

EVACUACIÓN DEL MATERIAL FOLIAR DE RAYO DE SOL COMO POSIBLE FUENTE DE XANTOFILAS

Myrna L. Medina B.* y Rafael J. Carreño D.**

Estos resultados forman parte del proyecto Evaluaciones de materias primas agrícolas para la producción de concentrados proteicos pigmentantes para aves, No. 03-33-2342-90] financiado por el consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (CDCH) de la Universidad Central de Venezuela (UCV).

*Profesores, asistentes y **Titular, respectivamente. UCV. Facultad de Ciencias. Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICTA). Apdo. 47097.

RECIBIDO: junio 02, 1998

RESUMEN

Se propuso evaluar el material foliar de rayo de sol, *Tithonia diversifolia* Hemsl, como posible fuente de Xantofilas. Para ello se procedió al fraccionamiento de los carotenoides haciendo uso de cromatografía en columna abierta de magnesia activada y tierra de diatomeas (1:1). Las xantofilas a su vez se fraccionaron en una columna abierta de sílica gel y tierra de diatomeas (1:1). El contenido de carotenos fue 430,94 µg de β-caroteno/100 g del material foliar. El contenido de xantofilas monohidroxiladas y dihidroxiladas fue de 533,19 µg expresados como α-criptoxantina y 161,60 µg como luteína/100 g del material foliar, respectivamente. Esta última representó el 48,33% de la fracción de xantofilas. Se considera conveniente una proporción de 60% de las xantofilas dihidroxiladas si lo que se desea es usar la harina como fuente de pigmentantes para las yemas de los huevos, por lo cual la harina de material foliar de rayo de sol se adecuaría a estos fines.

Palabras Clave: *Tithonia diversifolia* Hemsl; carotenoides; pigmentos; xantofilas.

SUMMARY

An analysis were conducted to evaluate the rayo de sol, *Tithonia diversifolia* Hemsl, leaves as a potential economic source of xanthophylls for commercial poultry feed. The carotenoids in rayo de sol leaves have been fractionated by column chromatography (Adsorptive Magnesia: a Celite Diatomite filter aid, 1:1) and (Silica gel: a Celite Diatomite filter aid, 1:1). The major identified pigments were: carotene: 430,94 µg β-carotene/100 g, monohydroxypigments 533,19 µg α-cryptoxanthin/100 g and dihydroxy-pigments 161,60 µg lutein/100 g). Dihydroxypigments represents 48,33% of xanthophylls, and authors recommends 60% of lutein in the material for pigmenting egg yolk.

Key Words: Carotenoids; pigments; *Tithonia diversifolia* Hemsl; xanthophylls.

INTRODUCCIÓN

Las xantofilas u oxicarotenoides son aquellos carotenoides que además de carbono e hidrógeno incluyen en su estructura molecular átomos de oxígeno. Se diferencian de los carotenos en que uno o ambos anillos de ionona están hidroxilados (monohidroxi-, dihidroxi- y polioxipigmentos), lo que hace posible la esterificación del carotenoide con un ácido graso y lo diferencia en su disponibilidad biológica, así como en su potencia como pigmentante (Burdick y Fletcher, 1984).

Las xantofilas son las responsables del color de las yemas de los huevos de allí su aplicación en la formulación de dietas para gallinas ponedoras. También son de interés en la alimentación de las aves ornamentales, canarios y flamings, para su papel en el color del plumaje. En estos casos se destacan la zeaxantina (carotenoide amarillo) y la cantaxantina (carotenoide rojo) según lo explica Bauernfeind citado por Dziezak (1987).

La industria avícola venezolana dispone de fuentes naturales y sintéticas de xantofilas, la cantaxantina (4,4' -diceto- β -*caroteno) y el β -apo-8'-carotenal, ambos excelentes pigmentantes para las yemas de los huevos, pero de costo elevado como para ser usados como únicos pigmentantes (Azócar, 1991). En este sentido, Villalobos (1989), hizo un análisis económico para el año 2 000, en donde destaca la necesidad de producir 810 000 t de alimento concentrado por año, a un costo anual, por concepto de aditivos pigmentantes, de 100 millones de bolívares, sin considerar la inflación, ni lo que significa para el país, desde el punto de vista de la fuga de divisas, la importación de insumos.

También son fuentes naturales y tradicionales en la formulación de dietas para las gallinas la alfalfa, *Medicago sativa*, la gramínea pasto bermuda, la planta de la batata, *Ipomoea batata*, los pétalos del clavel de muerto y el maíz amarillo, *Zea mays*. En estos materiales predominan las xantofilas: luteína y zeaxantina, las cuales parecen ser las más aprovechadas en la pigmentación de las yemas de los huevos. De todas, los pétalos del clavel de muerto es la fuente de mayor concentración de xantofilas (6 000 - 10 000 mg/kg. de harina de pétalos); y según Philip y Berry (1975), la luteína representa el 60% de las xantofilas en la harina de los pétalos de la flor de caléndula, y se encuentra en la naturaleza acilada con los ácidos grasos, láurico, mirístico, palmítico y esteárico, y es la xantofila más frecuente en las plantas comestibles.

Particularmente en Venezuela, la industria avícola ha recurrido a las harinas de alfalfa y de maíz amarillo como excelentes fuentes de pigmentantes en la formulación de las raciones alimenticias para las aves de corral. El maíz contiene principalmente criptoxantina y zeaxantina; y de los dos rubros mencionados, es el que podría solucionar parte de las limitaciones señaladas, sin embargo, la producción nacional no satisface las exigencias, ya que además de ser un cereal de bajo rendimiento, constituye un alimento básico de consumo directo y de alta demanda por la población venezolana.

Es por ello que los industriales y los profesionales relacionados con la ciencia y tecnología de alimentos se han dedicado a la búsqueda de materia prima vegetal que pueda incorporarse en la formulación de las raciones alimenticias de las aves de corral como fuente del pigmento, nutritiva (buena fuente de proteína cruda, bajo contenido de fibra cruda y de factores antinutricionales), económica, así como una tecnología

sencilla de implantar y de desarrollar.

En este sentido se destacan los trabajos de Scott *et al.* (1968), quienes formularon una dieta basal suplementada con harina de pétalos de clavel amarillo, *Tagetes erecta*, para gallinas ponedoras y señalan que la concentración de xantofilas en la yema, y en los otros órganos del animal, aumenta con el contenido de la misma en el alimento formulado, destacando, que la zeaxantina es una de las mejores xantofilas pigmentantes, es absorbida con mayor eficiencia que la luteína, y aporta a las yemas de los huevos un color anaranjado intenso.

Chen (1988) y Chen y Baley (1988), también formularon dietas para gallinas ponedoras, pero, con harina de la gramínea pasto bermuda o pelo de indio, *Cynodon dactylon*, y obtuvieron yemas con intensidades de color entre 7 y 8 en el abanico de Roche. Según el análisis cromatográfico de las mismas el color se debe, principalmente, a la luteína libre y a la zeaxantina en proporción 79:21; mientras que observaron poca cantidad de luteína monoéster.

Por su parte, Gutiérrez (1987), señaló 63,48 mg/100 g de xantofilas en el material foliar de leucaena, *Leucaena leucocephala* (Lam) De Witt, el 63,3% de las mismas está hidroxilada, que es lo deseable si el objetivo es pigmentar yemas de huevos. Mientras que Villalobos (1989), encontró 718,6 mg/kg.; también evaluó el material foliar de las plantas de la yuca, *Manihot esculenta*, mata de ratón, *Gliricidia sepium* y de amaranto, *Amaranthus* sp., así como también los pétalos del clavel de muerto y la pulpa de la batata. En esta última no indicó xantofilas, del resto del material evaluado, el de mayor contenido fue la harina de pétalos del clavel de muerto (1 490,0 mg/kg. de harina) coincidiendo con lo expuesto por Scott *et al.* (1968); seguido por las harinas del material foliar de leucaena, yuca (676,7 mg/kg), mata de ratón (619,2 mg/kg.) y amaranto (537,0 mg/kg.).

En consecuencia se propuso con este trabajo el siguiente objetivo: evaluar el material foliar de rayo de sol como posible fuente de xantofilas, ya que este es un material que abunda a orilla de Carretera y en los terrenos aledaños de la ciudad, por lo cual resulta una materia prima de fácil obtención, además de poseer una flor de un color amarillo intenso lo que lleva a pensar, sea una excelente fuente de xantofilas. Para alcanzar el objetivo se diseñaron las siguientes actividades de investigación: 1) Determinar la presencia de carotenos y xantofilas en el material foliar de rayo de sol. 2) De evidenciarse la presencia de oxicarotenoides, fraccionarlos y cuantificar las xantofilas en la harina obtenida del material vegetal. 3) Realizar el análisis químico a la harina del material foliar de rayo de sol.

MATERIALES Y MÉTODOS

La materia prima se obtuvo del material foliar de la planta rayo de sol, recolectado en terrenos del área metropolitana de Caracas, escogiéndose al azar y en forma generalizada las hojas sanas, tiernas e intactas. El material se pesó y deshidrató en corriente de aire a 70 °C durante 3 horas, en un desecador de bandeja "National" No. TY2-44864. El material deshidratado fue molido y pasado por un tamiz de 40 mesh. La harina obtenida se empacó en bolsas de polietileno con cierre, para luego ser guardada en ambiente seco y protegido de la luz.

Fraccionamiento de los carotenoides y cuantificación de las fracciones de

carotenos y xantofilas. El fraccionamiento de los carotenoides y la cuantificación de las fracciones de carotenos (fracción I) y xantofilas (fracción II) se realizó según el método descrito por Quackenbush *et al.* citados por De Ritter y Purcell (1981). Para ello se obtuvo el extracto lipídico usando la mezcla de extracción, hexano : acetona : alcohol absoluto : tolueno (10+7+6+7), es de hacer notar que el estado de los solventes en todos los casos fue en grado analítico.

El extracto lipídico se pasó por una columna abierta de vidrio Pyrex de 125 mm x 30 cm, con tubo capilar de 2 mm de diámetro interno y 10 cm de largo, con el adsorbente II, el cual se preparó mezclando en un homogeneizador mecánico durante 1 o 2 h en proporción 1+1, p/p, Magnesia Activada Sorb 43 y Tierra de Diatomeas Hyflo SuperCel, ambos Fisher Scientific Co., que separa los carotenos de las xantofilas. Para eluir la fracción de carotenos se usó la mezcla de solventes hexano : acetona (90+10) y para las xantofilas hexano:acetona:metanol (80+10+10).

Fraccionamiento y cuantificación de los carotenos y xantofilas. El fraccionamiento de los carotenos y xantofilas, y su cuantificación en la harina obtenida se realizó según el método citado. Para ello se pasó el extracto lipídico, saponificado, por una columna abierta, de las mismas dimensiones que la anterior, de adsorbente I, el cual se preparó mezclando en un homogeneizador mecánico en proporción 1+1, p/p, durante 1 ó 2 h, Sílica Gel y Tierra de Diatomeas Hyflo Super Cel (Fisher Scientific Co.).

La fracción de carotenos se eluyó con la mezcla de solventes hexano : acetona (96+4). Le sigue la fracción de xantofilas monohidroxiladas con la mezcla de solventes hexano : acetona (90+10) y luego las xantofilas dihidroxiladas con la mezcla hexano: acetona (80+20). Para la saponificación del extracto lipídico fue necesaria una solución de hidróxido de potasio metanólico al 40%, y dos temperaturas: saponificación en caliente a 56 °C por 20 min. y saponificación en frío a temperatura ambiente por 16 h en ambiente oscuro. En ambos casos se siguió la metodología descrita por los autores ya citados. El barrido espectro - fotométrico de cada una de las fracciones eluidas se realizó con un espectrofotómetro Milton Roy, Spectronic 1 021 conectado a un computador - procesador 80.386, Programa Milton Roy Micro Quant Software versión 2,1. Se usó como patrón suspensión de β -caroteno al 30% en aceite de maní.

Análisis químico. Para la mayoría de las determinaciones se aplicó la metodología oficial de análisis recomendada en "Association of Official Analytical Chemist" de 1990. Determinación de humedad en estufa a presión atmosférica y 135 °C, método No. 930,15. Determinación de cenizas en estufa a 600 °C, método No. 942,05. Determinación de grasa cruda o extracto etéreo, método gravimétrico No. 954,02. Determinación de fibra cruda, método No. 962.09. Determinación de nitrógeno total, método de MicroKjeldahl, factor de conversión: 6,25. Calcio en plantas, método permangano-métrico, No. 910,01. Fósforo, método espectrofotométrico, (Polanco *et al.*, 1983). Taninos, método espectrofotométrico (Price y Butler, 1977). Vitamina A: se determinó aritméticamente usando la actividad de provitamina A de cada uno de los carotenoides activos según Bauernfeind, citado por Cecchi y Rodríguez-Amaya (1981). Un μg de β -caroteno (100% de actividad) igual a 0,5 μg de vitamina A. Un μg de α -caroteno o un μg de criptoxantina corresponde a 0,25 μg de vitamina A (50% de actividad).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al realizar la cromatografía en columna abierta con el adsorbente I, del extracto lipídico saponificado en caliente fue reconocido la fracción de carotenos; mientras que de las xantofilas sólo fue reconocido la fracción de monohidroxiladas. En consecuencia se continuó el trabajo con la saponificación en frío, ya que permite una mayor cuantificación de los carotenoides que la saponificación en caliente.

Cuantificación de las fracciones de carotenos y xantofilas. Adsorbente II. Las Figuras 1 y 2 representan los espectros de absorción de las fracciones de carotenos (fracción I) y de las xantofilas (fracción II), respectivamente, y sus características espectrales en el Cuadro 1. Se estimó la concentración de carotenos como μg de β -caroteno/100 g de harina del material foliar de rayo de sol, igual a 215,47 μg de vitamina A/100 g de la harina, y la de xantofilas como μg de α -criptoxantina/100 g de la harina, equivalentes a 83,48 μg de vitamina A/100 g de la harina.

Fraccionamiento de las xantofilas. Adsorbente I. Las Figuras 3, 4 y 5 representan los espectros de absorción de la fracción de carotenos, xantofilas monohidroxi y dihidroxiladas; y sus características espectrales en el Cuadro 2. Los máximos de absorbancia de la fracción I obtenida con este adsorbente son muy similares a los obtenidos con el adsorbente II.

La concentración de los carotenos estuvo basada en μg de β -caroteno/100 g de harina del material foliar de rayo de sol, equivalentes a 212,10 μg de vitamina A/100 g de la harina. En consecuencia la concentración, estimada resultó mayor con el adsorbente II. Lo que podría explicarse por la inestabilidad del β -caroteno en sílica gel (Tanaka *et al.*, 1981 y Rodríguez-Amaya, 1992).

También fue calculada la concentración de xantofilas monohidroxiladas como μg de α -criptoxantina/100 g de harina de rayo de sol, equivalentes a 133,29 μg de vitamina A/100 g de la harina.

Es posible que haya más de una xantofila dihidroxilada presente en esta fracción. El primer y el segundo máximo están muy próximos a los correspondientes del mutacrom (El-Tiney y Chichester citados por Davies, 1976; Klaüi y Bauernfeind, 1981), al de la flavoxantina (luteína 5,8-epóxido) y la zeaxantina (Valadon y Mummery citados por Davies, 1976), lo que explicaría la poca definición del espectro.

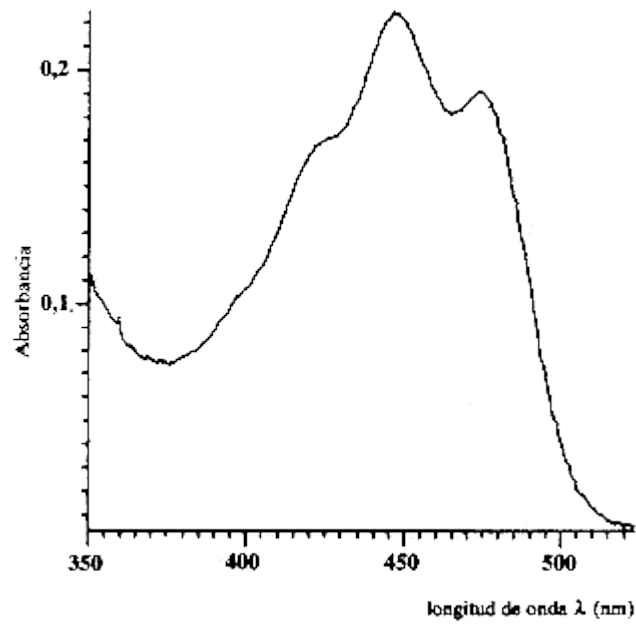


FIGURA 1. Espectro de absorción de la fracción de carotenos en el material foliar de rayo de sol, obtenida con magnesia activada.

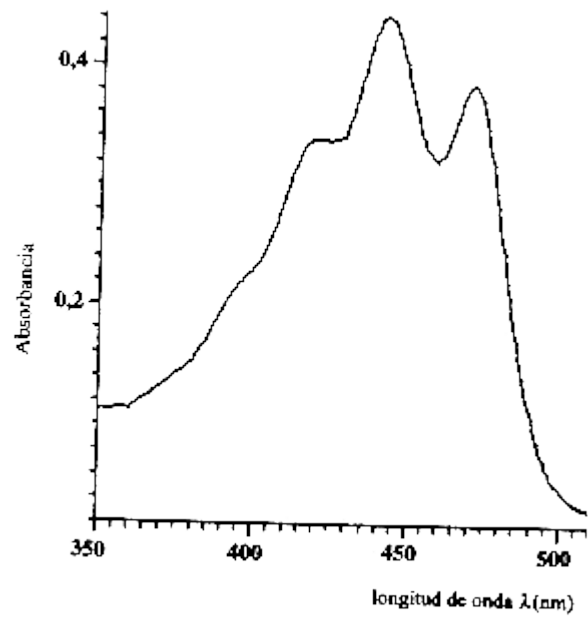


FIGURA 2. Espectro de absorción de la fracción de Xantofilas en el material foliar de rayo de sol, obtenida con magnesia activada.

CUADRO 1. Características espectrales de las fracciones de carotenos y xantofilas en la harina en el material foliar de rayo de sol.

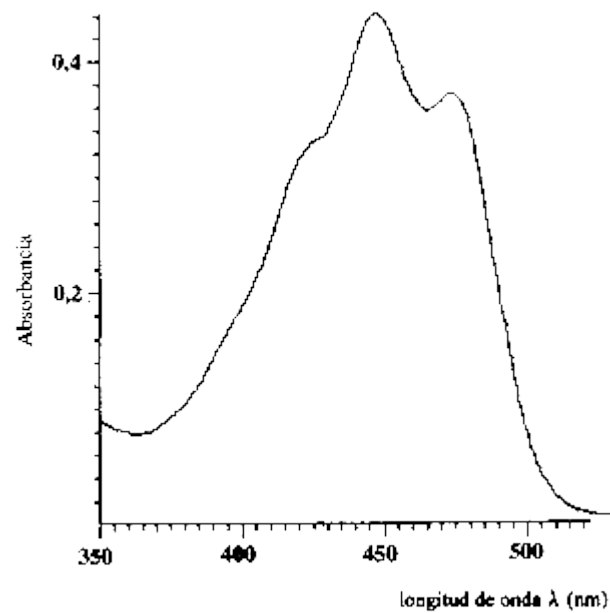


FIGURA 3. Espectro de absorción de la fracción de carotenos en el material foliar de rayo de sol, obtenida con sílica gel.

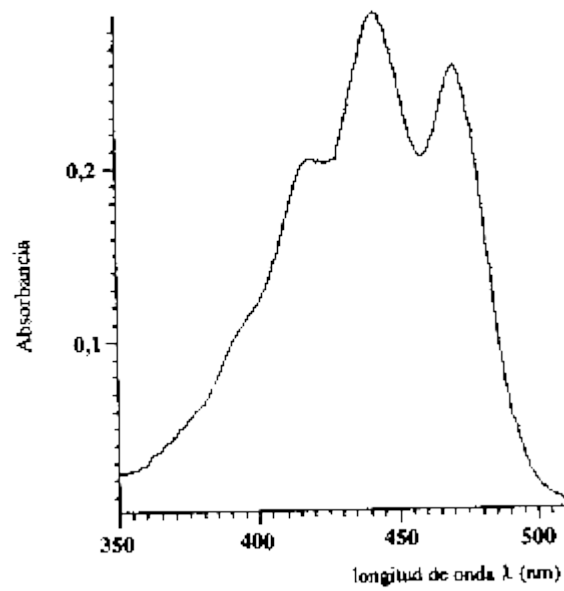


FIGURA 4. Espectro de absorción de la fracción de Xantofilas en el material foliar de rayo de sol, obtenida con sílica gel.

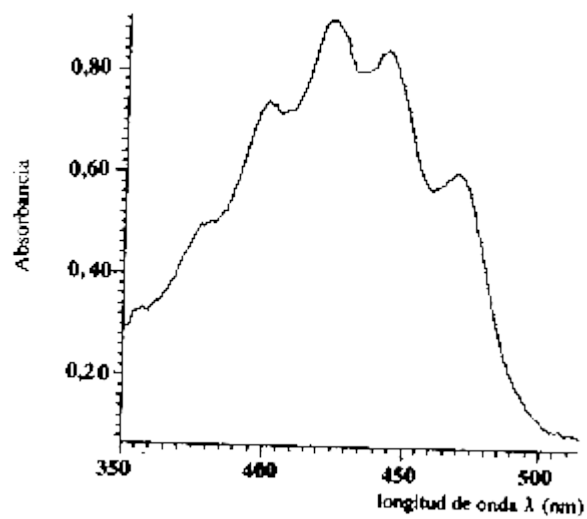


FIGURA 5. Espectro de absorción de la fracción de

Xantofilas dihidroxiladas en el material foliar de rayo de sol, obtenida con sílica gel.

CUADRO 2. Características espectrales de las fracciones de carotenos de las Xantofilas monohidroxiladas y dihidroxiladas en el material foliar de rayo de sol.

Composición química del material foliar de rayo de sol. El Cuadro 3 presenta la composición proximal, determinación de calcio, fósforo, taninos concentración de carotenos, xantofilas y xantofilas dihidroxiladas en la harina del material foliar de rayo de sol. La cuantificación de las xantofilas fue de 333,93 µg/100 g de la harina y de xantofilas dihidroxiladas 161,60 µg/100 g de la harina, lo que representa un 48,33% de las xantofilas expresadas como luteína.

Comparando con lo presentado por Philip y Berry (1975), la luteína en la harina de pétalos de clavel de muerto, representa el 60% de las xantofilas, y Gutiérrez (1987), señaló 63,3% en el material foliar de leucaena que es lo deseable si lo que se pretende es pigmentar las yemas de los huevos. Desde este punto de vista, el material foliar de rayo de sol constituiría una buena fuente de dihidroxipigmentos, aportando por kg. de harina 1,616 mg del carotenoide, inferior a lo presentado por Scott *et al.* (1968), en la gramínea pasto bermuda, entre 185 y 350 mg de Luteína/kg. de la harina y por Colombo (1986), para la harina de pulpa de auyama (29,9 mg/kg).

CUADRO 3. Composición química de la harina del material foliar de rayo de sol.

	Porcentajes
Humedad	11,88
Proteína cruda	22,07
Extracto etéreo	8,12
Fibra cruda	6,74
Cenizas	12,47
Carbohidratos (por diferencia)	38,72
Calcio ¹	390,60
Fósforo ¹	444,85
Vitamina A ¹	0,299
Taninos ¹	83,33
Carotenos ²	430,94
Xantofilas ²	333,93
Xantofilas dihidroxiladas ²	161,60

(1): mg/100 g de harina; (2): µg/100 g de harina.

Según Azócar (1991), estos pigmentos deben ser incorporados en una concentración aproximada a 20 mg/kg. de dieta, si se desea obtener yemas con un color entre los

No. 7 y 8 del abanico de Roche, que son los valores aceptados por el público consumidor venezolano.

Con sus estudios Chen (1988), obtuvo yemas con las intensidades de color antes señaladas y según él se debía a la luteína libre y a la zeaxantina en la proporción 79 : 21. Estas yemas provenían de gallinas cuya dieta estaba formulada con la harina de la gramínea pasto bermuda al 9% como fuente de pigmentante. Si se considera el rango del contenido de luteína observado por Scott *et al.* (1968), para esta gramínea, el contenido de la xantofila en la dieta estaría comprendida entre 1,66 y 3,15 mg de luteína / 100 g de dieta.

La proporción de xantofilas dihidroxiladas en rayo de sol es de 48,33%. En este sentido si lo que se desea es usar la harina como fuente pigmentante para las yemas de los huevos, el rayo de sol sería lo más adecuado, sin embargo, se requeriría fraccionar las xantofilas dihidroxiladas para identificar los pigmentos presentes y su proporción.

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen al Departamento de Botánica del Instituto de Biología Experimental de la Facultad de Ciencias de la UCV, por la colaboración prestada en la identificación del material biológico. Al Laboratorio de Biofísica del mismo Instituto, así como al Licenciado Carlos Ortiz de la Universidad de Carabobo, por la colaboración prestada en la obtención de los espectros.

BIBLIOGRAFÍA

- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMIST. 1990. Official Methods of Analysis. Vol.1. Chapters 3 and 4. 15th Edition. Edited by Kenneth Helrich. Virginia 22201. U.S.A. p. 43, 69, 70, 79, 80.
- AZOCAR, J. 1991. Utilización de xantofilas en la pigmentación de yemas de huevos. Seminario de Grado. Caracas. Venezuela. UCV. Facultad de Ciencias. Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICTA). p. 7-8, 109.
- BURDICK, D. and D. FLETCHER. 1984. Utilization of Xanthophyll in Fresh-Cut and Field-Wilted, Dehydrated Alfalfa and Coastal Bermudagrass for Pigmenting Egg Yolks. Poultry Sci. 63:1 946-1 951.
- CECCHI, H. M. and D. B. RODRIGUEZ-AMAYA. 1981. Carotenoid Composition and Vitamin A Value of Fresh and Pasteurized Cashew-Apple (*Anacardium occidentale* L.) Juice. J.Food Sci. 46:147-149.
- COLOMBO, D. 1986. Evaluación de fuentes pigmentantes de yemas de huevos de gallina. I. Auyama (*Cucurbita maxima*, Dutch). Trabajo Especial de Grado. Caracas. Venezuela. UCV. Facultad de Ciencias. Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICTA). p. 30.
- CRAFT, N. E. and J. H. SOARES Jr. 1992. Relative Solubility, Stability and Absortivity of Lutein and β -Carotene in Organic Solvents. J. Agric. Food Chem. 40:431-434.

- CHEN, B. H. 1988. Pigmentation potency of turf Bermuda grass with analysis of carotenoids in egg yolks. Dissertation Abstracts International, B 49 (6)2009. FSTA 21(7):1 989.
- CHEN, B. and C. BAILEY. 1988. Metabolism and Nutrition. Effect of Turf Bermudagrass Meal on Egg Production, Feed Utilization, Yolk Color, and Egg Weight. Poultry Sci. 67:1 154-1 156.
- DAVIES, B. H. 1976. Carotenoids. **In:** Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments. Vol. 2. Chapter 19. Edited by T.W. Goodwin. Second Edition. Academic Press. London.
- DE RITTER, E. and A. E. PURCELL. 1981. Carotenoid Analytical Methods. **In:** "Carotenoids as Colorants and Vitamin A Precursors. Technological and Nutritional Applications". Chapter 10. Edited by J. Christopher Bauernfeind. Gainesville, Florida. Academic Press. USA. p. 815-917.
- DZIEZAK, J. 1987. Applications of Food Colorants. Food Tech: April:78-88.
- GUTIERREZ B., R. H. 1987. Evaluación de fuentes pigmentantes de yema de huevo. II. *Leucaena (Leucaena leucocephala. (Lam) De Witt)*. Trabajo Especial de Grado. Caracas. Venezuela. UCV. Facultad de Ciencias. Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICTA). p. 36.
- KLAÜI, H. and C. BAUERNFEIND. 1981. Carotenoids as Food Colors. **In:** "Carotenoids as Colorants and Vitamin Precursors. Technological and Nutritional Applications". Academic Press. Cap. 2. p. 47-70.
- PHILIP, T. and J. BERRY. 1975. A Research Note. Nature of Luteinacylation in Marigold (*Tagetes erecta*) Flowers. J. Food Sc. 40(5):1 089-1 090.
- POLANCO, M., M. V. AFANADOR, A. MORA y J. MARDENI. 1983. Determinación del fósforo total en carnes crudas utilizadas como materia prima para la elaboración de embutidos. Revista del Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel". XVI (1 y 2):27.
- PRICE, M. L. and L. G. BUTLER. 1977. Rapid Visual Estimation and Spectrophotometric Determination of Tannin Content of Sorghum Grain. J. Agric. Food Chem. 25(6):1 268-1 273.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. y J. AMAYA-FARFAN. 1992. Estado actual de los métodos analíticos para determinar provitamina A. Arch. Latinoamer. Nutr. 42(2):180-191.
- SCOTT, M. L., I. ASCARELLI and G. OLSON. 1968. Studies of Egg Yolk Pigmentation. Poultry Sci. 47:863-872.
- SCHNEE, L. 1984. Plantas Comunes de Venezuela. 3ra. Edición. Caracas. Venezuela. Ediciones Biblioteca UCV. p. 104, 215 y 485.
- TANAKA, Y., T. KATAYAMA, K. L. SIMPSON and C. O. CHICHESTER. 1981. Stability of

carotenoids on silica gel and other adsorbents. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.
47(6):799-811.

VILLALOBOS, A. 1989. Evaluación de fuentes pigmentantes no tradicionales para colorear las yemas de los huevos de gallinas. Trabajo Especial de Postgrado. Caracas. Venezuela. UCV. Facultad de Ciencias. Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICTA). p. 2, 67-70.