiosa produciendo glucosa (Wang *et al.*, 2012). Lo anterior, indica que a las condiciones de hidrólisis enzimática utilizadas, la enzima actuó en mayor medida sobre la región amorfa de celulosa expuesta y la generada por el pretratamiento, lo cual incrementó la región cristalina y por tanto la intensidad de los picos de difracción característicos del polisacárido.

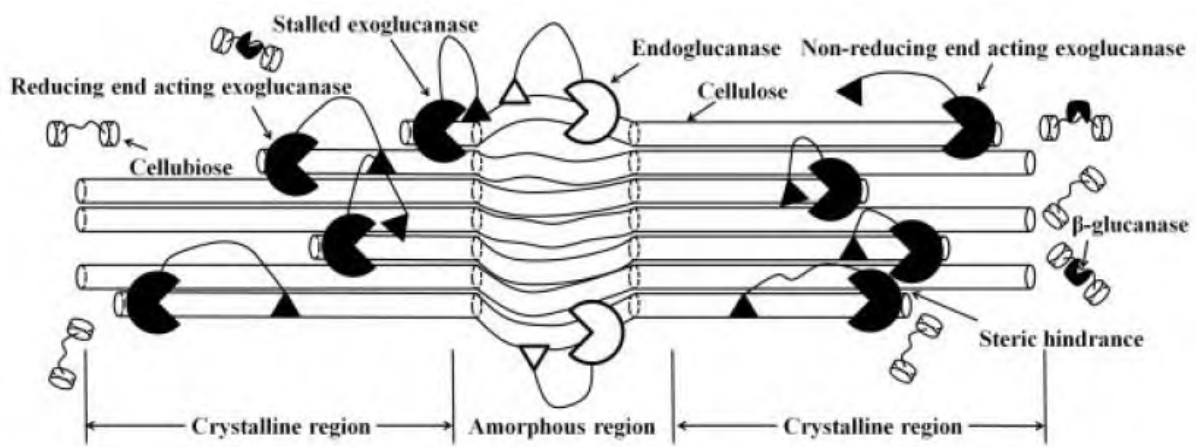


Figura 15. Modelo de degradación sinérgica de celulosa (Wang *et al.*, 2012).

Por otro lado, la superficie de respuesta (Figura 16) mostró que a niveles bajos del factor tiempo, ninguna de las potencias afecta la cristalinidad de las muestras. Por tal motivo, las muestras UE8 (ciclo: 1 s, potencia: 70 W, tiempo: 10 min), UE6 (ciclo: 0.2 s, potencia: 70 W, tiempo: 10 min) y UE12 (ciclo: 0.6 s, potencia: 100 W, tiempo: 10 min), presentaron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en cuanto a cristalinidad con respecto a la harina sin modificar y a la muestra HE, esto sugiere que para incrementar la cristalinidad se requiere la aplicación de potencias mayores a 40 W y tiempos de sonicación mayores a 6 min en muestras modificadas enzimáticamente con pretratamiento ultrasónico.

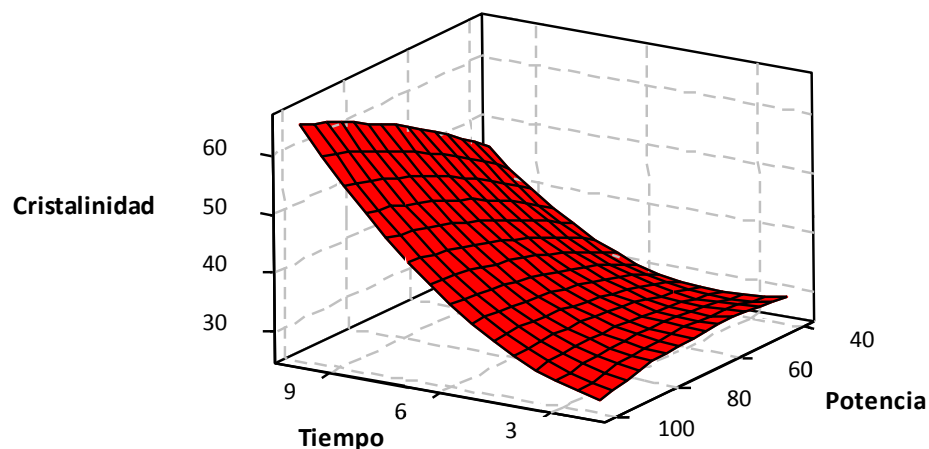


Figura 16. Gráfica de superficie de respuesta de Cristalinidad vs Potencia - Tiempo de sonicación. El incremento en la cristalinidad de las muestras UE6, UE8 y UE12 con respecto a las muestras HBP y HE, indica que el pretratamiento ultrasónico escindió en mayor grado sobre la región amorfa de celulosa, lo cual conlleva a una mayor exposición de la región cristalina y favorece la acción enzimática de las exoglucanasas (ver Figura 13).

Finalmente, se observó que el pico de difracción a 23° en las muestras UE se retrasó al ángulo $2\theta = 22^\circ$, el cual es atribuido a la presencia de celulosa tipo II. Este efecto concuerda con lo reportado por Ferreira *et al.* (2015), quienes señalan que la presencia de celulosa tipo II está asociada con la recristalización y la reprecipitación de moléculas de celulosa después de haber sido despolimerizada. Aunado a esto, se sugiere que los fragmentos de moléculas de celulosa generados en el pretratamiento ultrasónico recristalizaron después de haber sido hidrolizados enzimáticamente, ocasionando un incremento significativo en la cristalinidad utilizando el tratamiento combinado (pretratamiento ultrasónico – hidrólisis enzimática).

6.3 ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO CON TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

Por otro lado, la caracterización por espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR) se realizó con la finalidad de identificar grupos funcionales y deducir los compuestos presentes en las harinas de bagazo de piña sin modificar y modificadas (HE, US y UE). Los espectros obtenidos se muestran en las Figuras 17 y 18.

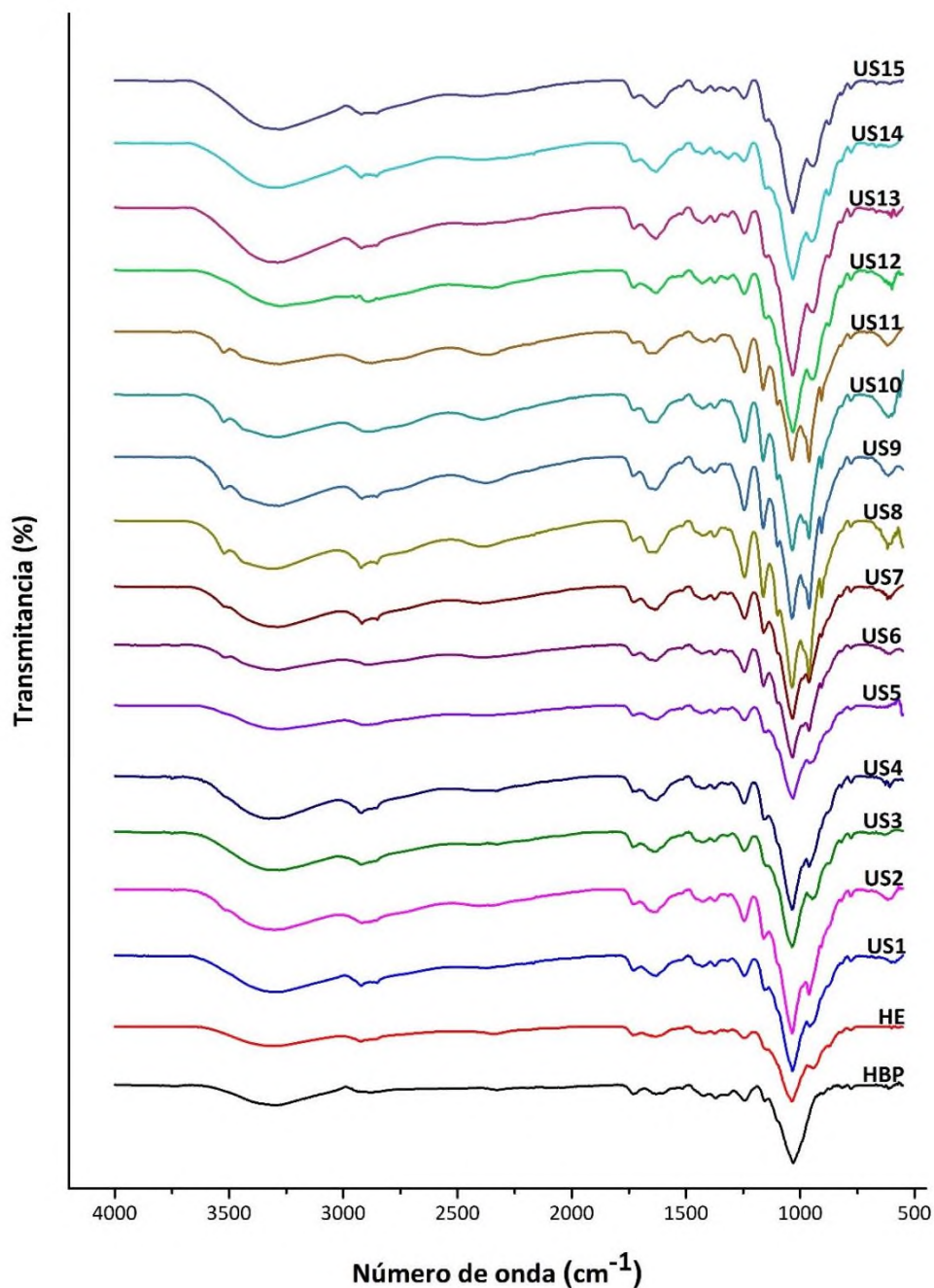


Figura 17. Espectros FTIR de harinas de bagazo de piña sin modificar (HBP), hidrolizada enzimáticamente (HE) y pretratadas con ultrasonido (US).

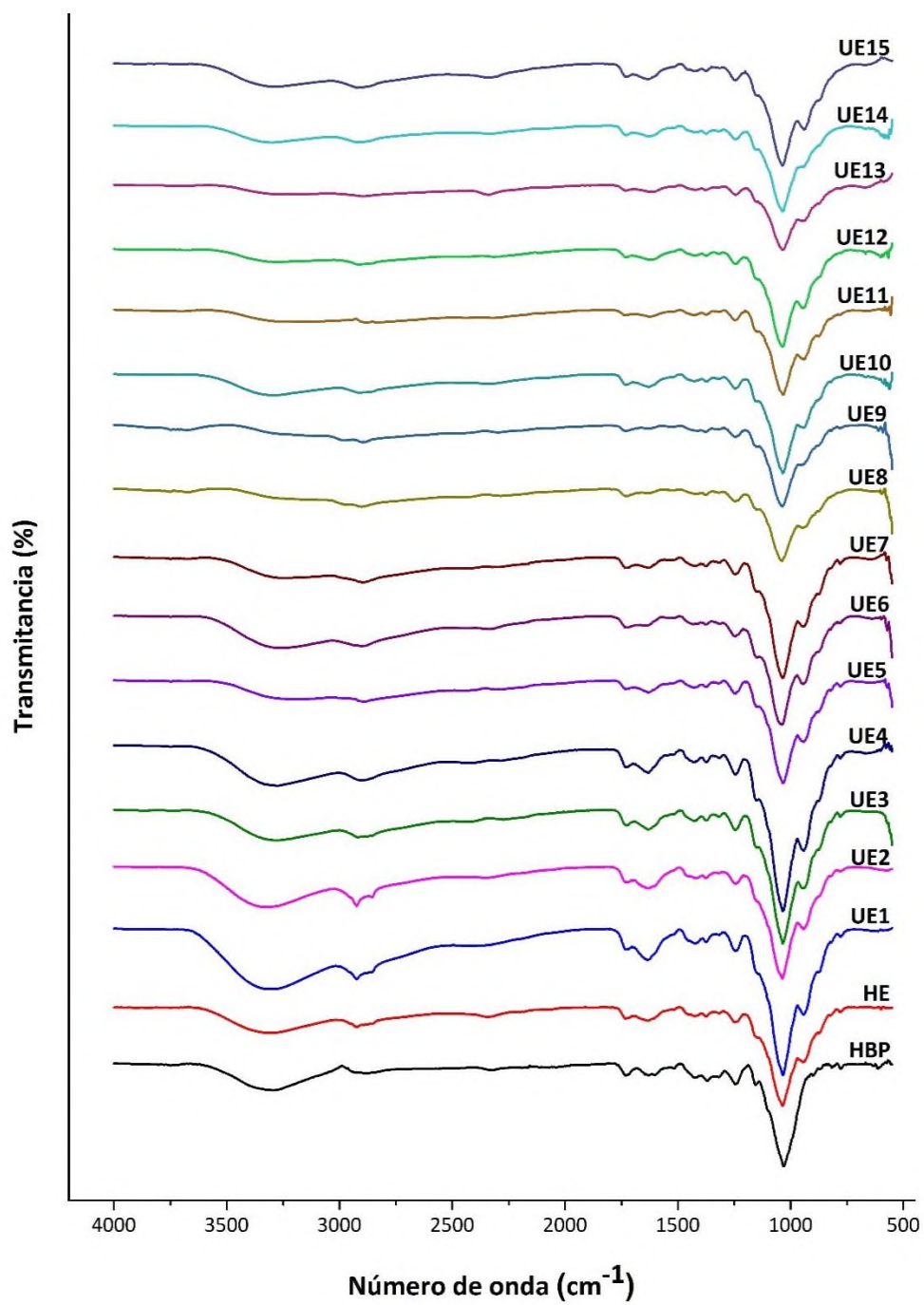


Figura 18. Espectros FTIR de harinas de bagazo de piña sin modificar (HBP), hidrolizada enzimáticamente (HE) y modificadas enzimáticamente con pretratamiento ultrasónico (UE).

En general, se observa que las bandas presentes en los tratamientos US y UE presentaron una diferencia considerable en cuanto a intensidad con respecto a la muestra sin modificar y a la muestra HE, lo que indica que la modificación dual y el tratamiento con ultrasonido ocasionaron cambios estructurales significativos sobre los componentes que conforman el bagazo de piña.

Los resultados revelan que todas las muestras presentaron una banda ancha entre 3200 y 3400 cm^{-1} , atribuida a las vibraciones de tensión del enlace O-H. Esta señal disminuye en las muestras UE6, UE8 – UE15 con respecto a la harina sin modificar y a la muestra HE, lo que sugiere la formación de nuevos enlaces O-H en la modificación de estas muestras. Lo anterior, se relaciona con la formación de celulosa II debido a la reorganización y recristalización de las moléculas de celulosa (Wen *et al.*, 2017), fenómeno observado en el estudio por difracción de rayos X.

Por otro lado, la señal presente a 1730 cm^{-1} está asignada principalmente a las vibraciones de los grupos éster acetil y urónico de hemicelulosas y al enlace éster del grupo carboxílico de los ácidos ferúlico y p-cumárico de lignina y/o hemicelulosas (Luo *et al.*, 2018), lo que indica la presencia de hemicelulosas y lignina en el bagazo de piña, tal como lo reportan Valderrain-Rodríguez *et al.* (2017). Dicha señal, se encontró a la misma intensidad en todas las muestras, lo que sugiere que el pretratamiento ultrasónico no tuvo un efecto significativo en la eliminación de estos componentes. Estos resultados concuerdan con la falta de incremento significativo en la cristalinidad observado en las muestras US con relación a la harina sin modificar, ya que la eliminación de hemicelulosa y lignina conlleva al aumento de la cristalinidad en materiales lignocelulósicos. Xu *et al.* (2013) mencionan que la celulosa se considera el único contribuyente a la parte cristalina, mientras que la hemicelulosa y la lignina son las partes amorfas en la biomasa lignocelulósica.

Sin embargo, la señal presente a $\sim 1240 \text{ cm}^{-1}$, que corresponde a la tensión axial asimétrica del enlace =C-O-C, que se observa cuando el grupo =C-O- está presente en grupos éter, éster y fenol (Martins *et al.*, 2014), presentó mayor intensidad en las muestras modificadas con ultrasonido (US), esto indica que el pretratamiento ultrasónico logró romper enlaces éster en la hemicelulosa y el enlace entre la lignina y la celulosa, dejando así los grupos funcionales libres. Ghaffar y Fan (2013), mencionan que los enlaces covalentes entre la lignina y los carbohidratos consisten en ésteres de bencilo, éteres de bencilo y glucósidos de fenilo. Aunado a esto, los tratamientos UE

exhiben una disminución de esta señal con respecto a las muestras US, lo cual sugiere que, al momento de recristalizar, las moléculas de celulosa vuelven a formar enlaces con los fragmentos de hemicelulosa y lignina.

Por otro lado, el pico mostrado a 1630 cm^{-1} corresponde a los enlaces de hidrógeno entre la celulosa y las moléculas de agua, es decir, el agua absorbida (Wen *et al.*, 2017), esta señal fue mayor en las muestras US, lo que indica un mayor contenido de humedad en estas muestras.

Por su parte, la intensidad del pico de absorción a $\sim 1030\text{ cm}^{-1}$, asociado con la deformación aromática del enlace C-H en el plano de la lignina y el enlace β -(1-4) glucosídico en C-O-C de la hemicelulosa y la celulosa, incrementó en los tratamientos UE y US con respecto a la harina sin modificar y la muestra HE, lo cual se relaciona con la capacidad de hidrólisis de la celulasa y con los efectos causados por el pretratamiento ultrasónico (ruptura de enlaces en hemicelulosas y lignina) (Iskalieva *et al.*, 2012; Wen *et al.*, 2017).

Finalmente, el pico de absorción a 940 cm^{-1} , que se muestra evidente sólo en las harinas modificadas, corresponde a las vibraciones de flexión fuera del plano del enlace O-H, lo que representa la generación de grupos hidroxilos disponibles para interactuar con moléculas polares. La presencia de esta señal sugiere que el pretratamiento ultrasónico y la hidrólisis enzimática ocasionaron la ruptura de enlaces de hidrógeno intramoleculares en celulosa y hemicelulosa (Wen *et al.*, 2017). Cabe mencionar, que cuando los enlaces de hidrógeno se rompen y la cristalinidad se pierde, el derivado de celulosa se vuelve soluble en agua (Lindman *et al.*, 2010).

Aunado a lo anterior, los resultados observados sugieren que el pretratamiento con ultrasonido y la hidrólisis enzimática pueden contribuir en el incremento de fibra dietética soluble del residuo agroindustrial de piña.

6.4 EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES REOLÓGICAS

6.4.1 Barridos de amplitud

En esta evaluación, los parámetros reológicos obtenidos fueron comparados con fibra dietética comercial (FC), suplemento alimenticio compuesto por la fibra psyllium, derivada de la cáscara de semilla de *Plántago ovata* y excipiente (maltodextrina, ácido cítrico anhidro, aroma a naranja, aspartamo (E951) y amarillo naranja S (E110)). Los resultados obtenidos de las propiedades reológicas se caracterizaron por G' y G'' . Donde, G' corresponde al módulo elástico o de almacenamiento, relacionado con la respuesta del material como un sólido y G'' corresponde al módulo viscoso o de pérdida, relacionado con la respuesta del material como un fluido (ver sección 2.4.2).

Los barridos de deformación de la harina sin modificar (HBP) y de las harinas modificadas (HE, US y UE) se muestran en la Figura 19. Para esta evaluación, se graficó un tratamiento US y UE, ya que todos los tratamientos tuvieron el mismo comportamiento, en donde prevaleció el módulo elástico (G') sobre el viscoso (G'').

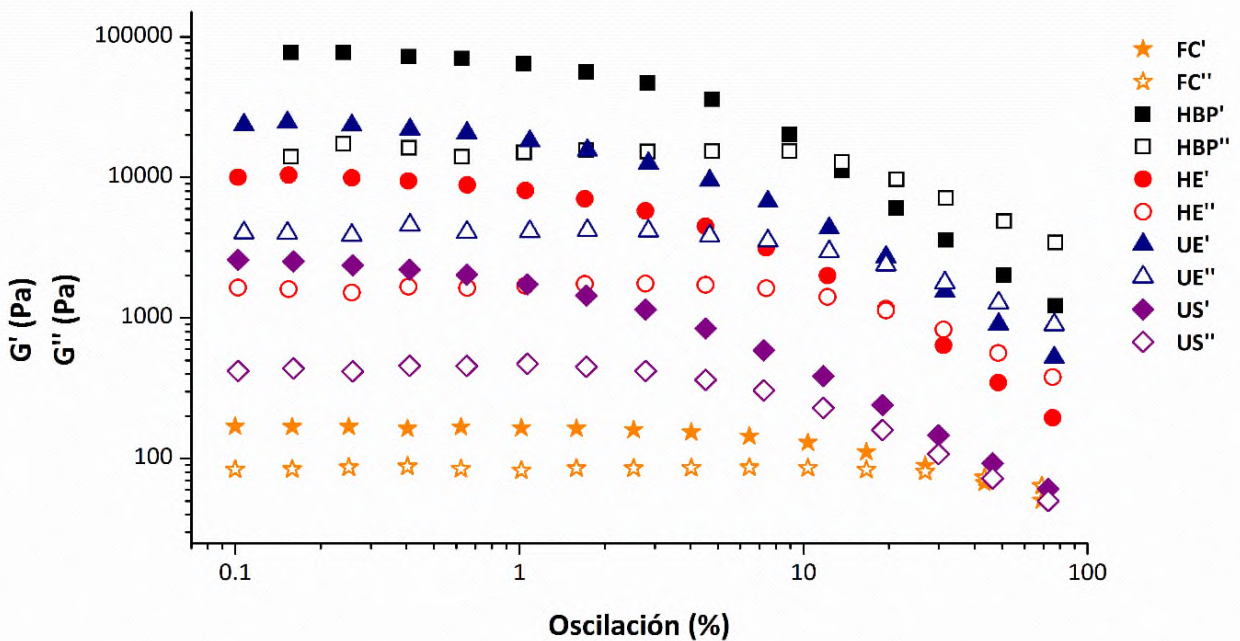


Figura 19. Barridos de deformación del módulo de almacenamiento G' y del módulo de pérdida G'' de fibra dietética comercial (FC), harinas de bagazo de piña sin modificar (HBP), hidrolizada enzimáticamente (HE), pretratadas con ultrasonido (US) y modificadas enzimáticamente con pretratamiento ultrasónico (UE).

Se observó que a un porcentaje de deformación mayor a 0.2 % el gel formado por las muestras modificadas tiende a destruirse, por lo que se consideró 0.2 % de deformación para realizar los barridos de frecuencia, ya que este valor se encuentra dentro de la RVL. Por su parte, la fibra comercial (FC) presentó mayor estabilidad a la deformación, ya que soportó deformaciones mayores a las observadas por el bagazo de piña (≤ 2 %), esto se debe a las maltodextrinas presentes en este producto, ya que generalmente se utilizan para mejorar la dureza de comprimidos masticables u otorgar mayor firmeza en productos alimenticios (Hofman *et al.*, 2016). Además, se observó que el módulo G' y G'' de la fibra comercial (FC) fueron menores en comparación con el de las harinas de bagazo de piña (HBP, HE, US, UE), esto se debe a los diferentes componentes que estos presentan, ya que la fibra comercial está compuesta por diferentes tipos de FDS y carbohidratos simples, mientras que la harina de bagazo de piña cuenta con FDI, la cual otorga al gel formado mayor resistencia a la deformación.

6.4.2 Barridos de frecuencia

Por su parte, los barridos de frecuencia de las harinas con pretratamiento ultrasónico (US) se muestran en la Figura 20.

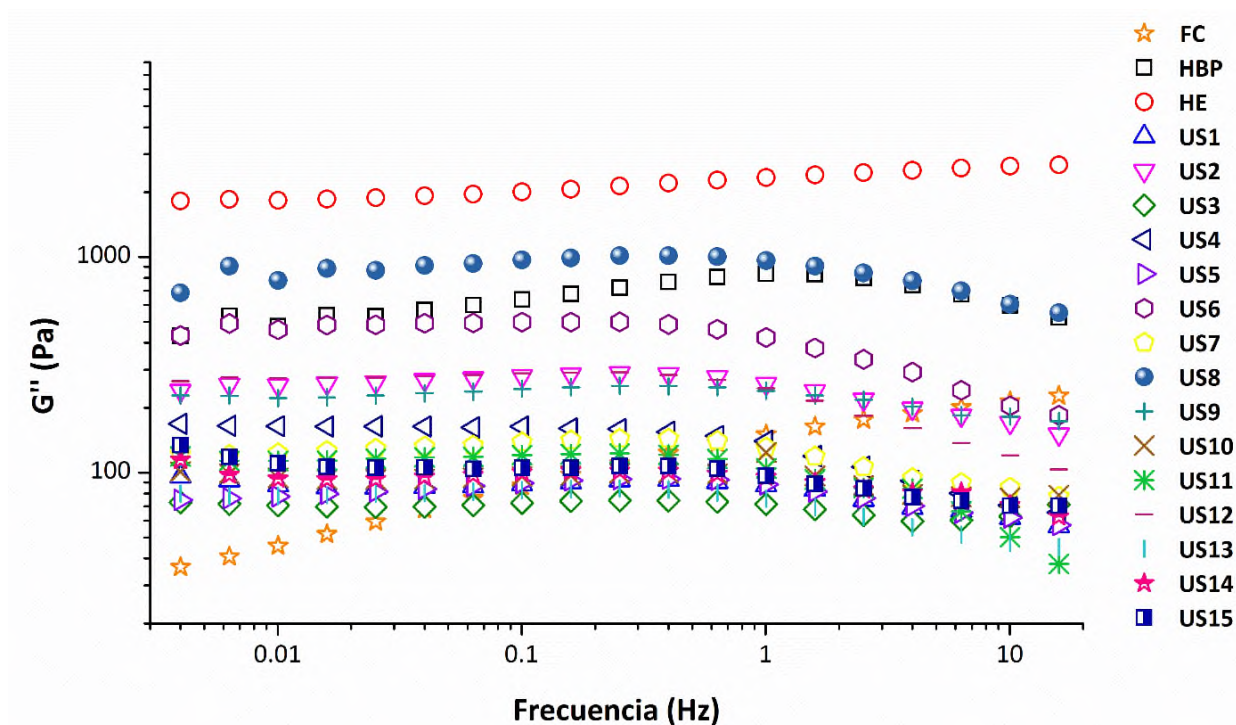


Figura 20. Barridos de frecuencia del módulo de pérdida G'' de fibra dietética comercial (FC), harinas de bagazo de piña sin modificar (HBP), hidrolizada enzimáticamente (HE) y pretratadas con ultrasonido (US).

Para todas las muestras US, el módulo viscoso (G'') dominó sobre el módulo elástico (G'), relacionado con la respuesta del material como un fluido (Herranz *et al.*, 2019). Debido a esto, se graficó únicamente el módulo G'' para el análisis de resultados.

Se observó que el módulo viscoso de las muestras US presentaron valores más pequeños en comparación con la harina sin modificar (HBP) y la muestra HE, lo cual puede estar relacionado con la generación de azúcares durante el proceso de sonicación y a la presencia de azúcares simples presentes en el bagazo de piña, como sacarosa y glucosa. Feng *et al.* (2019), en un estudio realizado, mencionan que la presencia excesiva de azúcares daña la estructura del gel ya formada al extraer agua de ella y hacerla más frágil, lo cual explica los resultados observados en este estudio, ya que la sonicación puede fragmentar los componentes de la biomasa hasta azúcares simples (Pérez-Rodríguez *et al.*, 2016). Estos resultados concuerdan con lo observado por difracción de rayos X y FTIR, ya que las muestras US presentaron menor cristalinidad en comparación con las muestras UE y un incremento en las bandas características de grupos funcionales presentes en azúcares. Lo anterior, sugiere que las condiciones utilizadas para la modificación con ultrasonido no fueron suficiente para lograr la formación de geles con mayor resistencia y por lo tanto para incrementar el contenido de fibra dietética soluble en la harina bagazo de piña.

Por otro lado, los barridos de frecuencia obtenidos para las muestras UE (modificadas enzimáticamente con pretratamiento ultrasónico) presentaron un comportamiento distinto a las muestras US, ya que el módulo elástico (G') predominó sobre el módulo viscoso (G'') (Figura 21) lo que indica el comportamiento sólido de las muestras (Herranz *et al.*, 2019).

En general, el módulo G' disminuyó hasta el intervalo de alta frecuencia (3-10 Hz), lo cual indica la formación de geles fuertes (Herranz *et al.*, 2019). Asimismo, se observó que el módulo G' de las harinas modificadas (HE y todos los tratamiento UE) fue mayor que en la harina sin modificar, lo que refleja el efecto significativo del tratamiento combinado sobre la estructura de los componentes que constituyen la harina de bagazo de piña. Estos resultados sugieren el aumento de fibra dietética soluble en la harina de bagazo de piña, ya que esta fracción de fibra se caracteriza por la formación de geles.

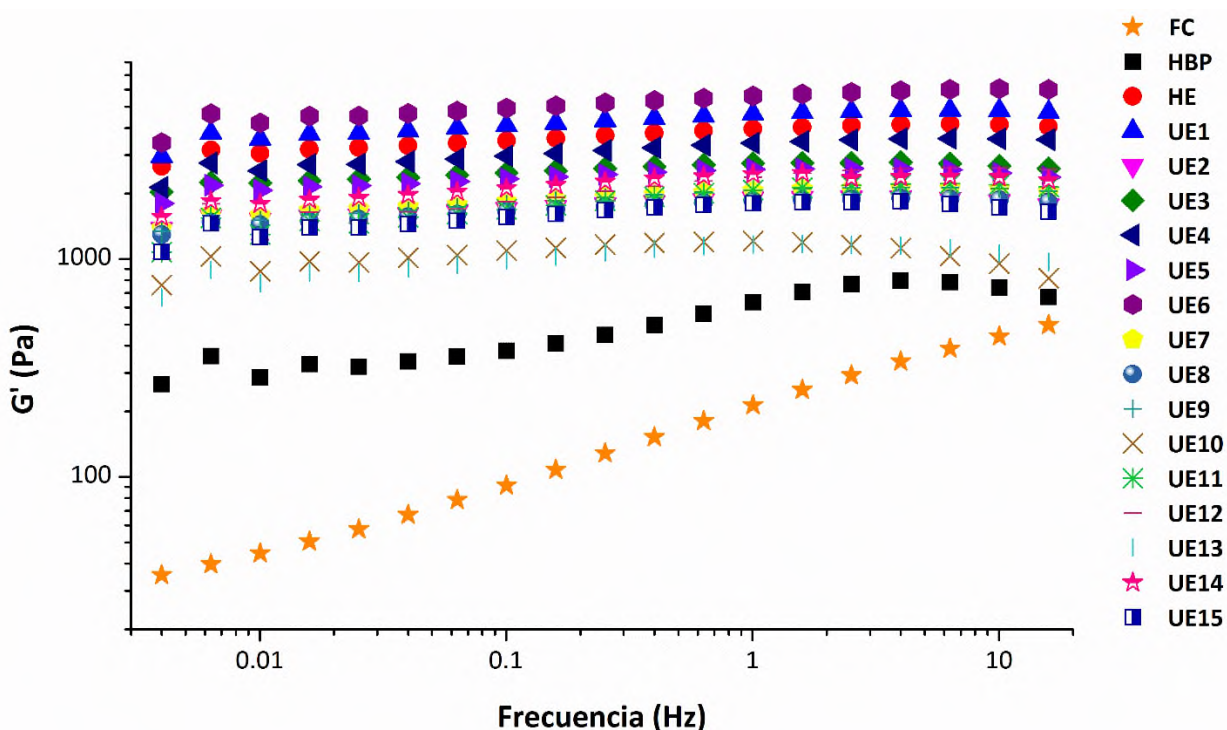


Figura 21. Barridos de frecuencia del módulo de almacenamiento G' de fibra dietética comercial (FC), harinas de bagazo de piña sin modificar (HBP), hidrolizada enzimáticamente (HE) y modificadas enzimáticamente con pretratamiento ultrasónico (UE).

Aunado a lo anterior, los tratamientos UE6, UE1, HE y UE4 presentaron los valores de G' más altos, este comportamiento es debido a que la modificación desorganizó la estructura de la celulosa generando mayor número de grupos hidroxilos disponibles para interactuar con el agua, favoreciendo la formación de puentes de hidrógeno y en consecuencia geles de cierto grado de rigidez (Wen *et al.*, 2017; Zumar y Mohee, 2018). Sin embargo, cabe resaltar que el módulo G' de los tratamientos UE6 y UE1 se encontró por encima del módulo del tratamiento HE, esto indica que el pretratamiento ultrasónico aplicado no solo favoreció la hidrólisis enzimática de la celulosa, sino además contribuyó en la despolimerización del polisacárido obteniendo cadenas de un grado de polimerización menor, lo que pudo haber generado mayor contenido de fibra dietética soluble en comparación con la harina hidrolizada enzimáticamente (HE). Además, este resultado se relaciona con el incremento en las señales presentes a $3200 - 3400 \text{ cm}^{-1}$ y 940 cm^{-1} (vibraciones de tensión y flexión del enlace O-H, respectivamente) observado en las muestras UE1, UE4 y UE6 por espectroscopía FTIR.

La mejora en la hidrólisis enzimática inducido por el pretratamiento ultrasónico en materiales lignocelulósicos, ha sido ampliamente atribuido a los efectos físicos y químicos de la cavitación,

como son, aumento de los compuestos solubles en detergentes neutros, reducción del tamaño de partícula (aumento del área superficial), la ruptura de la lignina y la hemicelulosa y la hidrólisis de las regiones cristalinas y amorfas en la estructura de la celulosa (Karimi *et al.*, 2014; Pérez-Rodríguez *et al.*, 2016).

Finalmente, la fibra comercial presentó un comportamiento sólido y la formación de geles fuertes ($G' > G''$) (Figura 22), mismo caso que las muestras HBP, HE y UE (Figura 21). Sin embargo, ambos módulos fueron menores en comparación con las harinas de bagazo de piña, lo cual está relacionado con los componentes que constituyen a cada una de las muestras, ya que la fibra comercial consta solamente de FDS (responsable de la capacidad gelificante) y la harina de bagazo de piña de FDS y FDI, siendo esta última fracción la responsable de otorgar mayor resistencia y elasticidad (Moon *et al.*, 2011).

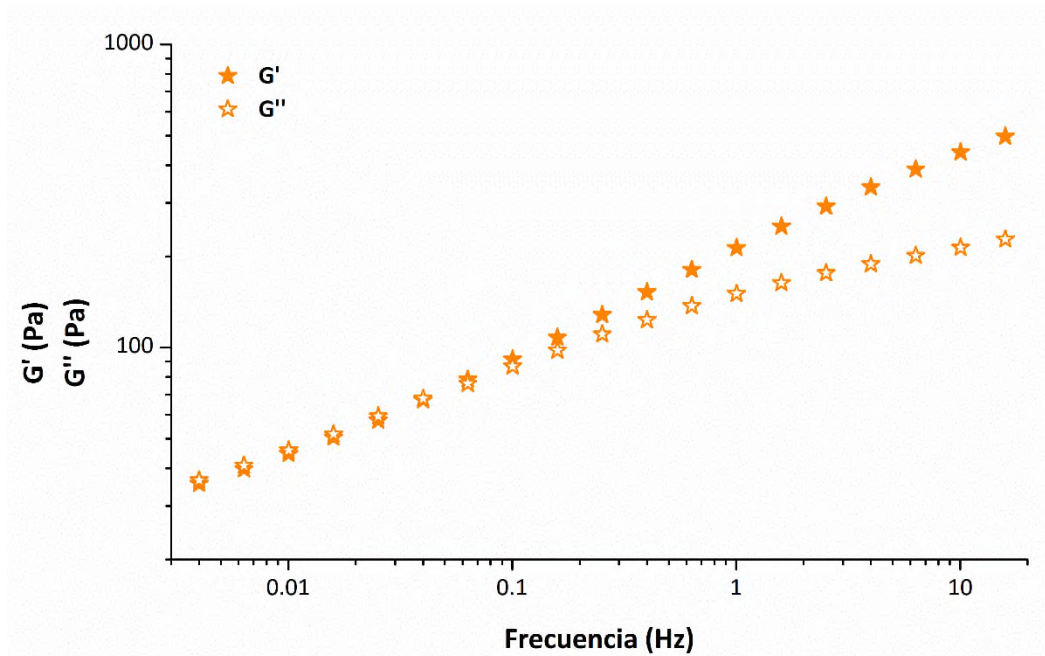


Figura 22. Barrido de frecuencia del módulo de almacenamiento G' y del módulo de pérdida G'' de fibra comercial.

7 CONCLUSIONES

El ultrasonido y la hidrólisis enzimática ocasionaron cambios significativos en la estructura lignocelulósica del residuo agroindustrial de piña, evaluado por difracción de rayos X y espectroscopía FTIR.

El tratamiento combinado (pretratamiento ultrasónico - hidrólisis enzimática) incrementó la cristalinidad del residuo agroindustrial de piña utilizando tiempos de sonicación mayores a 6 min.

El ultrasonido y la hidrólisis enzimática influyeron en las propiedades reológicas de la harina del residuo agroindustrial de piña, generando geles con características viscoelásticas. Las muestras pretratadas con ultrasonido (US) presentaron una predominancia del módulo viscoso ($G'' > G'$), relacionado con la formación de geles débiles; mientras que en las muestras modificadas enzimáticamente con pretratamiento ultrasónico (UE) predominó el módulo elástico ($G' > G''$), congruente con la formación de geles fuertes.

Debido a las propiedades reológicas de las muestras UE, se sugiere su aplicación como ingrediente en yogures, aderezos, mermeladas y salsas.

8 PERSPECTIVAS

Como perspectivas a este trabajo, se propone:

- Determinar el contenido de fibra dietética total, fibra dietética soluble y fibra dietética insoluble de las muestras modificadas (US y UE).
- Desarrollar un alimento funcional con la harina del tratamiento con mayor contenido de fibra dietética soluble.
- Evaluar la funcionalidad del alimento a través de pruebas *in vitro* e *in vivo*.
- Evaluar la aceptación del alimento mediante pruebas de evaluación sensorial.

Como perspectivas para trabajos futuros, se propone:

- Utilizar como materia prima de investigación otra fracción del residuo agroindustrial de piña, ya sea la cáscara o corona, o bien otra variedad de este fruto, para el desarrollo de un alimento funcional.

ANEXOS

Anexo 1. Análisis de varianza multifactorial de la respuesta “Grado de cristalinidad” para las muestras US

El análisis se realizó utilizando unidades codificadas.

Análisis de varianza de Cristalinidad

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	MC Ajust.	F	P
Regresión	9	362.727	362.727	40.303	1.47	0.226
Lineal	3	183.108	183.108	61.036	2.23	0.117
Ciclo	1	129.373	129.373	129.373	4.72	0.042
Potencia	1	4.821	4.821	4.821	0.18	0.680
Tiempo	1	48.914	48.914	48.914	1.78	0.197
Cuadrado	3	166.663	166.663	55.554	2.03	0.143
Ciclo*Ciclo	1	122.978	136.995	136.995	4.99	0.037
Potencia*Potencia	1	11.021	14.060	14.060	0.51	0.482
Tiempo*Tiempo	1	32.664	32.664	32.664	1.19	0.288
Interacción	3	12.957	12.957	4.319	0.16	0.924
Ciclo*Potencia	1	0.013	0.013	0.013	0.00	0.983
Ciclo*Tiempo	1	2.211	2.211	2.211	0.08	0.779
Potencia*Tiempo	1	10.732	10.732	10.732	0.39	0.539
Error residual	20	548.588	548.588	27.429		
Falta de ajuste	3	215.837	215.837	71.946	3.68	0.033
Error puro	17	332.751	332.751	19.574		
Total	29	911.316				

Coefficientes de regresión estimados de Cristalinidad

Término	Coef	EE del coef.	T	P
Constante	34.3101	2.138	16.047	0.000
Ciclo	-2.8436	1.309	-2.172	0.042
Potencia	0.5489	1.309	0.419	0.680
Tiempo	1.7485	1.309	1.335	0.197
Ciclo*Ciclo	-4.3071	1.927	-2.235	0.037
Potencia*Potencia	-1.3798	1.927	-0.716	0.482
Tiempo*Tiempo	-2.1031	1.927	-1.091	0.288
Ciclo*Potencia	0.0402	1.852	0.022	0.983
Ciclo*Tiempo	-0.5258	1.852	-0.284	0.779
Potencia*Tiempo	1.1583	1.852	0.626	0.539

S = 5.23731 PRESS = 1377.65
 R-cuad. = 39.80% R-cuad. (pred.) = 0.00% R-cuad. (ajustado) = 12.71%

Anexo 2. Análisis de varianza multifactorial de la respuesta “Grado de cristalinidad” para las muestras UE

El análisis se realizó utilizando unidades codificadas.

Análisis de varianza de Cristalinidad

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	MC Ajust.	F	P
Regresión	9	4104.43	4104.43	456.05	13.36	0.000
Lineal	3	3224.02	3224.02	1074.67	31.48	0.000
Ciclo	1	0.15	0.15	0.15	0.00	0.948
Potencia	1	263.08	263.08	263.08	7.71	0.012
Tiempo	1	2960.79	2960.79	2960.79	86.73	0.000
Cuadrado	3	614.83	614.83	204.94	6.00	0.004
Ciclo*Ciclo	1	190.62	160.48	160.48	4.70	0.042
Potencia*Potencia	1	39.33	22.50	22.50	0.66	0.426
Tiempo*Tiempo	1	384.87	384.87	384.87	11.27	0.003
Interacción	3	265.58	265.58	88.53	2.59	0.081
Ciclo*Potencia	1	3.48	3.48	3.48	0.10	0.753
Ciclo*Tiempo	1	34.80	34.80	34.80	1.02	0.325
Potencia*Tiempo	1	227.31	227.31	227.31	6.66	0.018
Error residual	20	682.77	682.77	34.14		
Falta de ajuste	3	172.34	172.34	57.45	1.91	0.166
Error puro	17	510.42	510.42	30.02		
Total	29	4787.20				

Coefficientes de regresión estimados de Cristalinidad

Término	Coef	EE del coef.	T	P
Constante	36.3473	2.385	15.238	0.000
Ciclo	0.0973	1.461	0.067	0.948
Potencia	4.0549	1.461	2.776	0.012
Tiempo	13.6033	1.461	9.313	0.000
Ciclo*Ciclo	-4.6617	2.150	-2.168	0.042
Potencia*Potencia	-1.7456	2.150	-0.812	0.426
Tiempo*Tiempo	7.2193	2.150	3.358	0.003
Ciclo*Potencia	0.6594	2.066	0.319	0.753
Ciclo*Tiempo	-2.0856	2.066	-1.010	0.325
Potencia*Tiempo	5.3304	2.066	2.580	0.018

S = 5.84280 PRESS = 1437.71
R-cuad. = 85.74% R-cuad. (pred.) = 69.97% R-cuad. (ajustado) = 79.32%

REFERENCIAS

- Abdul Hamid, A., y Luan, Y. S. (2000). Functional Properties of Dietary Fiber from Defatted Rice Bran. *Food Chemistry* 68, 15-19.
- Abdullah. (2007). Solid and liquid pineapple waste utilization for lactic acid fermentation using *Lactobacillus delbrueckii*. *Reaktor* 11, 50-52.
- Abdullah, M. B. y Mat, H. (2008) Characterization of solid and liquid pineapple waste. *Reaktor* 12(1), 48-52.
- Abuajah, C. I., Ogbonna, A. C., y Osuji, C. M. (2015). Functional components and medicinal properties of food: a review. *Journal of Food Science and Technology* 52(5), 2522-2529.
- Akdeniz, V., y Akalin, A. S. (2019). New approach for yoghurt and ice cream production: High-intensity ultrasound. *Trends in Food Science & Technology* 86, 392-398.
- Alarcon-Rojo, A. D., Carrillo-Lopez, L. M., Reyes-Villagrana, R., Huerta-Jiménez, M., y Garcia-Galicia, I. A. (2019). Ultrasound and meat quality: A review. *Ultrasonics - Sonochemistry* 55, 369-382.
- Al-Lahham, S. H., Peppelenbosch, M. P., Roelofsen, H., Vonk, R. J., y Venema, K. (2010). Biological effects of propionic acid in humans; metabolism, potential applications and underlying mechanisms. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids* 1801(11), 1175-1183.
- Amaya-Cruz, D. M., Rodríguez-González, S., Pérez-Ramírez, I. F., Loarca-Piña, G., Amaya-Llano, S., Gallegos-Corona, M. A., y Reynoso-Camacho, R. (2015). Juice by-products as a source of dietary fibre and antioxidants and their effect on hepatic steatosis. *Journal of Functional Foods* 17, 93-102.
- Ameh, E. S. (2019). A review of basic crystallography and x-ray diffraction applications. *The International Journal of Advanced Manufacturing Technology* (105), 3289-3302.
- AOAC. 2000. Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemists International.

- Arias, V., C., Toledo, H., J. (2000). Manual de manejo postcosecha de frutas tropicales (papaya, piña, plátano, cítricos). Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 61 pp.
- Asgarya, S., Rastqarb, A., y Keshvari, M. (2018). Functional Food and Cardiovascular Disease Prevention and Treatment: A Review. *Journal of the American College of Nutrition*, 429-455.
- Ayala-Zavala, J., Rosas-Domínguez, C., Vega-Vega, V., y González-Aguilar, G. (2010). Antioxidant enrichment and antimicrobial protection of fresh-cut fruits using their own by products: looking for integral exploitation. *Journal Food Science* 75, R175-R181.
- Bae, I. Y., Jun, Y., Lee, S., y Lee, H.G. (2016). Characterization of apple dietary fibers influencing the in vitro starch digestibility of wheat flour gel. *LWT - Food Science and Technology* 65, 158-163.
- Bello-Pérez, L. A. (1995). *Amilopectina - Caracterización molecular y funcional* (tesis de doctorado). Cinvestav-IPN, Irapuato, México.
- Bhargava, N., Mora, R. S., Kumar, K., y Sharanagat, V. S. (2021). Advances in application of ultrasound in food processing: A review. *Ultrasonics - Sonochemistry* 70, 105293.
- Biorklund, M., van Rees, A., Mensink, R. P., Onning, G. (2005). Changes in serum lipids and postprandial glucose and insulin concentrations after consumption of beverages with beta-glucans from oats or barley: A randomised dose-controlled trial. *European Journal of Clinical Nutrition* 59, 1272-1281.
- Boets, E., Gomand, S. V., Deroover, L., Preston, T., Vermeulen, K., De Preter, V., Hamer, H. M., den Mooter, G. V., De Vuyst, L., Courtin, C. M., Annaert, P., Delcour, J. A., y Verbeke, K. A. (2017). Systemic availability and metabolism of colonic-derived short chain fatty acids in healthy subjects: a stable isotope study. *Journal of Physiology* 595(2), 541-55.
- Buts, J., P. Dekeyser, N., Stilmant, C., Delem, E., Smets, F., Sokal, E. (2006). *Saccharomyces boulardii* produces in rat small intestine a novel protein phosphatase that inhibits Escherichia coli endotoxin by dephosphorylation. *Pediatric Research - Nature* 60(1), 24-9.
- Casci, T. y Rastall, R. A. (2006). Prebiotics: Development and applications. *Manufacture of prebiotic oligosaccharides*. New York, John Wiley. 29-55 pp.

CEFP, Centro de Estudios de las Finanzas Públicas. (2002). La problemática actual de la producción de piña en México. Distrito Federal.

Chambers, E. S., Preston, T., Frost, G., y Morrison, D. J. (2018). Role of Gut Microbiota-Generated Short-Chain Fatty Acids in Metabolic and Cardiovascular Health. *Current Nutrition Reports* 7, 198-206.

Choonut, A., Saejong, M. y Sangkharak, K. (2014) The production of ethanol and hydrogen from pineapple peel by *Saccharomyces cerevisiae* and *Enterobacter aerogenes*. *Energy Procedia* 52, 242-249.

CODEX. (2007). Codex Alimentarius. *Cereales, Legumbres, Leguminosas y Productos Proteínicos Vegetales*. 1ra ed. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma.

CODEX. (2009). Codex Alimentarius Commission, ALINORM 09/32/26. *Report of the 30th Session of the Codex Committee on Nutrition and Foods for Special Dietary Uses*. Cape Town, South Africa, 3 - 7 November 2008.

Conesa, C., García Breijo, E., Loeff, E., Seguí, L., Fito, P., y Laguarda Miró, N. (2015). An electrochemical impedance spectroscopy-based technique to identify and quantify fermentable sugars in pineapple waste valorization for bioethanol production. *Sensors* 15(9), 22941-22955.

Cordenunsi, B., Saura Calixto, F., Diaz Rubio, M. E., Zuleta, A., Tiné, M. A., Buckeridge, M. S., Silva, G. B. D., Carpio, C., Giuntini, E. B., y Menezes, E. W. D. (2010). Carbohydrate composition of ripe pineapple (cv. Perola) and the glyceic response in humans. *Food Science and Technology* 30(1), 282-288.

Davidson, M. H. y McDonald, A. (1998). Fiber: Forms and functions. *Nutrition Research* 18, 617-624.

den Besten, G., Lange, K., Havinga, R., van Dijk, T. H., Gerding, A., van Eunen, K., Müller, M., Groen, A. K., Hooiveld, G. J., y Bakker, B. M., y Reijngoud, D. (2013). Gut-derived short-chain fatty acids are vividly assimilated into host carbohydrates and lipids. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 305, G900-G910.

- Díaz-Vela, J., Totosaus, A., Cruz-Guerrero, A., y Pérez-Chabela, M. L. (2013). *In vitro* evaluation of the fermentation of added-value agroindustrial by-products: Cactus pear (*Opuntia ficus-indica* L.) peel and pineapple (*Ananas comosus*) peel as functional ingredients. *International Journal of Food Science and Technology* 48(7), 1460-467.
- Dreher, M. L. (1999). Food sources and uses of dietary fiber. En: Complex carbohydrates in foods. Ed. Cho, S.S., Prosky, L., y Dreher, M., Marcel Dekker, Inc. Basel. 327-366 pp.
- Dorta, E. y Sogi, S. D. (2017). Value added processing and utilization of pineapple by-products. *Department of Food Science and Technology, Guru Nanak Dev University, Amritsar, India.*
- Doublier, J. L. y Wood, P. J. (1995). Rheological Properties of Aqueous-Solutions of (1→3)(1→4)-Beta-D-Glucan from Oats (*Avena sativa* L.). *Cereal Chem* 72, 335-340.
- Elleuch, M., Bedigian, D., Roiseux, O., Souhail, Besbes., Blecker, C., y Attia, H. (2011). Dietary fibre and fibre-rich by-products of food processing: Characterisation, technological functionality and commercial applications: A review. *Food Chemistry* 124(2), 411-421.
- FAO. 2020. *Major tropical fruits - Preliminary market results 2019*. Rome.
- FAO. 2020. *Perspectivas a mediano plazo: perspectivas para la producción y el comercio mundial de bananos y frutas tropicales 2019-2028*. Roma.
- Feng, L., Zhou, Y., Ashaolu, T. J., Ye, F. y Zhao, G. (2019). Physicochemical and rheological characterization of pectin-rich fraction from blueberry (*Vaccinium ashei*) wine pomace. *International Journal of Biological Macromolecules* 128, 629-637.
- Ferry, J. D. (1980). *Viscoelastic Properties of Polymers*. (3ra Ed.). John Wiley and Sons, New York, U.S.A.
- Figuerola, F., Hurtado, M. L., Estévez, A. M., Chiffelle, I., y Asenjo, F. (2005). Fiber concentrates from apple pomace and citrus peel as potential fiber sources for food enrichment. *Food Chemistry* 91(3), 395-401.
- Fuller, Z., Louis, P., Mihajlovski, A. (2007). Influence of cabbage processing methods and prebiotic manipulation of colonic microflora on glucosinolate breakdown in man. *British Journal of Nutrition* 98, 64-372.

Fultz, B., y Howe, J. (2013). Transmission electron microscopy and diffractometry of materials. Springer, Berlín, 2 pp.

Garcia-Amezquita, L. E., Tejada-Ortigoza, V., Serna-Saldivar, S. O., y Welti-Chanes, J. (2018). Dietary Fiber Concentrates from Fruit and Vegetable By-products: Processing, Modification, and Application as Functional Ingredients. *Food and Bioprocess Technology* 11, 1439-1463.

Ghaffar, S. H. y Fan, M. (2013). Structural analysis for lignin characteristics in biomass straw. *Biomass and Bioenergy* 57, 264-279.

Gil-Chávez, G., Villa, J. A., Ayala-Zavala, J., Basilio Heredia, J., Sepulveda, D., Yahia, E. M., y González-Aguilar, G. A. (2013). Technologies for extraction and production of bioactive compounds to be used as nutraceuticals and food ingredients: an overview. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 12, 5-23.

Glicerina, V., Balestra, F., Capozzi, F., Rosa, M. D., y Romani, S. (2017). Influence of the addition of soy product and wheat fibre on rheological, textural and other quality characteristics of pizza. *Journal of Texture Studies* 49(4), 415-423.

Gray, J. (2006). *Dietary Fibre: Definition, Analysis, Physiology and Health*. Bélgica, Europa. International Life Sciences Institute.

Gutiérrez-Rojas, I., Moreno-Sarmiento, N. y Montoya, D. (2015). Mecanismos y regulación de la hidrólisis enzimática de celulosa en hongos filamentosos: casos clásicos y nuevos modelos. *Revista Iberoamericana de Micología* 32(1), 1-12.

Hans-Konrad Biesalski, M. D., Ph. D., Lars Ove Dragsted, Ph. D., Ibrahim Elmadfa, M. D., Rolf Grossklaus, M. D., Michael Müller, Ph. D., Dieter Schrenk, Ph. D., Paul Walter, M. D., y Peter Weber, M. D., Ph. D. (2009). Bioactive compounds: Definition and assessment of activity. *Nutrition* 25, 1202-1205.

Hemalatha, R. y Anbuselvi, S. (2013) Physicochemical constituents of pineapple pulp and waste. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* 5(2), 240-242.

Herranz, B., Martínez, A. y Alvarez, M. D. (2019). Influence of fiber addition on white sauces made with corn starch: Effect on their freezing/thawing stability. *Food Chemistry* 0, 1-11.

Hofman, D. L., van Buul, V. J., y P. H. Brouns, F. J. (2016), Nutrition, Health, and Regulatory Aspects of Digestible Maltodextrins. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 56(12), 2091-2100.

Hutkins, R. W., Krumbeck, J. A., Bindels, L. B., Cani, P. D., Fahey, G., Goh, Y. J., Hamaker, B., Martens, E. C., Mills, D. A., Rastal, R. A. y Vaughan, E. (2016). Prebiotics: why definitions matter. *Current Opinion in Biotechnology* 37, 1-7.

Imandi, S. B., Bandaru, V. V. R., Somalanka, S. R., Bandaru, S. R. y Garapati, H. R. (2008). Application of statistical experimental designs for the optimization of medium constituents for the production of citric acid from pineapple waste. *Bioresource Technology* 99(10), 4445-4450.

Iskaleva, A., Yimmou, B. M., Gogate, P. R., Horvath, M., Horvath, P. G. y Csoka, L. (2012). Cavitation assisted delignification of wheat straw: A review. *Ultrasonics Sonochemistry* 19, 984-993.

Jacob, J. K., Tiwari, K., Correa-Betanzo, J., Misran, A., Chandrasekaran, R. y Paliyath, G. (2012). Biochemical Basis for Functional Ingredient Design from Fruits. *Annual Review of Food Science Technology* (3), 79-104.

Jalili, T., Wildman E. C. y Medeiros D. M. (2015). Nutraceutical Roles of Dietary Fiber. *Journal of Nutraceuticals, Functional & Medical Foods* 2(4), 19-34.

James, M. Lattimer y Mark, D. Haub. (2010). Effects of Dietary Fiber and Its Components on Metabolic Health. *Journal Nutrients* 2, 1266-1289.

Karimi, M., Jenkins, B. y Stroeve, P. (2014). Ultrasound irradiation in the production of ethanol from biomass. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 40, 400-421.

Ketnawa, S., Chaiwut, P., y Rawdkuen, S. (2012). Pineapple Wastes: A Potential Source for Bromelain Extraction. *Food and Bioproducts Processing* 90.

Khalil, A. I. (2002). Production and characterization of cellulolytic and xylanolytic enzymes from the ligninolytic white-rot fungus *Phanerochaete chrysosporium* grown on sugar cane bagasse. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 18, 753-759.

Kim, S. J., de Souza, R. J., y Choo, V. L., *et al.* (2016). Effects of dietary pulse consumption on body weight: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *The American Journal of Clinical Nutrition* 103, 1213-23.

Kongsuwan, A., Suthiluk, P., Theppakorn, T., Srilaong, V. y SETHA, S. (2009) Bioactive compounds and antioxidant capacities of phulae and nanglae pineapple. *Asian Journal of Food and Agro-Industry* 2, 44-50.

Kumar, K., Srivastav, S., y Sharanagat, V. S. (2020). Ultrasound assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from fruit and vegetable processing by-products: A review. *Ultrasonics - Sonochemistry* 70, 105325.

Kumar, S., Hemavathi, A. B., y Umesh Hebbar, H. (2011). Affinity based reverse micellar extraction and purification of bromelain from pineapple (*Ananas comosus* L. Merrill) waste. *Process Biochemistry* 46, 1216-1220.

Larrauri, J. A. (1999). New approaches in the preparation of high dietary fiber powders from fruit by-products. *Trends in Food Science & Technology* 10(1), 3-8.

Lee, K. Y., Park, K. H. y Lee, H. G. (2016). Effect of Modified Dietary Fiber Extracted from Wholegrain Wheat on the Physicochemical and Cake Properties. *Food Science and Biotechnology* 25(2), 477-482.

Lia, A., Hallmans, G., Sandberg, A. S., Sundberg, B., Aman, P., Andersson, H. (1995). Oat beta-glucan increases bile acid excretion and a fiber-rich barley fraction increases cholesterol excretion in ileostomy subjects. *The American Journal of Clinical Nutrition* 62, 1245-1251.

Lindman, B., Karlström, G., y Stigsson, L. (2010). On the mechanism of dissolution of cellulose. *Journal of Molecular Liquids* 156, 76-81.

Lineback, D.R. (1999). The chemistry of complex carbohydrates. *Complex Carbohydrates in Foods*. Marcel Dekkert, Inc. New York.

López-Herrera, M., WingChing-Jones, R., Rojas-Bourrillon, A., y Rodríguez-Chacón, S. (2014). Valor nutricional del ensilaje de rastrojo de piña con niveles crecientes de urea. *Nutrición Animal Tropical* 8(1), 1-20.

- Lucas, M., Cardoni, A., y MacBeath, A. (2005). Temperature effects in ultrasonic cutting of natural materials. *CIRP Annals* 54 (1), 195-198.
- Luo, X., Wang, Q., Fang, D., Zhuang, W., Chen, C., Jiang, W., y Zheng, Y. (2018). Modification of insoluble dietary fibers from bamboo shoot shell: Structural characterization and functional properties. *International Journal of Biological Macromolecules* 120, 1461-1467.
- Macagnan, F. T., Santos, L. R. D., Roberto, B. S., De Moura, F. A., Bizzani, M., y Da Silva, L. P. (2015). Biological properties of apple pomace, orange bagasse and passion fruit peel as alternative sources of dietary fiber. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fiber* 6(1), 1–6.
- Manning, T., y S. Gibson, G. R. (2004). Microbial-gut interactions in health and disease. *Best Practice & Research: Clinical Gastroenterology* 18, 287-298.
- Maurer, H. (2001) Bromelain: biochemistry, pharmacology and medical use. *Cellular and Molecular Life Sciences* 58(9), 1234-1245.
- Méndez-Montevalvo, M. G. C., Nuñez, S., M. C. y Solorza, F., J. (2001). *Introducción a la Reología. Instituto Politecnico Nacional, México, D.F.*
- Mohamed, M. A., Jaafar, J., Ismail, A. F., Othman, M. H. D., y Rahman, M. A. (2017). Chapter 1 - Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy, *Membrane Characterization* (pp. 3-29). Elsevier B.V.
- Ferreira Martins, D., Bernaldino de Souza, A., Alves Henrique, M., Alves Silvério, H., Flauzino Neto, W. P. y Pasquini, D. (2014). The influence of the cellulose hydrolysis process on the structure of cellulose nanocrystals extracted from capim mombaca (*Panicum maximum*). *Industrial Crops and Products*, 16-35.
- Mataix Verdú, J. y Gassull, M. A. (2002). Fibra alimentaria. En: J Mataix Verdú. Ed. *Nutrición y Alimentación humana*. Ergon, Madrid. 119-135 pp.
- Miller, J. (2014). CODEX-aligned dietary fiber definitions help to bridge the “fiber gap”. *Journal Nutrints* 13(1), 1-10.
- Montet, D., y Ray, R. C. (2016). Fermented foods. *Biochemistry and biotechnology*. New York, NY: CRC Press.

Mudgil, D., y Barak, S. (2013). Composition, properties and health benefits of indigestible carbohydrate polymers as dietary fiber: A review. *International Journal of Biological Macromolecules* 61, 1-6.

Musch, M. W., Bookstein, C., y Xie, Y. (2001). SCFA increase interfinal Na absorption by induction of NHE3 in rat colon and human intestinal C2/bbe cells. *American Journal of Physiology* 280, G687-693.

Narsappa, K. y Pandit, A. B. (2016). Process intensification of delignification and enzymatic hydrolysis of delignified cellulosic biomass using various process intensification techniques including cavitation. *Bioresource Technology* 213, 162-168.

Naumann, E., van Rees, A. B., Onning, G., Oste, R., Wydra, M., Mensink, R. P. (2006). Beta-glucan incorporated into a fruit drink effectively lowers serum LDL-cholesterol concentrations. *The American Journal of Clinical Nutrition* 83, 601-605.

Nicolau-Lapeña, I., Lafarga, T., Viñas, I., Abadias, M., Bobo, G., y Aguiló-Aguayo, I. (2019). Ultrasound Processing Alone or in Combination with Other Chemical or Physical Treatments as a Safety and Quality Preservation Strategy of Fresh and Processed Fruits and Vegetables: A Review. *Food and Bioprocess Technology* 12, 1452-1471.

Nigam, J. N. (2000). Optimization of dilution rate for the production of value added product and simultaneous reduction of organic load from pineapple cannery waste. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 18, 301-305.

NORMA Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Que establece las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.

Ou, S., Kwok, K., Li, Y. y Fu, L. (2001). In Vitro Study of Possible Role of Dietary Fiber in Lowering Postprandial Serum Glucose. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49, 1026-1029.

Paul, D. K., y Shaha, R. K. (2004) Nutrients, vitamins and minerals content in common citrus fruits in the northern region of Bangladesh. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 7(2), 238-242.

- Pérez-Rodríguez, N., García-Bernet, D., y Domínguez, J. M. (2016). Effects of enzymatic hydrolysis and ultrasounds pretreatments on corn cob and vine trimming shoots for biogas production. *Bioresource Technology* 221, 130-138.
- Py, C., Lacoeyllhe, JJ., Teisson, C. (1984). L'ananas: sa culture, ses produits, Maisonneuve et Larose, France.
- Ramírez, S. (2012). *Aprovechamiento de residuos agroindustriales, cascarilla de arroz (Oriza sativa) y residuos de papa (Solanun tuberosun) para la producción de Trichoderma spp* (tesis de maestría). Universidad técnica de Ambato, Ambato, Ecuador.
- Rastall, R. A. (2010). Functional oligosaccharides: application and manufacture. *Annual Review of Food Science and Technology* 1, 305-339.
- Rivera-Cruz. (2018). *Efecto de la hidrólisis enzimática en el contenido de fibra dietética soluble, propiedades fisicoquímicas, funcionales, reológicas y estructurales del bagazo de piña (Ananas comosus)* (tesis de licenciatura). Universidad del Papaloapan, Campus Tuxtepec, Oaxaca, México.
- Rickman, J. C., y Barrett, D. M. (2007). Nutritional comparison of fresh, frozen and canned fruits and vegetables. Part 1. Vitamins C and B and phenolic compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 87(6), 930-944.
- Roda, A., Lucini, L., Torchio, F., Dordoni, R., Faveri, D., y Lambri, M. (2017). Metabolite profiling and volatiles of pineapple wine and vinegar obtained from pineapple waste. *Food Chemistry*, 734-742.
- Rodney, A., Samaan, M. D., MPH. (2017). "Dietary fiber for the prevention of cardiovascular disease". ProgressiveMD. Los Angeles, CA, United States, 26-29 pp.
- Sagar, N. A., Pareek, S., Sharma, S., Yahia, E. M., y Lobo, M. G. (2018). Fruit and Vegetable Waste: Bioactive Compounds, Their Extraction, and Possible Utilization. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 17, 1541-4337.
- SAGARPA, Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. (2017). Planeación Agrícola Nacional 2017-2030. Piña Mexicana. México. 2-5 pp.

- Saura-Calixto, F., García-Alonso, A., Goñi, I. y Bravo, L. (2000). *In vitro* determination of the indigestible fraction in foods: Alternative to dietary fiber analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48, 3342-3347.
- Segal, L., Creely, J. J., Jr. Martin, A. E., y Conrad, C. M. (1959). An Empirical Method for Estimating the Degree of Crystallinity of Native Cellulose using X-ray Diffractometer. *Tex. Res. J.* (29), 786-794.
- Seleni, M. M., Canniatti, S. G., dos Santos, C. T., Ratnayake, W. S., Flores, R. A., y Bianchini, A. (2014). Characterization and potential application of pineapple pomace in an extruded product for fiber enhancement. *Food Chemistry* 163, 23-30.
- SIAP, Servicio de información agroalimentaria y pesquera. (2014). Servicio de información agroalimentaria y pesquera SAGARPA. (En línea). Disponible en: <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-estado/>.
- Singh, S. K., Rai, P. K., Jaiswal, D., y Watal, G. (2008). Evidence based critical evaluation of glycemic potential of *Cynodon dactylon*. *Evidence Based Complementary and Alternative Medicine* 5, 415-420.
- Slavin, J. (2013). Fiber and prebiotics: Mechanisms and health benefits. *Nutrients* 5, 1417-1435.
- Smith, B., C. (2000). *Infrared spectral interpretation: a systematic approach*. Boca Raton, Florida, CRC Press.
- Subhedar, P. B., Babu, N. R. y Gogate, P. R. (2015). Intensification of enzymatic hydrolysis of waste newspaper using ultrasound for fermentable sugar production. *Ultrasonics Sonochemistry* 22, 326-332.
- Tekin, K., Karagöz, S., Bektas, S. (2014). A review of hydrothermal biomass processing. *Recent Renewable & Sustainable Energy Reviews Articles* 40, 6733-687.
- Theuwissen, E., y Mensink, R. P. (2007). Simultaneous intake of beta-glucan and plant stanol esters affects lipid metabolism in slightly hypercholesterolemic subjects. *Journal Nutrients* 137, 583-588.

- Theuwissen, E., y Mensink, R. P. (2008). Water-soluble dietary fibers and cardiovascular disease. *Physiology and Behavior* 94(2), 285-292.
- Uriza-Ávila, D. E., Torres-Ávila, A., Aguilar-Ávila, J., Santoyo-Cortés, V. H., Zetina-Lezama, R., y Rebolledo-Martínez, A. (2018). *La piña mexicana frente al reto de la innovación. Avances y retos en la gestión de la innovación*. Colección Trópico Húmedo. Chapingo, Estado de México. México: UACH.
- United States Department of Agriculture Agricultural Research Service-National Nutrient Database for Standard Reference Legacy Release. (2016). Basic Report: 09266, Pineapple, raw, all varieties. Disponible en <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/09266>.
- Valderrain-Rodríguez, G. R., de Ancos, B., Sánchez-Moreno, C., y González-Aguilar, G. A. (2017). Functional properties of pineapple. *Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD)* 13, 240-252.
- Vega-López, S., Venn, B. J., y Slavin J. L. (2018). Relevance of the Glycemic Index and Glycemic Load for Body Weight, Diabetes, and Cardiovascular Disease. *Nutrients* 10, 1361.
- Wang, J., Sporns, P. y Low, N. H. (1999). Analysis of food oligosaccharides using MALDI-MS: quantification of fructooligosaccharides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47(4), 1549-1557.
- Wang, M., Liu, K., Dai, L., Zhang, J. y Fang, X. (2012). The structural and biochemical basis for cellulose biodegradation. *J Chem Technol Biotechnol* 88, 491-500.
- Wen, Y., Niu, M., Zhang, B., Zhao, S., y Xiong, S. (2017). Structural characteristics and functional properties of rice bran dietary fiber modified by enzymatic and enzyme-micronization treatments. *LWT-Food Science and Technology* 75, 344-351.
- Wilson, K. A., Han, Y., Zhang, M., Hess, J. P., Chapman, K. A., Cline, G. W., Tochtrop, G. P., Brunengraber, H., y Zhang, G. (2017). Inter-relations between 3-hydroxypropionate and propionate metabolism in rat liver: relevance to disorders of propionyl-CoA metabolism. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 313, E413-E428.

- Wismar, R., Brix, S., Frokiaer, H., y Laerke, H. N. (2010). Dietary fibers as immunoregulatory compounds in health and disease. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1190, 70-85.
- Wu, X., Wu, Y., He, L., Wu, L., Wang, X., y Liu, Z. (2018). Effects of the intestinal microbial metabolite butyrate on the development of colorectal cancer. *Journal of Cancer* 9(14), 2510-2517.
- Xu, F., Shi, Y., y Wang, D. (2013). X-ray scattering studies of lignocellulosic biomass: A review. *Carbohydrate Polymers* 94, 904-917.
- Xu, Y., Zhang, L., Bailina, Y., Ge, Z., Ding, T., Ye, X., Liu, D. (2014). Effects of ultrasound and/or heating on the extraction of pectin from grapefruit peel. *Journal of Food Engineering* 126, 72-81.
- Yu, G., Bei, J., Zhao, J., Li, Q., y Cheng, C. (2018). Modification of carrot (*Daucus carota* Linn. var. Sativa Hoffm.) pomace insoluble dietary fiber with complex enzyme method, ultrafine comminution, and high hydrostatic pressure. *Food Chemistry* 257, 333-340.
- Zambrano, Z., Hernández, A. D. and Navarro Y. (1998). Caracterización fisicoquímica del nopal. En: *Temas de tecnología de alimentos*. Vol. 2. Editado por Lajolo, M. y E. Wenzel. CYTED. Instituto Politécnico Nacional. México. 29-41 pp.
- Zhang, Y., Colella, R., Kycia, S., Goldman, A. I. (2002). Absolute structure-factor measurement of al -pd -mn of quasicrystal. *Acta Cryst A* 58, 385-390.
- Zheng, Y., y Li, Y. (2018). Physicochemical and functional properties of coconut (*Cocos nucifera* L) cake dietary fibres: Effects of cellulase hydrolysis, acid treatment and particle size distribution. *Food Chemistry* 257, 135-142.
- Zumar, M. A. y Mohee, R. (2018). Ultrasound-assisted biological conversion of biomass and waste materials to biofuels: A review. *Ultrasonics Sonochemistry* 40, 298-313.