

**UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y  
ARTES DE CHIAPAS**

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN Y  
ALIMENTOS**

**TESIS DE GRADO**

**CUANTIFICACIÓN DE  
ANTIOXIDANTES EN BEBIDAS DE  
MAÍZ (*ZEA MAYS*).**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**MAESTRA EN  
ALIMENTACIÓN  
NUTRICIÓN**

**PRESENTA**

**L.A. MIRIAM IZEL MANZO FUENTES**

**DIRECTORA DE TESIS**

**DRA. ADRIANA CABALLERO ROQUE**

**DIRECTORA EXTERNA**

**DRA. DAISY ESCOBAR CASTILEJOS**

Tuxtla Gutiérrez, Chiapas

Mayo 2018



# CONTENIDO

Introducción .....	1
Planteamiento del problema .....	4
Objetivos.....	5
General .....	5
Específicos .....	5
Marco teórico .....	6
Las bebidas representativas de chiapas.....	6
Pozol.....	7
Atole de granillo .....	9
Atol agrio .....	9
Tascalate.....	9
Microbiología del pozol.....	10
Propiedades nutrimentales.....	11
Capacidad antioxidante.....	11
Efecto del procesado de alimentos sobre la capacidad antioxidante .....	11
Nixtamalización y capacidad antioxidante del maíz .....	12
Relación de bebidas altamente azucaradas con la obesidad y enfermedades crónico degenerativas. .....	13
Daño celular a causa de sobreproducción de moléculas de oxígeno. ....	15
Radicales libres .....	15
Estrés oxidativo.....	16
Mecanismos de defensa .....	18
Antioxidantes primarios .....	19
Antioxidantes secundarios .....	20
Antioxidantes exógenos.....	21
Ingredientes de las bebidas de maíz con actividad antioxidante.....	26
Maíz .....	26
Chocolate .....	26
Achiote.....	26
Técnicas para determinar capacidad antioxidante.....	27
Método del abts●+ (ácido 2,2'-azinobis (3- etilbenzotiazolín)-6- sulfónico) .....	29
Método frap (ferric ion reducing antioxidant power) .....	29
Folin –ciocalteu .....	30
Dpph.....	30

Orac.....	30
Hipótesis.....	35
Metodología.....	36
Diseño de investigación.....	36
Variables:.....	36
Encuesta de frecuencia de consumo de bebidas.....	37
Preparación de las bebidas de maíz.....	37
Pozol de cacao.....	37
Propuestas y recomendaciones.....	49
Referencias documentales.....	50
Anexos.....	57

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Acción antioxidante para neutralizar al radical libre.....	18
Figura 2. Técnica artesanal de elaboración de pozol de cacao.....	37
Figura 3. Técnica artesanal de elaboración de tascalate .....	38
Figura 4. Técnica artesanal de elaboración de pinol de cacao .....	39
Figura 5 Técnica artesanal de elaboración de atol agrio .....	39
Figura 6. Técnica artesanal de elaboración de pozol fermentado .....	40
Figura 7. Frecuencia de consumo de bebidas de maíz.....	42
Figura 8. Diferencia de medias del porcentaje de inhibición del radical ABTS de las bebidas analizadas.....	44

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Clasificación de los antioxidantes. ....	19
Tabla 2. Clasificación de compuestos fenólicos.....	23
Tabla 3. Antioxidantes y sus fuentes principales de obtención.....	25
Tabla 4. Ventajas y desventajas de los métodos para determinación de la capacidad antioxidante.....	31
Tabla 5. Variable dependientes e independientes.....	36
Tabla 6. Clasificación de bebidas de acuerdo a su % de inhibición.....	45
Tabla 7. % de inhibición del radical ABTS y mm de eq, de trolox/ml de bebida.....	46

## AGRADECIMIENTOS

*A Dios*, no concibo mi vida sin tu inmenso amor, gracias Padre.

**A la Doctora Adriana Caballero Roque**, por sus consejos y por compartir conmigo su experiencia para llevar a cabo esta investigación.

**A la Doctora Daysi Escobar**, por las facilidades otorgadas para la realización de este trabajo en el laboratorio de calidad del agua de la UNACH.

**Al Doctor Gilber Vela y Maestro Julio Ballinas**; por el tiempo dedicado y sus valiosas aportaciones para la mejora de este trabajo.

## DEDICATORIAS

*A Dios Padre*, es por tu gracia que puedo lograr lo que anhela mi corazón.

*A mis padres*, este logro profesional, es también un logro personal en el que ustedes pusieron la primera semilla, la de la superación, sin su ejemplo nada sería posible. Los amo inmensamente.

*A mi esposo*, en este caminar, lo mejor fue contar con tu compañía, con tu comprensión y tu apoyo incondicional, el amor que te ayuda a superarte, es el amor verdadero. Te amo.

*A mi hija*, sé que sacrifiqué muchos momentos a tu lado, para concluir este trabajo; espero que un día entiendas que todo lo que hago es para y por ti. Eres mi razón de ser, el amor de mi vida.

# RESUMEN

La presente investigación tiene como objetivo cuantificar la capacidad antioxidante de cinco bebidas regionales, pozol de cacao, tascalate, pinol, atol agrio y pozol de cacao fermentado, para promover su consumo como opción de bebidas saludables que contribuye a fomentar la salud de la población de Chiapas. Se determinó frecuencia de consumo de bebidas gaseosas y bebidas de maíz en alumnos de la Facultad de Ciencias de la Nutrición y Alimentos de la UNICACH. Se elaboraron las bebidas con técnicas artesanales; se cuantificaron los antioxidantes mediante la técnica ABTS a 740 nm con etanol como medio de extracción, la difusión de resultados se realizó mediante la grabación de una cápsula informativa de radio. La frecuencia de consumo de bebidas en los jóvenes encuestados se ve marcada por el consumo de bebidas industrializadas, la bebida de maíz que consumen es el pozol de cacao, las bebidas de maíz con capacidad antioxidante alta (>70% de inhibición) son: pozol de cacao, pozol de cacao fermentado, atol agrio, pinol, con un porcentaje de inhibición del radical ABTS del 92 al 96.76%, la bebida que presentó una capacidad antioxidante media de un 56.54% fue el tascalate, el impacto de las emisiones de la capsula de radio fue de 400 personas, de acuerdo a la información proporcionada por radio Unicach. Las bebidas analizadas tienen capacidad antioxidante alta y media, son bebidas funcionales porque contienen compuestos bioactivos con propiedades antioxidantes, por ello es necesario mantener y/o rescatar su consumo entre la población.

Palabras clave: capacidad antioxidante, bebidas de maíz, alimento funcional.

## ABSTRACT

The objective of this study is to quantify the antioxidant capacity of five regional beverages, cacao pozol, tascalate, pinol, agrio atol and fermented cacao pozol, to promote their consumption as an option of healthy beverage that contributes to promote the health of the population of Chiapas. The frequency of consumption of soft drinks and corn drinks in the students of the Nutrition and Food Sciences faculty of Unicach was determined. The beverages were made with artisan techniques; the antioxidants were quantified by the ABTS technique at 740 nm with ethanol as an extraction medium, the dissemination of results was done by recording a radio information capsule. The frequency of the beverages consumption in the young people surveyed is marked by the industrialized beverages consumption, the drink of corn that they consume is the cacao pozol. The corn drinks with high antioxidant capacity (>70% inhibition) are: cacao pozol, fermented cacao pozol, agrio atol, and pinol, with a percentage of inhibition of the ABTS radical from 92 to 96.76%. The drink that presented an average antioxidant capacity of 56.54% was the tascalate. The impact about the emissions of the radio capsule was 400 people, according to the information provided by Unicach Radio. The analyzed beverages have high and medium antioxidant capacity, they are functional drinks because they have bioactive compounds with antioxidant properties, therefore it is necessary to maintain and/or rescue their consumption among the population.

Key words: antioxidant capacity, corn beverages, functional food.

# INTRODUCCION

El estado de Chiapas cuenta con una riqueza natural muy variada, misma que ha contribuido a su gastronomía, pues los platillos y bebidas que en esta entidad, se preparan están hechos a base de la diversidad de frutos, vegetales y fauna de la región.

Los alimentos simbolizan la cultura de una comunidad; proporcionan información sobre sus hábitos alimenticios, patrones de consumo, preferencias alimentarias, seguridad nutricional, salud, sistemas de ganadería, estrategias de mercado, Socio economía, etnicidad y tabúes religiosos. Empero, hoy día, los cambios en los hábitos alimenticios, el progreso de las economías, así como la, mundialización y homogenización de la alimentación han propiciado que muchos alimentos tradicionales se consuman cada vez menos (Quintero *y cols*, 2012).

Chiapas tiene dentro de su gastronomía una gran cantidad de bebidas con mucha riqueza cultural y nutricional, sin embargo, como lo refiere Quintero (2012), la globalización ha generado cambios de hábitos alimenticios y entre estos cambios encontramos que la población consume cada vez menos estas bebidas y se prefieran las bebidas embotelladas que incluso han llegado a formar parte de rituales tan importantes de los pueblos originarios sustituyendo las bebidas tradicionales.

Lo preocupante de este cambio de hábitos, es que el consumo de bebidas carbonatadas se ha asociado con un aumento de peso y obesidad; el *National Diet and Nutrition Survey en el año 2008* reveló que las gaseosas representan el 56% de la ingesta líquida de niños y adolescentes entre 4 y 18 años, seguida por la leche (18%) y el agua (9%). La relación entre el consumo de bebidas gaseosas azucaradas y la aparición de obesidad ha sido documentada tanto en niños y adolescentes como en adultos (González *y cols*, 2011).

Lira (2012), mencionó que la obesidad se ha asociado a padecimientos como: enfermedad cardiovascular, ciertos tipos de cáncer, diabetes y asma, sin embargo, los buenos hábitos alimenticios y la actividad física son imprescindibles para prevenir la obesidad.

Los padecimientos anteriormente citados tienen relación con el “estrés oxidativo”. Este ocurre a nivel celular y es consecuencia de la exposición a diversos factores como: la obesidad, la exposición a contaminantes, el medio ambiente, el estilo de vida y situaciones patológicas.

Recientemente se sabe que también el consumo de alimentos que contienen antioxidantes naturales pueden prevenir los efectos del estrés oxidativo, la longevidad parece aumentar en concordancia con los niveles de antioxidantes en la dieta y con una reducción calórica; lo que puede propiciar una menor degradación de las mitocondrias, del metabolismo celular y del consumo de oxígeno (Coronado, 2015).

Es preocupante observar como las bebidas carbonatadas han llegado a ocupar el lugar de las bebidas tradicionales en la población, Perla Petrich en el año 1985 mencionó en su libro, la alimentación mochó, que para los mochó “el pozol era el alimento que fortificaba la palabra y la voz”, era “la bebida para la calle y el campo” y los atoles eran para consumo en casa.

Pero en la actualidad, en el campo, en la casa e incluso en los rituales que se realizan en los pueblos originarios las bebidas carbonatadas han ido ocupando el lugar de las bebidas tradicionales. Si bien es cierto que estas bebidas aún se encuentran vigentes en el gusto y la memoria colectiva de la población por su importancia alimenticia y cultural, su consumo es cada vez menor.

Por esta razón, el motivo del presente estudio fue conocer la frecuencia de consumo de las bebidas de maíz en jóvenes estudiantes de la Facultad de Ciencias de la Nutrición y Alimentos y cuantificar la capacidad antioxidante de las bebidas de maíz (pozol de cacao, tascalate, pozol fermentado, atol agrio y pinol de cacao) las cuales se elaboraron con técnicas tradicionales para posteriormente realizar la cuantificación antioxidante mediante la técnica (Ácido 2,2'-azinobis (3- etilbenzotiazolín)-6- sulfónico) ABTS, con los resultados obtenidos se realizó una clasificación de las bebidas de maíz de acuerdo a la media del porcentaje de inhibición del radical ABTS, siendo de alta capacidad antioxidante el pozol de cacao, pozol fermentado, atol agrio y pinol, el tascalate es la única bebida analizada de capacidad antioxidante media, con respecto a los resultados de frecuencia de consumo, las bebidas de maíz que se consumen con una frecuencia de 1 a 2 veces por semana son el pozol de cacao y el tascalate, la bebida que no consumen es el atol agrio.

# JUSTIFICACIÓN

Ante los problemas de salud que aquejan a la sociedad, los consumidores están más conscientes de la relación alimento-salud y demandan alimentos menos procesados, con sabor agradable, naturales (sin conservantes, aditivos), frescos, saludables, seguros.

Por esta razón es importante tener conocimiento de la capacidad antioxidante de los alimentos que se consumen para que las familias tengan la libertad de elegir de forma consiente los alimentos que mayores propiedades les aporten y de esta forma prevenir la aparición de padecimientos relacionados con los malos hábitos alimenticios y estrés oxidativo que en la actualidad afectan a la población.

En la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) del año 2016 se observó un ligero aumento en la prevalencia de diabetes por diagnóstico médico previo con respecto a la ENSANUT 2012 (9.2%) es decir, 9.2% de los adultos en México han recibido ya un diagnóstico de diabetes. Con respecto a la hipertensión arterial (HTA) En México la prevalencia actual de hipertensión arterial es de 25.5%, y de éstos el 40.0% desconocía que padecía esta enfermedad. La proporción de adultos con diagnóstico previo de hipertensión arterial y cifras de tensión arterial controlada (<140/90 mmHg) es de 58.7%. En cuanto a sobrepeso y obesidad en México los datos que revela ENSANUT 2016 con respecto a la prevalencia combinada de sobrepeso y obesidad en la población adolescente fue de 36.3% (IC95% 32.6, 40.1), 1.4 puntos porcentuales superior a la prevalencia en 2012 (34.9 (IC95% 33.7, 36.2).

El cáncer es otro padecimiento asociado al estrés oxidativo, según datos de INEGI en 2012 del total de defunciones, 13% se debieron a algún tumor y de éstas, 93.5% por neoplasias malignas.

Los avances en el estudio de los radicales libres y su participación en el desarrollo de enfermedades, han permitido identificar sus mecanismos de acción; por lo anterior, se ha propuesto que la dieta rica en antioxidantes puede prevenir o disminuir el deterioro celular y funcional del organismo, generado por el Estrés Oxidativo, se han realizado múltiples estudios empleado terapias antioxidantes con resultados positivos (Sánchez y Méndez, 2013).

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Hoy en día, la sobrepoblación ha generado que las personas vivan en casas pequeñas sin lugar donde criar animales o cosechar vegetales, las amas de casa trabajan y lo usual es consumir lo que la publicidad oferta como la mejor opción (comida rápida, bebidas carbonatadas, galletas, frituras, etc.) que en este mundo tan globalizado llega hasta las zonas marginadas de las entidades federativas a precios muy bajos comparados con los de las zonas metropolitanas, lo que ha provocado que estos alimentos sustituyan a los alimentos tradicionales y que sean adoptados por las personas como parte de sus usos y costumbres.

Estos malos hábitos traen como consecuencia, enfermedades crónicas degenerativas, entre ellas; el cáncer, el síndrome metabólico. Los estilos de vida poco saludables, provocan que el cuerpo produzca gran cantidad de radicales libres, una alta concentración de radicales libres en el ser humano acarrea desórdenes metabólicos de alto impacto, se ha demostrado científicamente que la presencia de este tipo de estrés oxidativo es causa o consecuencia de más de 250 enfermedades.

Estos padecimientos en México se han acrecentado debido a una alimentación de baja calidad nutricional (McCullough y cols., 2002) y han sido vinculados al estrés oxidativo (Delgado y cols, 2010) que es causado por un desequilibrio entre la producción de especies reactivas del Oxígeno (ROS o ERO) y la incapacidad de un sistema biológico de desintoxicar rápidamente los reactivos intermedios o reparar el daño resultante (Fina, 2006).

La forma de evitar que el cuerpo produzca mayor número de radicales libres de las que puede contrarrestar es consumiendo alimentos ricos en antioxidantes naturales, por esta razón es importante que la población tenga conocimiento sobre la capacidad antioxidante de los alimentos, para que de esta manera los incorporen a su dieta, ya que no se ha realizado un análisis a todos los alimentos utilizados en la cocina del país y menos las preparaciones alimenticias del Estado.

El Estado de Chiapas, tiene una variada gastronomía, que incluye en sus platillos y bebidas ingredientes con alto valor nutritivo y funcional, por esta razón es de suma importancia analizar cada una de estas preparaciones desde sus propiedades nutricionales y funcionales como lo son los antioxidantes naturales.

# OBJETIVOS

## GENERAL

Cuantificar la capacidad antioxidante de cinco bebidas regionales, pozol de cacao, tascalate, pinol, atol agrio y pozol de cacao fermentado), para promover su consumo como opción de bebidas saludables que contribuye a fomentar la salud de la población de Chiapas.

## ESPECIFICOS

1. Determinar frecuencia de consumo de las bebidas de maíz consumidas en Chiapas, en estudiantes de la Facultad de Ciencias de la Nutrición y Alimentos de la UNICACH.
2. Elaborar las bebidas con técnicas artesanales
3. Cuantificar los antioxidantes presentes en el pozol de cacao, tascalate, pinol, atol agrio y pozol de cacao fermentado, mediante la técnica ABTS.
4. Elaborar capsulas de radio para difundir los resultados en radio UNICACH.

## MARCO TEÓRICO

Chiapas es un estado con una amplia variedad de pueblos indígenas (choles, chujes, jacaltecos, lacandones, mames, mochós, tojolabales, zoques, tzotziles y tzeltales) esto lo convierte en un estado con mucha riqueza cultural, que se ve reflejada en la diversidad de platillos y bebidas que forman parte importante de las tradiciones y costumbres del estado.

La base de la alimentación es el maíz, el frijol y el chile. Las formas más comunes del maíz son, en la vida diaria, elotes, tortillas, atoles, tamales, pinol y, desde luego, pozol.

### **LAS BEBIDAS REPRESENTATIVAS DE CHIAPAS**

Una bebida tradicional del campesino es el pozol blanco o de cacao, preparación obtenida a partir de una bola de masa que, envuelta en hojas de plátano, se puede aprovechar en el hogar, en las milpas o en los viajes, ya que sólo basta diluirla en agua.

El pinol, también de maíz, pero tostado, pulverizado y mezclado con panela o azúcar y según el gusto cacao, disuelto en agua sustituye en ocasiones al café o al atole (fresco o agrio, a veces endulzado con panela). Los "frescos" de guanábana, de chía y de limón, pozol de nambimba (una variedad de chile) o de cacao y al tascalate, bebida espumosa y fría en cuya preparación intervienen maíz tostado y molido, cacao, semillas también tostadas de paraste (cacao silvestre) y achiote disuelto en agua.

A las bebidas no alcohólicas habría que agregar el atolshuco o atol agrio, una bebida de maíz agrio, común en Tapachula y en Tonalá, característica de la temporada de cosecha y el pozol de "zapoyol" igualmente hecho de maíz, al que se agregan huesos de mamey chamuscados o quemados.

No puede pasarse por alto la "pitarrilla", que se hace de la corteza del árbol balché la cual, después de secarse al sol y fermentarse con miel de abeja y agua, está lista para consumirse. Esta bebida es de suma importancia ritual entre los lacandones.

Las bebidas de contenido alcohólico más populares son la chicha (de jugo de caña de azúcar fermentado), el aguardiente (de panela). Otra bebida tradicional es la mistela que se prepara con diferentes frutas de la región (duraznos, grosella, mangos, manzanas, nanches, etcétera);

éstas se ponen a fermentar con un poco de agua hervida y alcohol de caña, se espera durante un mes para que se curtan y luego se revuelven con una cuchara nueva; se tapan con papel de estraza y se dejan un año en fermentación. Tampoco hay que olvidar el "comiteco", que originalmente se obtenía de un agave y que en la actualidad está siendo sustituido por un aguardiente de caña que recibe el mismo nombre (Cadena y De la Cruz, 2012).

### **Pozol**

El pozol es una bebida refrescante hecha a base de maíz; existen variantes de acuerdo con los ingredientes que se agregan a la masa. “Los zoques lo toman en las siguientes presentaciones: pozol blanco, blanco reventado y de cacao” (López, 2011).

Esta es quizá la bebida más representativa de la cultura chiapaneca (lacandones, chamulas o tzotziles, tzeltales, choles, mames y zoques), la cual, además de ser refrescante, es energética y se elabora a base de la mezcla del maíz (*Zea mays*) molido, cacao (*Theobroma cacao* L.), canela (*Cinnamomum verum* J. Presl), un ligero toque de vainilla (*Vanilla planifolia*), y azúcar. Aunque también se consume en los estados vecinos del sureste, Tabasco (chontales y choles), Campeche, Yucatán, Quintana Roo (mayas) y Oaxaca (zapotecos), esta bebida es propia del estado de Chiapas (Cadena y De la Cruz, 2012).

En el medio rural los campesinos y sus familias toman el “pozol” durante sus largas jornadas de trabajo en el campo o en la selva entre las 11 y 12 del día, a veces es ingerido como alimento único durante uno o varios días, como una forma de recuperar energía y mitigar el hambre, costumbre adoptada también por los habitantes de áreas urbanas al medio día. Algunas de las variantes del “pozol de cacao” es el “pozol blanco”, el cual no lleva cacao, ni canela; simplemente es maíz molido con o sin azúcar, dependiendo del gusto del consumidor. Muchas personas suelen elaborar “pozol de maíz reventado” el cual, después de ser cocido con cal, se lava y se regresa a la cocción únicamente con agua, lo que le confiere cierta textura a la masa y, por consiguiente, un cambio en el sabor. Un rasgo peculiar de esta última es su acompañamiento con sal y chile (*Capsicum annuum* L.), si es del gusto del consumidor, con lo cual el sabor es fuerte al paladar; sin embargo, además de tener a cierto estrato de la población zoque entre sus principales adeptos, este tipo de “pozol” cuenta con la aceptación de la gente de los Altos de Chiapas, entre ellos los tzeltales y los tzotziles (Cadena y de la Cruz, 2012).

La palabra pozol deriva del náhuatl "pozolli", espumoso. No obstante, como el producto resulta de una fermentación sólida, fundamentalmente láctica, no hay producción de gas ni de alcohol etílico como en el caso de la fermentación líquida, por lo que el nombre se refiere concretamente a las bolas de masa fermentada y no a los efectos de la fermentación.

Como otros productos fermentados indígenas, el pozol tiene una gran importancia etnobiológica, pues desde la época precortesiana, se preparaba no sólo con fines alimentarios, sino también con el propósito de utilizarlo como medicamento, para trastornos intestinales, en particular la diarrea, o infecciones superficiales de la piel, a manera de cataplasma. También tenía importancia en actividades ceremoniales, pues los mayas lo utilizaban como ofrenda a los dioses, durante los ritos relacionados con la agricultura, en particular con el cultivo del maíz.

En la actualidad, el pozol se emplea ocasionalmente en prácticas rituales y con fines medicinales, pero su importancia principal es la preferencia que se le tiene como alimento básico de los grupos indígenas mencionados.

Por otra parte, ha sido reconocido el procedimiento que siguieron algunos de estos, en particular los mayas, de aplicar en ciertos casos fragmentos de pozol enmohecido, sobre las heridas, para evitar o combatir infecciones, lo cual se ha considerado una anticipación al uso de la penicilina, que se prescribió mucho tiempo después, con bases científicas.

Hay varias formas de preparar el pozol. En general, con granos de maíz hervido en agua con cal, para producir el nixtamal, el cual se muele para obtener una masa que se moldea en forma de bolas grandes o pequeñas, esféricas o alargadas, las cuales se envuelven, generalmente en hojas de plátano y se dejan fermentar durante varios días; o bien durante varias semanas, si se desea el pozol enmohecido, según sea el gusto de los grupos indígenas (Barros y Buenrostro, 2011).

### **Pooté (Pinol)**

El pinol se elabora con maíz dorado y molido junto con canela. La bebida es de consumo frecuente ya que puede ser tomado tanto frío como caliente; este último caso porque en diversas comunidades y ejidos sustituye el uso del café. El pinol es una bebida servida en la región central, especialmente en Tuxtla Gutiérrez, Copainalá y Jiquipilas. La cual forma parte de la Cultura Zoque.

### **Atole de Granillo**

El atole es una bebida tradicional de orígenes prehispánicos, es consumida en todo el territorio nacional, aunque el sabor difiere en los diversos estados o ciudades. El atole de granillo hecho en San Cristóbal de las Casas necesita maíz blanco, canela, cal, azúcar y agua. El maíz es hervido en agua con cal, tras lo cual es molido (la mitad queda gruesa y la otra mitad fina). Se vuelve a cocer y se le agregan el resto de los ingredientes. Debido al clima frío de San Cristóbal, muchas fondas y cocinas económicas preparan frecuentemente esta bebida que es acompañante idóneo para los tamales. Esta bebida es de consumo cotidiano en esta ciudad.

### **Atol Agrio**

En San Cristóbal de Las Casas, la cultura del maíz es una herencia de tiempos prehispánicos que prevalece como bebida, comida, pan y postre. La elaboración del atole es de forma casera y se consume con frecuencia; sin embargo, en la época invernal es cuando más se puede encontrar esta bebida en fondas de la ciudad. Para esta bebida se necesita maíz negro, azúcar, clavos de olor, canela al gusto y agua. Derivado del uso del maíz negro, esta bebida adquiere tonalidades naturales de lila a púrpura. En el resto del estado, el atole agrio se hace con maíz blanco (López, 2011).

### **Tascalate**

El popular y conocido tascalte, es una bebida rojiza y muy fresca elaborada de diversas maneras, entre ellas: con un molido de maíz, cacao, azúcar, canela y pintado con achiote, acompañado de cubos grandes de hielo para refrescar el cuerpo y la mente (Celis, 2014).

El tascalate es una herencia ancestral de los pueblos indígenas de Chiapas, de manera que no sólo es sabroso sino que además es una buena excusa para consumir chocolate sin remordimiento. Además de ser una bebida energética entre la población rural, en el mercado gourmet cada vez tiene más adeptos no chiapanecos. La bebida se elabora a partir de una mezcla de granos de maíz y cacao (*Theobroma cacao L.*), tostados y molidos, posteriormente coloreados con achiote (*Bixa orellana L.*), y aderezados con canela (*Cinnamomum verum J. Presl*) y azúcar (Cadena y De la Cruz, 2012).

## ANTECEDENTES

Las bebidas típicas del estado de Chiapas han sido poco estudiadas, la información que existe sobre ellas es básicamente una breve descripción de sus características organolépticas y de su forma de elaboración, no hay antecedente de la determinación de su capacidad antioxidante, la bebida de la que se han realizado más estudios es el pozol, pues se ha estudiado el proceso de fermentación que se lleva a cabo cuando esta bebida está en reposo en condiciones de temperatura ambiente, se ha profundizado en el estudio de los microorganismos responsables de esta fermentación, a continuación, se enlistan algunos estudios que se han realizado sobre el pozol.

### Microbiología del pozol

Los microorganismos que se desarrollan en el pozol han sido bastante estudiados. Predominan las bacterias lácticas y es notable la presencia de bacterias fijadoras de nitrógeno, en particular *Agrobacterium azotophilum*, capaz de enriquecer al pozol con compuestos nitrogenados, lo que favorece la síntesis de proteínas que mejoran la calidad nutritiva del producto fermentado, en relación con la masa de maíz no fermentada, lo que explica la preferencia por el pozol como alimento y la capacidad que éste tiene de satisfacer los requerimientos alimenticios de los grupos indígenas, en ocasiones como alimento único; pues como se indicó antes, este producto es rico en proteínas que contienen los aminoácidos esenciales; además es considerable la presencia de vitaminas del complejo B. También están presentes numerosas especies de levaduras de los géneros *Saccharomyces*, *Candida*, *Kluyveromyces*, *Hansenula* y *Trichosporon* (Jiménez y cols, 2010).

Cuando el pozol está enmohecido pueden estar presentes *Geotrichum candidum* y diversas especies de los géneros *Penicillium*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Cladosporium*, *Monilia*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Trichoderma*, *Phialophora* y *Fusarium* (Herrera, 2007).

En el futuro, estos resultados pueden ser utilizados para clasificar al pozol como una bebida funcional, debido a la presencia de bacterias lácticas en concentración similar a la encontrada en el yogur (Wacher, SA).

## **Propiedades nutrimentales**

En cuanto al contenido químico de este alimento fermentado, se sabe que hay un aumento en nitrógeno proteico total en algunos aminoácidos como la lisina y el triptofano, y en algunas vitaminas, como la niacina y la riboflavina. Además, por medio de aminogramas y bioensayos se determinó que la proteína del pozol era de mejor calidad que la del maíz (Wacher, SA).

## **Capacidad antioxidante**

Gutiérrez y colaboradores en 2007 analizaron Capacidad antioxidante total en alimentos convencionales y regionales de Chiapas, México; con el método ABTS, dentro de estos alimentos analizados está el pozol de cacao, para el pozol la extracción se realizó con acetona y con agua bidestilada, dentro de sus resultados el pozol en acetona tuvo 666 mm eq. de trolox, el pozol en agua 778 mm eq. de trolox, sin embargo el pozol no fue de los de capacidad antioxidante alta en comparación con la verdolaga y yerba buena.

## **EFFECTO DEL PROCESADO DE ALIMENTOS SOBRE LA CAPACIDAD**

### **ANTIOXIDANTE**

Las técnicas culinarias a las que son sometidos los alimentos, previo a su consumo, causan cambios en la retención de la capacidad antioxidante y en el contenido de fenoles que no son tomadas en cuenta al momento de elegir la técnica culinaria.

El uso de técnicas inadecuadas en el procesado de los alimentos, puede provocar una disminución en su contenido de vitaminas y antioxidantes. Las vitaminas son en general muy sensibles a los tratamientos tecnológicos y culinarios de los alimentos, por lo que son generalmente lábiles, aunque ello depende de las condiciones y del tipo de vitamina. Generalmente, las vitaminas hidrosolubles son bastante sensibles, más que las vitaminas liposolubles. De todas las vitaminas, la más inestable es la vitamina C, ya que se pierde en gran cantidad en los lixiviados (aguas de lavado, de cocción, etc.) y su principal vía degradativa es la oxidación, que puede llevarse a cabo por dos vías, enzimática y no enzimática. La vitamina E es estable frente a tratamientos térmicos, pero sensible al oxígeno y a la luz. Los minerales son

resistentes a tratamientos tecnológicos y culinarios. No les afecta la luz y el calor, pero se pueden perder en los lixiviados, en las aguas de cocción, retenidos en la fibra que no se absorbe, etc.

Los compuestos fenólicos son sustancias muy inestables a tratamientos térmicos. Sufren fácilmente oxidación enzimática por acción de enzimas polifenoloxidasas (PFO), y dan colores pardos en un proceso denominado pardeamiento enzimático. Los polifenoles también pueden formar quelatos con metales y dar lugar a coloraciones extrañas y cambiar el color en función del pH, por ejemplo durante la maduración de frutas. La presencia de ácido ascórbico acelera la degradación de las antocianinas en la fresa. El pH tiene efecto en la estructura y la estabilidad de las antocianinas (Chordi y Soliva, 20013).

Ramírez en 2013 en Granada España, realizó un estudio sobre la influencia de las técnicas culinarias sobre el contenido de polifenoles, y capacidad antioxidante en hortalizas de la dieta mediterránea, llegando a la conclusión de que las técnicas culinarias en la que se emplea aceite de oliva se incrementa la Capacidad Antioxidante de la patata, sea como medio de transferencia de calor (fritura y rehogado) o como ingrediente culinario en el agua de cocción.

Siendo la fritura y el rehogado los que menos cambios producen en la capacidad antioxidante pues el alimento es sometido menos tiempo al calor comparado con la cocción, de la cual el líquido de cocción debería ser consumido por la migración de los antioxidantes del alimento al líquido de cocción.

Las técnicas culinarias generaron efectos de incremento, reducción ( $p < 0,05$ ) y protección ( $p > 0,05$ ) del contenido de fenoles totales e individuales y de la capacidad antioxidante. La clasificación de acuerdo a la frecuencia de incrementos es la siguiente: fritura (80.8%), rehogado (58,9%), cocción agua/aceite de oliva (38.4%), la cocción (23.3%).

## **NIXTAMALIZACIÓN Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL MAÍZ**

Durante el procesamiento por Nixtamalización (NT), el maíz es sometido a condiciones de alto contenido humedad, calor (80 a 105 °C) y un pH elevado (11 a 12). La NT reduce significativamente el contenido de antocianinas en los maíces pigmentados, pérdida que se debe a que gran cantidad de estos compuestos se solubilizan en el agua de cocción con pH elevado y temperatura extrema, lo que degrada a los compuestos. Además, otras estructuras

químicas derivadas de los polifenoles son afectadas por el rompimiento de enlaces éster, y como consecuencia se liberan los fenoles a la solución de cocimiento. La mayor parte de estos compuestos se encuentran en el pericarpio del grano, y son eliminados durante el lavado del nixtamal (Escalante y cols, 2013).

Salinas-Moreno et al., (2003) evaluaron el efecto de la nixtamalización sobre las antocianinas en granos de variedades de maíz de colores rojo y azul producidos en ciertas regiones de México. Este estudio fue uno de los primeros que evaluó los cambios en el contenido y perfil de estos compuestos. Los autores reportaron que los maíces con pigmentos en el pericarpio presentaron mayores pérdidas (73 y 100 %), en contraste con los granos con pigmentos ubicados en la capa de aleurona que perdieron entre 19.5 y 50.2 %, posiblemente por el efecto de protección del pericarpio a la capa de aleurona la cual mostró escaso daño. Además, los autores registraron un incremento en el contenido de cianidina 3-glucósido en harinas nixtamalizadas de maíz azul, y un cambio en el perfil de antocianinas de maíces de ambos colores, por una degradación de compuestos acilados que da lugar a la formación de nuevas estructuras químicas como antocianinas simples

Mendoza-Díaz et al. (2012) evaluaron contenido de antocianinas, capacidad antioxidante y antimutagénica en tortillas elaboradas mediante la NT, en granos de maíces pigmentados criollos de varios colores (blanco, amarillo, rojo y azul). Estos autores encontraron resultados similares a los descritos anteriormente respecto a la pérdida de antocianinas durante el procesamiento del grano a masa (83 %) y tortilla (64 %); sin embargo, después de la nixtamalización los maíces azules y rojos superaron a las demás variedades en contenido de antocianinas.

### **RELACIÓN DE BEBIDAS ALTAMENTE AZUCARADAS CON LA OBESIDAD Y ENFERMEDADES CRÓNICO DEGENERATIVAS.**

La consecuencia del azúcar adicionado a bebidas sigue siendo motivo de estudio y publicación en las revistas científicas. Diversos estudios realizados han demostrado la relación entre el consumo de bebidas azucaradas y el sobrepeso y obesidad. México y la Unión Americana, son países que presentan los más altos índices de obesidad en niños y adultos, asociado también a un elevado consumo de bebidas carbonatadas.

Desde hace algunos años se ha observado que los países con mayor consumo anual por persona (litros) son Estados Unidos de Norteamérica (EUA) (200), México (150), Canadá (110) y Argentina (70) (Rodríguez y cols, 2014).

Se ha especulado que los refrescos embotellados promueven la obesidad porque el consumo de energía obtenida desplaza la energía que proviene de los alimentos sólidos de la dieta; asimismo, que el consumo excesivo de estas bebidas (más de 12 onzas/día) se asocia a desplazamiento de la leche, al incremento en el consumo de energía y a la ganancia de peso en niños de 2 a 18 años de edad. En niños euro-americanos y afroamericanos se ha observado que el consumo de los refrescos se asocia a sobrepeso y cada ración adicional (360 mL) incrementa en 60% el riesgo de obesidad (Gutiérrez, 2009).

Maupome y cols en el año 2001 mostraron que, en la Ciudad de México, 82.5% de sujetos mayores de 10 años tomaban en promedio 1.7 (612 mL) refrescos al día (488 refrescos por persona al año). En general, se ha observado que en el país, entre la población de todas las edades y clases sociales, ha habido un consumo descontrolado de refrescos, y por lo regular de bebidas con alto valor energético; en lugar de beber agua natural, los mexicanos hemos optado por las bebidas azucaradas.

En México, las bebidas azucaradas son responsables de más de 24 000 muertes cada año. Entre hombres y mujeres menores de 45 años, las bebidas azucaradas causan 22 y 33%, respectivamente, de todas las muertes relacionadas con diabetes, enfermedad cardiovascular y obesidad en el país. A nivel mundial, 184 000 muertes al año son atribuibles al consumo de bebidas azucaradas, lo que representa 1.2% de todas las muertes relacionadas con la diabetes, enfermedad cardiovascular y obesidad.

Latinoamericana y el Caribe son las regiones con mayor consumo de bebidas azucaradas en el mundo. México es uno de los países con mayor consumo de bebidas azucaradas, con 163 litros de refrescos per cápita al año. La evidencia científica ha demostrado que la ingesta de estas bebidas conlleva a dos problemas: obesidad y diabetes (INSP, 2014).

## **DAÑO CELULAR A CAUSA DE SOBREPDUCCIÓN DE MOLÉCULAS DE OXÍGENO.**

El oxígeno molecular ( $O_2$ ) es uno de los gases más importantes de la Tierra, constituye el 21% de la atmósfera, 89% del peso del agua de mar y al menos 47% de la corteza terrestre. Por lo mismo, la mayor parte de los seres vivos utilizan el oxígeno para respirar y obtener energía. Sin embargo, a partir de esta molécula se forman moléculas más reactivas conocidas como especies reactivas de oxígeno (EROs).

Las EROs regulan varios procesos celulares, en el caso de mamíferos son la secreción y acción de la insulina, la producción de hormonas de crecimiento, citocinas (comunicación entre células), la unión de las proteínas G a sus receptores, factores de transcripción, regulación de los transportadores y canales de iones, por citar algunos. Sin embargo, las EROs también resultan nocivas para los organismos cuando se producen en grandes cantidades dañando los constituyentes celulares e induciendo la muerte celular. Así, el estrés oxidativo generado por la sobreproducción de EROs está asociado al envejecimiento y patologías como la obesidad y la diabetes tipo 2, entre otras (Macedo, 2012).

Entre las ERO se encuentran los radicales libres (RL) que son, cualquier especie molecular con uno o más electrones desapareados, y moléculas derivadas del oxígeno que posean alta capacidad reactiva.

Se conocen las siguientes (EROS) (Mayor, 2010):

$O_2$  Anión súper óxido.

- $H_2O_2$  Peróxido de Hidrógeno.
- HO radical hidróxido.
- $1 O_2$  Oxígeno singulete

## **RADICALES LIBRES**

Un radical libre es aquella figura química que tiene en su estructura uno o más electrones no apareados. Es altamente reactiva y clave para formar otros radicales libres en cadena, además por la vida media que es de microsegundos, ocurre una rápida propagación con moléculas aledañas y mayor daño potencial. De hecho, un radical libre puede afectar 1 millón de

moléculas durante la reacción en cadena. Los compuestos en cuestión forman parte de las llamados especies reactivas del oxígeno (ERO) o ROS (Reactive Oxygen Species).

Los radicales libres se liberan durante el metabolismo humano, y también se producen por contaminantes ambientales, (atmosféricos, acuáticos, de suelos), radiaciones (ultravioleta, gamma, hertziana), entre otros. Se pueden relacionar con el consumo o uso de tóxicos como el alcohol, tabaco y drogas o debido a una alimentación no adecuada, exposición a fertilizantes, o pesticidas. Se incluye además el metabolismo de algunos químicos y elevado estrés físico o psíquico (Coronado, 2015).

## **ESTRÉS OXIDATIVO**

El estrés oxidativo (EOx) se define como el desequilibrio bioquímico propiciado por la producción excesiva de especies reactivas de oxígeno (EROS) y radicales libres (RL), que provocan daño oxidativo a las macromoléculas y que no puede ser contrarrestado por los sistemas antioxidantes de defensa. Este daño se relaciona con el envejecimiento y con más de 100 padecimientos. El daño celular que producen las ER y los RL, ocurre en los enlaces de proteínas, los fosfolípidos poliinsaturados de las membranas celulares, hidratos de carbono y ácidos nucleicos, lo que provoca gran variedad de cambios bioquímicos y fisiológicos en la célula, ocasionados por la activación de una reacción en cadena. Esto induce a que se presenten diversas enfermedades, como diabetes, aterosclerosis, procesos inflamatorios, enfermedad de Alzheimer, Parkinson, cataratas, depresión, diversos tipos de cáncer, entre otros (Mayor, 2010).

La alta incidencia de los procesos tumorales y su elevada mortalidad, los hace dignos de cuantiosas investigaciones. A pesar de los múltiples mecanismos antioxidantes, la lesión celular originada por las especies reactivas es ubicua, y aquellas lesiones oxidantes que no causan muerte celular pueden estimular el desarrollo del cáncer. En cuanto al nivel celular, una lesión oxidante dispara un amplio espectro de reacciones que abarcan desde respuestas proliferativas hasta inductoras de muerte celular. En la actualidad, diversos estudios experimentales han tratado de dilucidar el mecanismo de acción implicado en la transformación maligna de la célula inducida por los radicales libres. Algunos estados deficientes en sistemas antioxidantes cursan con alteraciones neoplásicas importantes. Así, en el síndrome de Bloom, la anemia de

Fanconi o la Ataxia-Telangiectasia, consideradas como enfermedades con una alta incidencia tumoral, se observan alteraciones de los mecanismos de defensa antioxidante en sangre y tejidos de las personas afectadas. Por el contrario, distintos estudios epidemiológicos señalan una menor incidencia tumoral en las poblaciones que consumen alimentos ricos en antioxidantes. El estrés oxidante y el proceso tumoral se encuentran estrechamente relacionados a través de la oxidación del material genético.

La diabetes mellitus es una enfermedad metabólica de origen endocrino, cuya principal característica bioquímica es la hiperglucemia crónica asociada a fallos en la acción o producción de la insulina, con alteraciones del metabolismo intermedio de lípidos y proteínas. En la década de los ochenta se empezó estudiar el posible papel de los radicales libres en la fisiopatología de la diabetes, y se correlacionó el estrés oxidante con la hiperglucemia. Diversos estudios muestran que el equilibrio entre oxidantes y antioxidantes se ve alterado en los sujetos diabéticos, ya que se observa una disminución en la actividad de los antioxidantes y, por ende, el aumento de especies reactivas. Los radicales libres presentes en los sujetos diabéticos se asocian con la hiperglucemia crónica que caracteriza a esta enfermedad, pues ante un exceso de glucosa circulante se activan varias vías metabólicas no muy usuales en el organismo, lo que conduce a la generación de metabolitos, entre los cuales se encuentran radicales libres del oxígeno (García, 2012).

Las enfermedades cardiovasculares representan la primera causa de mortalidad en todo el mundo. La insuficiencia cardíaca es uno de los principales trastornos de este tipo y el estrés oxidativo juega un papel muy importante en esta patología, tanto en los estudios realizados con muestras de cardiomiocitos como en los de sangre periférica, ya que la circulación sistémica es una buena indicadora de la situación general del organismo; muestran mayor daño oxidativo que en sus correspondientes controles. Además, la cardiopatía isquémica y el infarto agudo del miocardio son las manifestaciones de un proceso que comienza con un exceso de radicales libres, que conllevan la disfunción endotelial que caracteriza a dichas patologías.

Uno de los órganos más vulnerables al estrés oxidativo es el cerebro. Esto es así pues presenta una tasa metabólica alta, con un gran porcentaje (20%) de O<sub>2</sub> utilizado del total inspirado, junto con un alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) muy sensibles a la oxidación, una alta concentración de hierro y ascorbato cruciales para la oxidación de las

membranas, y al mismo tiempo defensas antioxidantes muy bajas, principalmente de catalasa, y éstas aún decaen más durante el envejecimiento. El daño ocasionado por las especies reactivas daña a membranas y proteínas, dando lugar a agregados que son característicos de las enfermedades neurodegenerativas, lo cual relaciona al daño oxidativo con las enfermedades neurodegenerativas, no estando claro si contribuye iniciando el proceso o si se trata de una consecuencia del mismo. Como referencia a la importancia del estrés oxidativo en este campo de investigación, las publicaciones más leídas y citadas en el campo de la neurociencia se relacionan íntimamente con el estrés oxidativo (García, 2012).

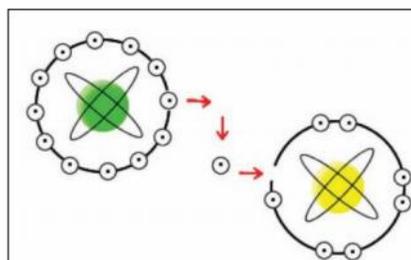
## MECANISMOS DE DEFENSA

Las ERO se generan en muchas células bajo condiciones fisiológicas y el organismo utiliza mecanismos potentes de defensa para evitar la acumulación de las ERO, tanto a nivel fisiológico como bioquímico.

### Antioxidantes

Un antioxidante puede definirse como “cualquier sustancia que en concentraciones bajas en comparación con la sustancia oxidada retrasa o inhibe significativamente la oxidación de esta sustancia”. La oxidación es una reacción química de transferencia de electrones de una sustancia a un agente oxidante.

El antioxidante al reaccionar con el radical libre le cede un electrón oxidándose a su vez y transformándose en un radical libre débil, con escasos o nulos efectos tóxicos y que en algunos casos como la vitamina E, pueden regenerarse a su forma primitiva por la acción de otros antioxidantes, en la figura 1, se ilustra la acción de los antioxidantes (Amaya y Portillo, 2013).



**Figura 1. Acción antioxidante para neutralizar al radical libre (Amaya y Portillo, 2013).**

No todos los antioxidantes actúan de esta manera, los llamados enzimáticos catalizan o aceleran reacciones químicas que utilizan sustratos que reaccionan con los RL. De lo dicho anteriormente se deduce que los antioxidantes pueden ser enzimáticos o no. Estos se clasifican en endógenos (se encuentran en el organismos y son sintetizados por sus células) y exógenos (ingresan a través de la dieta). En la tabla 1 se clasifican los antioxidantes de acuerdo a su origen.

**Tabla 1. Clasificación de los antioxidantes**

<b>Antioxidantes exógenos</b>	<b>Antioxidantes endógenos</b>
Vitamina E	Glutación. Coenzima Q
Vitamina C	Acido tiótico
Betacaroteno	Enzimáticos. cofactor
Flavonoides	Superoxidodismutasa Cobre, manganeso, zinc, catalasa, hierro
Licopeno	Glutación peroxidasa y selenio

Fuente: Mayor 2010

Un antioxidante dietético es una sustancia que forma parte de los alimentos de consumo cotidiano y que puede prevenir los efectos adversos de especies reactivas sobre las funciones fisiológicas normales de los humanos (Coronado, 2015).

Los alimentos que tienen un mayor contenido de antioxidantes son las frutas y hortalizas que poseen distintos compuestos bioactivos, entre los que destacan los antioxidantes, compuestos de distintas naturalezas químicas, que incluyen a las vitaminas C y E, polifenoles, carotenoides y terpenoides, entre otros (Shilpi y cols, 2006).

### **Antioxidantes primarios**

Los llamados antioxidantes primarios previenen la formación de nuevas ERO, esto se consigue convirtiendo las ERO en moléculas menos perjudiciales, antes de que puedan reaccionar, o evitando su producción a partir de otras moléculas.

En este grupo se destacan las siguientes enzimas:

Las Superóxido dismutasas (SOD) son un grupo de metaloenzimas que pueden dividirse en dos familias filogenéticas diferentes CuZn-SOD y Fe/Mn-SOD y catalizan la conversión de  $O_2^{\bullet-}$  a  $H_2O_2$  y  $O_2$ . En los organismos eucariotas existen cuatro tipos diferentes de SOD, donde:

- $<zCu/ZnSOD$ : Superóxido dismutasa dependiente de cobre y cinc (primera línea de defensa antioxidante).
- Fe/MnSOD: Superóxido dismutasa dependiente de hierro y Manganeseo
- EC-SOD: Superóxido dismutasa extracelular (participa en el control primario de la inactivación del NO).
- NiSOD: Superóxido dismutasa dependiente de níquel (presente en microorganismos).
- Las Glutación peroxidasas (GPx), son dos enzimas selenio dependientes puesto que este las mantiene activas. Para que ejerzan su acción detoxificante por la reducción del  $H_2O_2$  o los ROOH.

La glutatión peroxidasa (GPx) está ampliamente distribuida en los tejidos humanos y animales. Su forma reducida glutatióna (GSH) dona electrones y se encuentra a concentraciones intracelulares a menudo en el rango milimolar. Las GPx son consideradas enzimas con la mayor capacidad de remover peróxidos encontrados en el tejido humano.

- La catalasa participa en el metabolismo del  $H_2O_2$ , está presente en la mayoría de los órganos del cuerpo. Aunque su afinidad por el  $H_2O_2$  es inferior a la que muestra la GPx, bajo condiciones de sobreproducción puede asumir el papel preponderante en la eliminación del  $H_2O_2$ , ésta cataliza la reducción de  $H_2O_2$  a  $O_2$  y  $H_2O$ . A altas concentraciones de  $H_2O_2$ , la catalasa tiene la capacidad de reducirlo, puesto que la catalasa requiere dos moléculas de  $H_2O_2$  para llevar a cabo su reducción; por el contrario, a bajas concentraciones de  $H_2O_2$  decrece su eficiencia (Cemeli y cols, 2009).

### **Antioxidantes secundarios**

Los antioxidantes secundarios capturan los radicales y evitan las reacciones en cadena. Ejemplos de ellos son la vitamina E y C,  $\beta$ -caroteno y sustancias endógenas con capacidad antioxidante, entre las cuales se encuentran glutatión urato, bilirrubina y ubiquinona. La vitamina C, presenta muchas actividades biológicas en el cuerpo humano; se ha encontrado

que esta puede reducir los niveles de proteína C-reactiva, un marcador de la inflamación y posiblemente un anunciador de enfermedades del corazón (Podsdek, 2007).

La vitamina E pertenece a los antioxidantes liposolubles, su actividad biológica incluye tocoferoles, tocotrienoles, especialmente  $\alpha$ -tocoferol. La reacción predominante responsable de la actividad antioxidante del tocoferol es la donación de átomos de hidrógeno, donde se forma el radical tocoperóxido.

El urato está presente en el plasma en el rango de 180-420  $\mu$ M. Es capaz de quelatar el hierro (Fe) y el cobre (Cu); además, reacciona con HClO, atenuando la oxidación de lípidos, lipoproteínas y ácidos grasos polinsaturados inducida por ozono y eliminando directamente los radicales peróxido, alcoxilo e hidroxilo (Assad y cols, 2001).

La bilirrubina está presente en el plasma en concentraciones menores de 20 $\mu$ M. Es capaz de eliminar el oxígeno singlete y radicales peróxido. La bilirrubina unida a la albúmina plasmática contribuye significativamente a las defensas antioxidantes no enzimáticas presentes en el plasma.

Ubiquinonas (coenzima Q)

Las ubiquinonas son derivados de las quinonas que contienen una cola de isopreno. La forma reducida de las ubiquinonas, los ubiquinol, son liposolubles y actúan como antioxidantes eficientes y tienen mayor capacidad antioxidante que las ubiquinonas (Bentiger y cols, 2007).

### **Antioxidantes exógenos**

Se han ido descubriendo un gran número de sustancias y de especies vegetales con acción antioxidante celular. Éstos contienen un grupo muy complejo de pigmentos llamados flavonoides y antocianinas, con acciones antioxidantes importantes en combinación con las vitaminas.

**Antioxidantes alimentarios** La presencia natural de antioxidantes en los alimentos cumple, primariamente, la función de prevenir y/o retardar el daño oxidativo que afecta a los lípidos y, en menor grado, a las proteínas. Estos últimos comprenden, en términos generales, a aquellos compuestos que están presentes, o bien, pueden ser obtenidos a partir de tejidos, ya sea vegetales (principal fuente) o animales, y que contribuyen a inhibir el inicio, y/o retardar la velocidad de degradación oxidativa de los alimentos.

**El ácido ascórbico** (vitamina C, hidrosoluble) la vitamina C, presenta muchas actividades biológicas en el cuerpo humano; se ha encontrado que esta puede reducir los niveles de proteína C-reactiva, un marcador de la inflamación y posiblemente un anunciador de enfermedades del corazón (Podsdek, 2007).

**La vitamina E** pertenece a los antioxidantes liposolubles, su actividad biológica incluye tocoferoles, tocotrienoles (cada uno bajo la forma de isómeros  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ , todos liposolubles) especialmente  $\alpha$ -tocoferol, aunque entre los tocoferoles el  $\alpha$ -tocoferol (5, 7, 8-trimetil, vitamina E) es el más abundante, su capacidad antioxidante en aceites comestibles es generalmente menor a la exhibida por el resto de los isómeros. La reacción predominante responsable de la actividad antioxidante del tocoferol es la donación de átomos de hidrógeno, donde se forma el radical tocoperóxido (Assad, y cols 2001).

**Los carotenoides**, se han descrito alrededor de 600 compuestos en verduras y frutas, destacando el  $\beta$ -caroteno, el licopeno y la luteína. Cabe mencionar que sólo las vitaminas C, E, y el  $\beta$ -caroteno (pro-vitamina A) representan compuestos esenciales desde un punto de vista nutricional; es decir, compuestos cuya ingesta es esencial y que, de ser inadecuada, provoca cuadros de carencias específicas y conlleva trastornos a la salud (Flores y cols, 2010).

**Compuestos fenólicos:** Los compuestos polifenólicos son metabolitos secundarios de las plantas que poseen en su estructura al menos un anillo aromático al que está unido uno o más grupos hidroxilo. Los compuestos fenólicos, se clasifican como ácidos fenólicos (AF), flavonoides (FLA) y taninos (TAN). Existen alrededor de 8.000 compuestos fenólicos identificados. Entre sus propiedades están la protección contra lesiones celulares y subcelulares, inhibición del crecimiento de tumores, activación de los sistemas de detoxificación hepáticos y bloqueo de las vías metabólicas que pueden ocasionar carcinogénesis (Mercado y cols, 2013).

Los polifenoles se clasifican de acuerdo al número de anillos y a los elementos estructurales que se unen a él, en la tabla 2 se presentan los principales grupos fenólicos.

**Tabla 2. Clasificación de compuestos fenólicos**

<b>Fenoles Simples</b>	<b>Polifenoles</b>		
<b>Ácidos fenólicos</b> Acido benzoico Acido cinámico	<b>Flavonoides</b> -Antoxantinas Flavona Flavonol Flavanol Isoflavona -Antocianinas	<b>Taninos</b> Hidrolizables No hidrolizables	<b>Estilbenos y Lignanos</b>

Fuente: Escamilla y cols, 2009.

**Flavonoides:** Flavo proviene del latín flavus y significa de color entre amarillo y rojo, y flavonoide, se refiere a un grupo aromático, pigmentos heterocíclicos que contienen oxígeno ampliamente distribuido entre las plantas, constituyendo la mayoría de los colores amarillo, rojo y azul de las plantas y frutas.

Tienen propiedades antiinflamatorias, antimicrobianas, antitrombóticas, antialérgicas, antitumorales, anticancerígenas y antioxidantes. De esta última, principalmente, radica su función en el sistema nervioso, pues se ha visto relación de protección en enfermedades neurodegenerativas (Escamilla y cols, 2009).

**Ácidos fenólicos:** Los ácidos fenólicos constituyen aproximadamente un tercio de los fenoles dietéticos, que pueden estar presentes en las plantas en formas libres y ligadas. Los ácidos fenólicos se pueden clasificar en dos subgrupos:

- Ácidos hidroxibenzoico: incluyen los ácidos: gálico, p- hidroxibenzoico, vanílico entre otros. El ácido gálico es el hidroxibenzoato más importante y se sintetiza a partir de fenilalanina. El té negro y vino tinto proporciona ricas fuentes alimentarias de ácido gálico.

- Ácidos Hidroxicinámicos: son compuestos aromáticos con una cadena lateral de tres carbonos, cafeico, p-cumárico, y los ácidos sinápico son los representantes más comunes (Escamilla y cols 2009).

**Taninos:** Los taninos son compuestos de alto peso molecular, que constituyen el tercer grupo más importante de compuestos fenólicos. Ellos pueden subdividirse en hidrolizables y taninos condensados.

- Taninos hidrolizables contienen un núcleo central de alcohol polihídrico tal como la glucosa y los grupos hidroxilo, que están esterificados, ya sea parcial o totalmente por el ácido gálico (galotaninos) o ácido hexahidroxidifenico (elagitaninos).

- Los taninos condensados: son estructuralmente más complejos que los taninos hidrolizables. Son principalmente los productos polimerizados de flavan-3-oles y flavan-3,4-dioles o una mezcla de los dos. Los Taninos condensados están ampliamente distribuidos en frutas, vegetales, forraje, plantas, cacao, vino tinto y ciertos granos alimenticios como el sorgo, leguminosas entre otras.

### **Estilbenos y Lignaninos**

- Estilbenos: Se sabe que son fitoalexinas, una clase de compuestos antibióticos producida como una parte del sistema de defensa en las plantas contra la enfermedad. Pequeñas cantidades de estilbenos están presentes en la dieta humana, y el principal representante es el resveratrol, que existe tanto en las formas cis y trans, sobre todo en formas glicosiladas. Las uvas, cacahuetes y sus productos se consideran las fuentes dietéticas más importantes de resveratrol.

Lignaninos: Son producidos por dimerización oxidativa de dos unidades de fenilpropano. El interés en lignaninos y sus derivados sintéticos están creciendo debido a las posibles aplicaciones en la quimioterapia del cáncer y muchos otros efectos farmacológicos (Amaya y Portillo 2013).

En la Tabla 3 se enlistan aquellos alimentos que constituyen las principales fuentes de antioxidantes.

**Tabla 3. Antioxidantes y sus fuentes principales de obtención**

Antioxidantes	Fuentes principales de obtención
<b>Ácido ascórbico (vitamina C)</b>	<p>Frutas: Naranjas, limón, melón, uva, kiwi, mandarina, toronja, papaya, mango, fresa</p> <p>Hortalizas: Bruselas, espárragos, espinaca, brócoli, repollo, pimiento, tomate, coliflor, chícharos, papas</p>
<b>αTocoferol (Vitamina E)</b>	<p>Aceites: Soya, oliva, maíz, canola, girasol Semillas Nuez, cacahuete, germen de trigo</p> <p>Hortalizas: Camote y otras de hoja verde</p> <p>Carnes: Rojas, blancas, grasa de animal</p>
<b>Carotenos (α y β-caroteno, licopeno y luteína)</b>	<p>Frutas: Naranjas, durazno, tangerina</p> <p>Hortalizas: Zanahoria, tomate, melón, maíz, brócoli, espinaca, acelga, chícharo</p>
<b>Taninos</b>	<p>Frutas: Arándano, cacao, uvas</p> <p>Cereales: Sorgo</p> <p>Vinos: Blanco y rojo</p>
<b>Flavonoides</b>	<p>uvas, manzanas, cebollas, cerezas, repollos; además de ser parte del árbol ginkgo biloba y la Camellia sinensis (té verde).</p>
<b>Estilbenos y ligninas (resveratrol)</b>	<p>Uvas y cacahuates</p>

Fuente: Speisky y cols 2006/Porras y López, 2009.

## **INGREDIENTES DE LAS BEBIDAS DE MAÍZ CON ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE**

Las bebidas objeto de este estudio, tienen en común que los ingredientes principales para su elaboración son el maíz y el cacao, a excepción del atol agrio que es la única bebida en la que no se utiliza el cacao. Diversas investigaciones se han realizado con estos ingredientes tan peculiares e importantes en la alimentación de un mexicano, en ellas también se ha analizado la capacidad antioxidante que estos ingredientes presentan.

### **Maíz**

El maíz, en específico, contiene fibra dietética, esteroides, antioxidantes y adicionalmente, en los pigmentados amarillos, altas concentraciones de carotenos, y en los rojos, azules y morados, antocianinas (Navarro, 2015).

### **Chocolate**

Los flavonoides del chocolate tienen una significativa actividad antioxidante, pudiendo proteger los tejidos del estrés oxidativo. Los estudios de intervención realizados en humanos tras el consumo de chocolate muestran una disminución de la oxidabilidad de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) séricas y un aumento de la capacidad antioxidante del plasma. Igualmente, el consumo de chocolate rico en procianidinas conlleva una disminución de los productos de oxidación plasmáticos y un aumento de la capacidad antioxidante del plasma (Gómez, 2011).

### **Achiote**

Se encontró que el extracto de Achiote tiene carotenoides con actividad antioxidante; por ejemplo, se ha evaluado los efectos de la norbixina sobre la lesión de las células de *Escherichia coli* DNA-inducido por radiación ultravioleta, peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) y aniones superóxidos, y se encontró que la norbixina protege a las células contra estos agentes, incrementando su sobrevivencia en por lo menos 10 veces. También se ha encontrado que tiene propiedades antimutagénicas con un máximo de inhibición de la actividad mutagénica H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-inducida de 87%, según la prueba de mutagenicidad en salmonella (Júnior A. y col., 2005). Por otro lado, el extracto metanólico de las hojas de *Bixa orellana* L mostró un IC<sub>50</sub>=22,36 µg/mL en la prueba de DPPH, es decir mostró una actividad atrapadora de radicales libres (Shilpi y cols, 2006).

## **Panela**

La panela se caracteriza por su alta concentración de azúcares, contenido de minerales y trazas de vitaminas, sin embargo, la altura sobre el nivel del mar del sitio donde se cultiva la caña con que se elabora la panela puede tener efecto sobre la calidad del producto. Además, contiene un alto contenido de polifenoles, con propiedades antioxidantes potencialmente importantes. En diversos estudios se ha evaluado el contenido de polifenoles y la actividad antioxidante del jugo de caña, *in vitro* e *in vivo*, en modelos celulares y animales. Así se encontró que protege eficientemente el ADN y aumenta la supervivencia de cultivos celulares sometidos a radiación (Colina y cols, 2012).

## **TÉCNICAS PARA DETERMINAR CAPACIDAD ANTIOXIDANTE**

Existen diversos métodos para evaluar la actividad antioxidante, ya sea *in vitro* o *in vivo*. Una de las estrategias más aplicadas en las medidas *in vitro* de la capacidad antioxidante total de un compuesto, mezcla o alimento, consiste en determinar la actividad del antioxidante frente a sustancias cromógenas de naturaleza radical; la pérdida de color ocurre de forma proporcional con la concentración. No obstante, las determinaciones de la capacidad antioxidante realizadas *in vitro* nos dan tan sólo una idea aproximada de lo que ocurre en situaciones complejas *in vivo*.

Los requisitos necesarios para que un antioxidante sea realmente efectivo incluyen algunos rasgos estructurales:

- Existencia de donadores de electrones y su interacción con radicales libre
- Los donadores de electrones deben poseer potenciales de reducción apropiados en relación a aquellos de los pares redox de los radicales para ser atrapados.
- Habilidad para deslocalizar el radical resultante (González, 2009).

Alternativamente, diversos compuestos cromógenos (ABTS, DPPH, DMPD, DMPO y FRAP) son utilizados para determinar la capacidad de los compuestos fenólicos que contienen los frutos para captar los radicales libres generados, operando así en contra los efectos perjudiciales de los procesos de oxidación, que implican a especies reactivas de oxígeno (EROS).

Las medidas de la actividad antirradicalaria se pueden realizar mediante dos estrategias distintas, en función de la información que se desea obtener:

- **Determinación directa:** El radical se emplea como un factor de cuantificación (produce una señal analítica). La adición del antioxidante, antes o después de la generación del radical, provoca una disminución de la señal. En el ensayo de postadición se forma el radical en ausencia de la muestra y así, cuando se añade la sustancia antioxidante se produce un descenso en la señal debido a la disminución de la concentración del radical. En ensayos de inhibición, la muestra se añade a los sustratos de oxidación antes que sea generado el radical, La reacción comienza con la adición del oxidante (ABTS $\bullet+$ , DPPH, etc).
- **Determinación indirecta:** La presencia de radicales libres produce la pérdida o aparición de un reactivo, y por tanto, en presencia de un antioxidante se provoca el aumento o disminución de la señal (métodos, ORAC, FRAP, etc).

Los métodos más aplicados son ABTS y DPPH. Ambos presentan una excelente estabilidad en ciertas condiciones, aunque también muestran diferencias. El DPPH es un radical libre que puede obtenerse directamente sin una preparación previa, mientras que el ABTS tiene que ser generado tras una reacción que puede ser química (dióxido de manganeso, persulfato potasio, ABAP), enzimática (peroxidase, mioglobulina), o también electroquímica. Con el ABTS se puede medir la actividad de compuestos de naturaleza hidrofílica y lipofílica, mientras que el DPPH solo puede disolverse en medio orgánico, y el DMPD solo en medio acuoso. El radical ABTS $\bullet+$  tiene, además, la ventaja de que su espectro presenta máximos de absorbancia a 414, 654, 754 y 815 nm en medio alcohólico, mientras que el DPPH presenta un pico de absorbancia a 515 nm, y el DMPD a 505 nm.

El radical ABTS $\bullet+$  es uno de los más rápidos, originando resultados reproducibles y coherentes. Además, el ABTS presenta importantes ventajas; muestra varios máximos de absorción y una buena solubilidad, permitiendo el ensayo de compuestos tanto de naturaleza lipofílica como hidrofílica. El tiempo de 1 minuto, para el método ABTS, puede ser suficiente para medidas de pulpas de frutos (Kuskoski, 2005).

### **MÉTODO DEL ABTS●+ (ÁCIDO 2,2'-AZINOBIS (3- ETILBENZOTIAZOLÍN)-6- SULFÓNICO)**

El radical ABTS●+ se genera a partir de su precursor el Ácido 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolín)-6-sulfónico (ABTS). El radical catiónico obtenido es un compuesto de color verde-azulado, estable y con un espectro de absorción en el UV-visible. Es un radical artificial que no mimetiza bien la situación in vivo, termodinámicamente puede ser reducido por compuestos que tengan un potencial redox menor que el del ABTS (0.68V), pudiendo reaccionar con el radical, muchos compuestos fenólicos con un potencial más bajo. El punto final de la reacción lo marca la sustancia antioxidante empleada, fijando tiempos cortos o muy elevados que pueden interferir en los resultados finales, lo cual, es un inconveniente. La ventaja de este ensayo es que puede realizarse tanto en muestras hidrosolubles como liposolubles, eligiendo el disolvente apropiado en cada caso.

El radical ABTS●+ es uno de los más rápidos, originando resultados reproducibles y coherentes. Además, el ABTS presenta importantes ventajas; muestra varios máximos de absorción y una buena solubilidad, permitiendo el ensayo de compuestos tanto de naturaleza lipofílica como hidrofílica. El tiempo de 1 minuto, para el método ABTS, puede ser suficiente para medidas de pulpas de frutos ( Kuskoski, 2005).

### **MÉTODO FRAP (FERRIC ION REDUCING ANTIOXIDANT POWER)**

Benzi y strain, 1996; Pulido y col; 2000 En este método se determina la capacidad antioxidante de forma indirecta. Se basa en el poder que tiene una sustancia antioxidante para reducir el  $Fe^{3+}$  a  $Fe^{2+}$  que es menos antioxidante. El complejo férrico-2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ) incoloro es reducido al complejo ferroso coloreado. Se trata de un método espectrofotométrico ya que se mide la absorbancia del  $Fe^{2+}$  . Así, cuanto más antioxidante es la sustancia objeto de estudio, mayor es la reducción y mayor la concentración de  $Fe^{2+}$  y más alta la señal de absorbancia. El complejo va a poder ser reducido por productos con potenciales redox menores a 0,7 V (potencial redox del  $Fe^{3+}$  -TPTZ). Técnicas para la determinación de compuestos.

Debido a que el potencial redox del  $Fe^{3+}$  -TPTZ es comparable con el del ABTS se pueden analizar compuestos similares con ambos métodos aunque las condiciones de la reacción sean

distintas. El mecanismo del FRAP es de transferencia de electrones, a diferencia de otros métodos donde se produce captura de radicales libres, según esto, el FRAP puede ser útil, en combinación con otros métodos, en la determinación de la capacidad antioxidante de productos que contengan distintos tipos de antioxidantes

#### **FOLIN –CIOCALTEU**

La identificación y cuantificación de compuestos fenólicos se puede llevar a cabo por esta técnica, cuyo fundamento se basa en una reacción oxidación/reducción. Es un método simple, sensible y preciso; sin embargo, la reacción es lenta a pH bajo y carece de especificidad

#### **DPPH**

El dpph tiene un color púrpura intenso y a diferencia del ABTS, no se produce antes del desarrollo de la técnica ya que se encuentra disponible comercialmente. Se basa en la medición de la capacidad de los antioxidantes para reducir al DPPH, dicha capacidad se mide a 515 nm por la disminución en su absorbancia (Prior y cols, 2005).

#### **ORAC**

Un antioxidante puede inhibir las oxidaciones por el radical peróxido ORAC, es la técnica que mide dicha capacidad, la actividad antioxidante determinada por esta técnica refleja el rompimiento de la cadena de radicales por transferencia de átomos de hidrógeno. El radical peróxido, se hace reaccionar por una sonda fluorescente que forma un producto no fluorescente que puede ser cuantificado fácilmente por fluorescencia. La capacidad antioxidante se determina por disminución en la velocidad y cantidad de producto formado conforme avanza el tiempo (Prior y cols, 2005), en la tabla 4 se especifican las ventajas y desventajas de cada método.

**Tabla 4. Ventajas y desventajas de los métodos para determinación de la capacidad antioxidante. \*Transferencia Protónica, \*Transferencia Electrónica.**

Método	Mecanismo de reacción	Ventaja	Desventaja
ORAC	TP	Proporciona una fuente controlable de radicales peróxido, se pueden evaluar compuestos o extractos hidrofílicos e hidrofóbicos	Es sensible a la temperatura y poca variación de la misma en áreas externas del micro plato, puede disminuir la reproducibilidad. Debido a que usa marcadores fluorescentes, requiere detección por fluorómetro, el cual no se encuentra con facilidad en laboratorios, requiere un gran tiempo de análisis (~1h).
FRAP	TE	Simple, rápido, barato, no requiere equipo especializado	No siempre las reacciones completan en 4 min, sus resultados pueden variar grandemente dependiendo de la escala de tiempo e análisis, algunos polifenoles requieren

			<p>tiempos largos de reacción (30 min).  Mide solo la capacidad de reducción basada en ion ferrico, el cual no es relevante fisiológicamente para la actividad antioxidante</p>
Folin Ciocalteu	TP Y TE	<p>Es simple, puede usarse en caracterización y estandarización de muestras botánicas</p>	<p>Algunas sustancias inorgánicas pueden reaccionar con el reactivo F-C y dar con ello concentraciones de fenólicos aparentemente elevadas.</p>
ABTS	TP Y TE	<p>Es operacionalmente simple, el ABTS reacciona rápidamente con antioxidantes, puede usarse en un amplio rango de pH, es aplicable con solventes acuosos y organicos, no es afectado por la fuerza ionica, determina capacidad</p>	<p>Se basa en la hipótesis de que las reacciones redox se llevan a cabo rápidamente y son completadas en 6 min, sin embargo no siempre es así, por lo que los resultados pueden variar dependiendo del tiempo de analisis, de este modo obtenerse</p>

		antioxidante de naturaleza hidrofílica e hidrofóbica	valores minimizados de TEAC, provocando conclusiones erróneas. La evaluación cuantitativa de la capacidad antioxidante usando TEAC, puede ser difícil, sin embargo puede ser usada para clasificar el orden de los antioxidantes.
DPPH	TP Y TE	Es simple, rápida, solo requiere espectrofotómetro UV-Vis	Los compuestos probados pueden tener espectros que se solapan con los del DPPH, lo que provoca una interpretación complicada, antioxidantes que reaccionan rápidamente con radicales peróxido, pueden reaccionar lentamente e incluso ser ineficaces, debido a la inaccesibilidad

			estérica, el DPPH, es decolorado también por agentes reductores, así como por transferencia de hidrogeno, lo cual contribuye a interpretaciones inexactas de la capacidad antioxidante.
--	--	--	---

Fuente: González, 2009.

## **HIPÓTESIS**

Las bebidas elaboradas con maíz, que llevan un proceso de fermentación son las que tendrán mayor capacidad antioxidante.

# METODOLOGÍA

## DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

La presente investigación se guió por el enfoque cuantitativo de tipo descriptivo, cuantitativo porque las muestras de las bebidas se analizaron mediante la técnica ABTS y se pudo cuantificar el porcentaje de inhibición del trolox así como mm equivalentes de trolox, descriptivo porque se describen las técnicas de elaboración de las bebidas de forma artesanal.

### Población

Para la encuesta de frecuencia de consumo de bebidas la población fueron alumnos de la Facultad de Ciencias de la Nutrición y Alimentos de la UNICACH.

### Muestra

30 Alumnos de las licenciaturas en Alimentos y Nutrición.

### Muestreo

No probabilístico a conveniencia.

### VARIABLES:

**Tabla 5. Variables dependientes e independientes**

<b>Dependientes</b>	<b>Independientes</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Contenido de antioxidantes</li><li>• % de inhibición del trolox</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Tipo de bebidas</li><li>• Cantidad de ingredientes</li><li>• Método de elaboración de bebidas</li><li>• Bebida fermentada</li></ul>

## ENCUESTA DE FRECUENCIA DE CONSUMO DE BEBIDAS

La encuesta de frecuencia de consumo se realizó en la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas con 26 jóvenes de la Facultad de Ciencias de la Nutrición y Alimentos sede Tuxtla Gutiérrez de diferentes semestres debido a que fue no probabilística a conveniencia, la encuesta de frecuencia de consumo se puede consultar en el anexo 1.

## PREPARACIÓN DE LAS BEBIDAS DE MAÍZ

Las bebidas de maíz, se elaboraron con técnicas artesanales, todas tienen procesos de elaboración que van desde la cocción, el tostado y la nixtamalización, así como la molienda del maíz, a continuación se detallan las técnicas de elaboración de cada una de las bebidas.

### Pozol de cacao

Para la elaboración del pozol de cacao es importante la nixtamalización del maíz, para posteriormente realizar la molienda y la mezcla de los demás ingredientes, ver figura 2.

Los ingredientes que se necesitan para su elaboración son:

- 1 kg Maíz
- 25 g Cal
- 250 g Cacao
- 30 g Canela

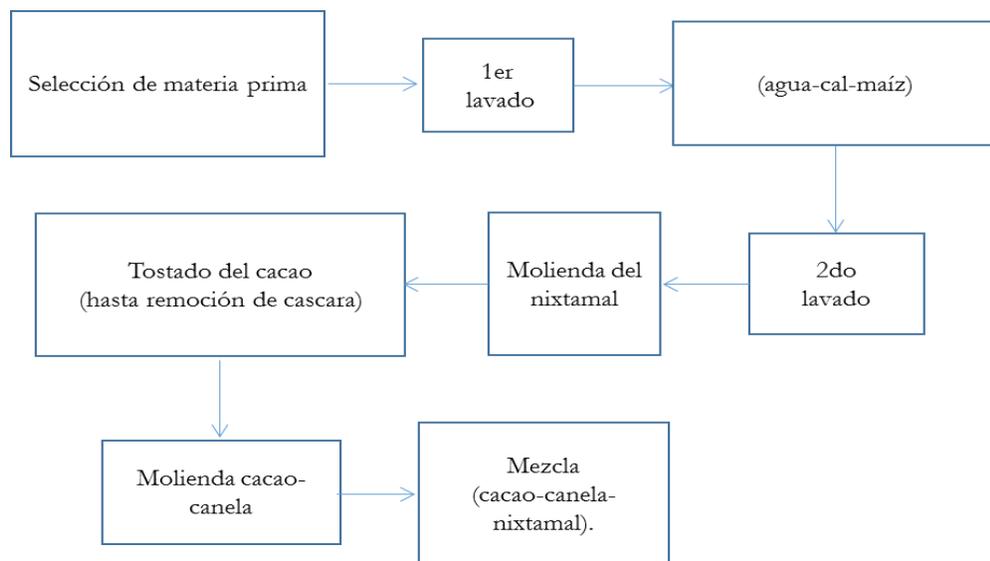


Figura 2. Técnica artesanal de elaboración de pozol de cacao.

## Tascalate

El tascalate es una bebida cuyo proceso de elaboración se basa en el tostado del maíz y la posterior mezcla de los ingredientes, entre ellos; el achiote el cual le da el color característico a la bebida, en la figura 3 se detalla en un diagrama de flujo el proceso de su elaboración.

Los ingredientes son:

- 1 kg Maíz
- 150 gr Achiote
- 200 gr Azúcar
- 50 gr Canela
- 300 gr Cacao

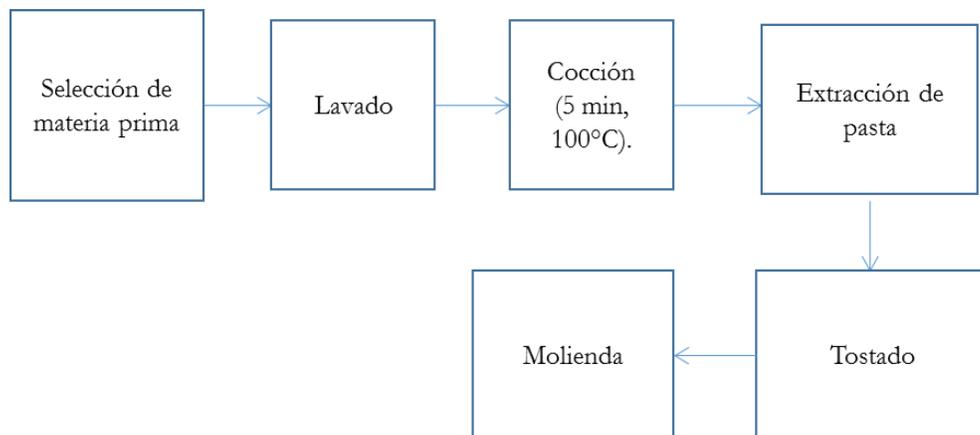


Figura 3. Técnica artesanal de elaboración de tascalate

## Pinol

El pinol de cacao es una bebida que se puede tomar fría o caliente y tiene un proceso de elaboración similar al del tascalate, en la figura 4 se puede observar el proceso para su elaboración con técnicas tradicionales.

Los ingredientes para su elaboración son:

- 1kg. De maíz
- 300 gr de cacao
- 50 gr. Canela
- 200 gr de azúcar

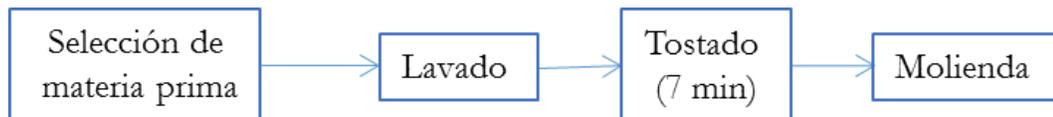


Figura 4. Técnica artesanal de elaboración de pinol de cacao.

## Atol Agrio

El atol agrio, es una bebida que se toma caliente, tiene un sabor ácido mismo que da origen a su nombre, el proceso de elaboración se detalla en la figura 5.

Los ingredientes para elaborarlo son:

- 1 kg Maíz
- 1 ½ piezas de piloncillo
- Agua

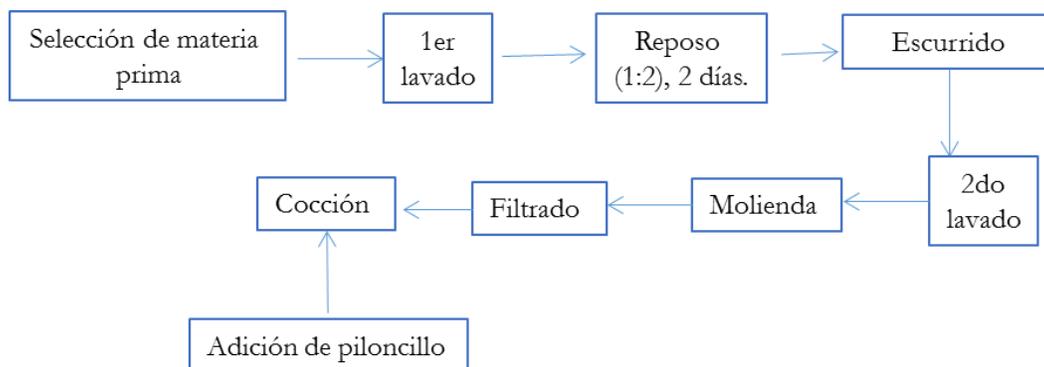


Figura 5. Diagrama de flujo de la técnica artesanal de elaboración de atol agrio.

## Pozol de cacao fermentado

El pozol de cacao es una bebida de maíz con sabor a chocolate, que se consume frío, el cual se fermenta pasadas 6 a 8 horas de su elaboración a temperaturas de 30- 37°C, a pesar de fermentado, las personas gustan de consumirlo, los detalles de su elaboración se pueden ver en la figura 6.

Los ingredientes que se necesitan para su elaboración son:

- 1kg. Maíz
- 25 gr. Cal
- 250 gr. Cacao
- 30 gr. Canela

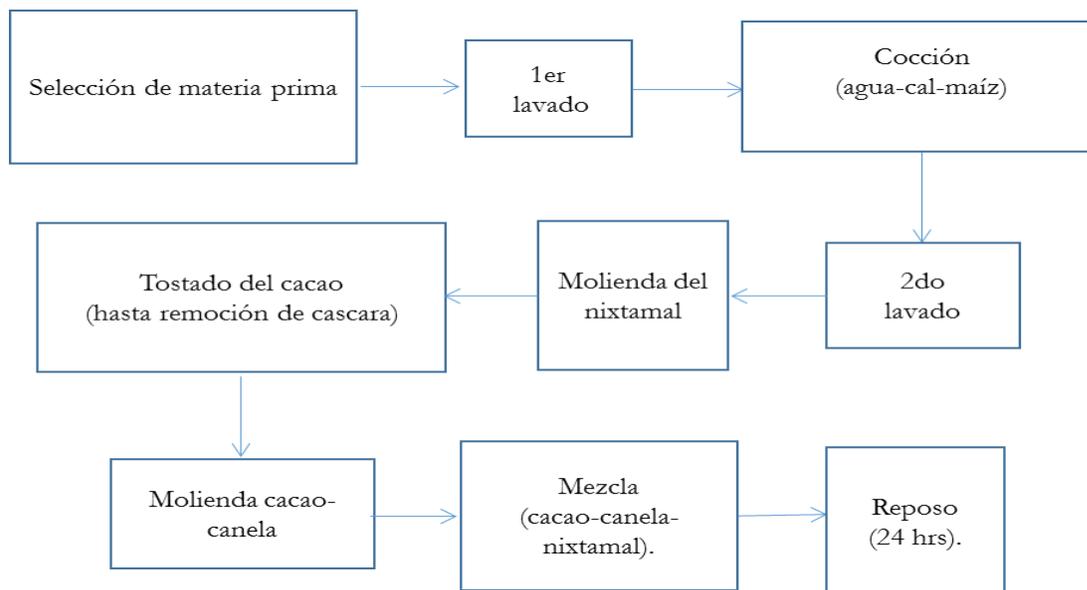


Figura 6. Técnica artesanal de elaboración de pozol de cacao fermentado.

## **CUANTIFICACIÓN CON TÉCNICA ABTS**

La técnica desarrollada para realizar la cuantificación de antioxidantes de las bebidas, se basó en el ensayo realizado por Tovar (2013) y González (2009), la técnica se detalla en el anexo 1.

## **CAPSULA DE RADIO**

Con los resultados obtenidos en esta investigación, sobre la capacidad antioxidante de las cinco bebidas, se elaboró un guión para una capsula de radio (ver anexo 3), que se transmitió en radio universidad durante los cortos informativos denominados “entérate” con los siguientes horarios de transmisión en el periodo comprendido del 30 de Octubre de 2017 al 10 de Noviembre de 2017. Los Horarios de emisión de la capsula de radio son los que a continuación se enlistan, de manera aleatoria, dos veces al día:

- 6 am
- 9 am
- 2 pm
- 4 pm
- 7 pm

## PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

Se realizó una encuesta de frecuencia de consumo de las bebidas tradicionales que son estudiadas en esta investigación así como de las bebidas industrializadas altamente azucaradas, posteriormente se elaboraron de forma tradicional 5 bebidas típicas del estado de Chiapas (pozol de cacao, pozol de cacao fermentado, pinol de cacao, tascalate y atol agrio), las cuales se analizaron mediante la técnica ABTS para cuantificar su contenido de antioxidantes y se realizó una capsula de radio, para difundir los resultados.

### Encuesta de frecuencia de consumo

La encuesta se aplicó a 30 estudiantes de las licenciaturas en Nutrición y Alimentos de la Facultad de Ciencias de la Nutrición y Alimentos, los resultados de frecuencia de consumo de bebidas de maíz se pueden apreciar en la figura 7.

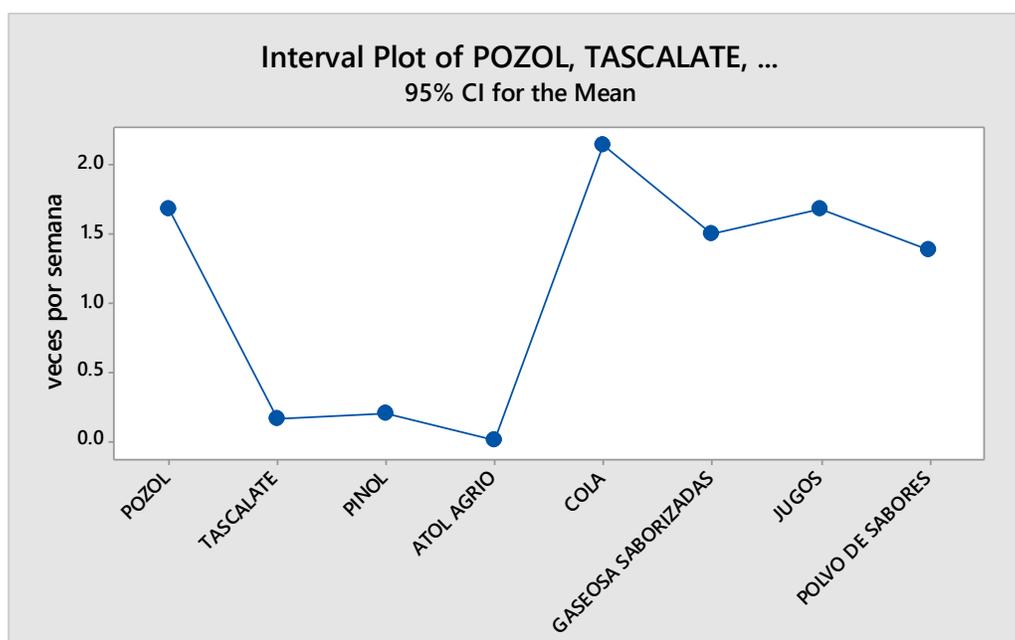


Figura 7. Frecuencia de consumo de bebidas de maíz.

De acuerdo a los resultados obtenidos en la encuesta de consumo, el pozol, las gaseosas saborizadas, los jugos y polvos de sabores son las bebidas que se consumen con una frecuencia de una vez por semana, la cola se consume más de 2 veces por semana y el atol agrio es la única bebida de maíz que no es consumida por los jóvenes, quizá porque es una bebida que se consume caliente.

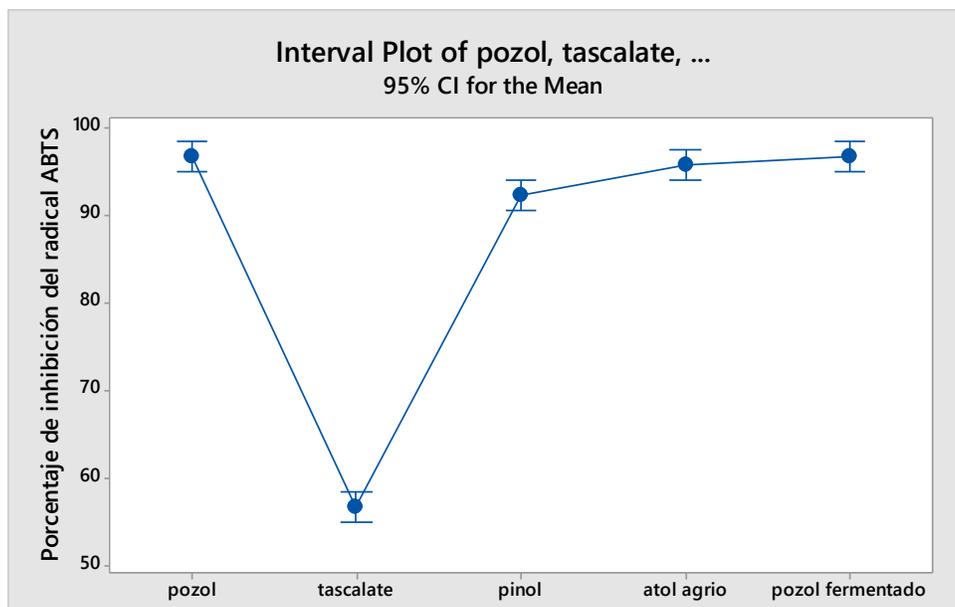
Por lo que se puede observar, todas las bebidas industrializadas son conocidas por los jóvenes y consumidas de 1 a 2 veces por semana a diferencia de las bebidas de maíz en las que el pozol de cacao y el tascalate son las bebidas que los jóvenes conocen y consumen.

El Instituto Nacional de Salud Pública (INSP) reportó en Enero de 2016 los resultados de un estudio sobre la “evaluación del impacto del impuesto a bebidas azucaradas y su repercusión en la salud pública”, mostraron que las compras de líquidos gravados disminuyeron en promedio 6%, y en diciembre de ese año registraron una reducción del 12%. El impuesto reportó el mayor impacto en los hogares de nivel socioeconómico bajo, con un decremento promedio de 9% en las compras de bebidas azucaradas, descenso que alcanzó el 17% en diciembre. En contraste, las compras de bebidas no gravadas aumentaron en promedio 4%, debido principalmente a un aumento en la adquisición de agua embotellada.

Estos resultados comparados con los obtenidos de esta encuesta de frecuencia de consumo son similares puesto que la frecuencia de consumo de estas bebidas es menor al esperado, lo mismo sucede con una publicación del Universal en el año 2015, de acuerdo a EUROMONITOR quien realizó un estudio del estado del mercado de las bebidas carbonatadas en Norte y Sudamérica, dentro de las cuales México registró un crecimiento de 0.49% en el consumo de refrescos en el 2014, afectado por el impuesto especial sobre producción y servicios (IEPS) de 1 peso por litro a las bebidas azucaradas en la reforma hacendaria.

### **Resultados de análisis de capacidad antioxidante**

Se analizaron mediante la técnica ABTS las bebidas para determinar el porcentaje de inhibición del radical ABTS, los resultados obtenidos arrojan una media aritmética general de 87.60 del porcentaje de inhibición del radical, en la figura 9 se puede observar las medias aritméticas de cada una de las bebidas.



**Figura 8. Diferencia de medias del porcentaje de inhibición del radical ABTS de las bebidas analizadas.**

No existe una diferencia significativa en el porcentaje de inhibición del radical ABTS del pozol, el pinol, el atol agrio, y pozol fermentado, entre las bebidas antes mencionadas y el tascalate si hay diferencia significativa; los resultados obtenidos se clasificaron de acuerdo al porcentaje de inhibición en bebidas de alta capacidad antioxidante, aquellas que estuvieran dentro del rango de 100 – 75 %, de capacidad media en el rango de 75-40 %, y de capacidad baja los que se encontraran en el rango de 40- 10, en la tabla 7 se puede observar a que clasificación corresponde cada bebida.

**Tabla 3. Clasificación de las bebidas de acuerdo a su % de inhibición.**

BEBIDA	% DE INHIBICIÓN	CAPACIDAD ANTIOXIDANTE
POZOL DE CACAO	96.76 %	ALTA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE (MAYOR DE 70% DE INHIBICIÓN)
POZOL FERMENTADO	96.68 %	
ATOL AGRIO	95.75 %	
PINOL	92.27 %	
TASCALATE	56.54 %	MEDIA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE (75-40%)

En el año 2010, Argüelles y colaboradores, realizaron la evaluación de la capacidad antioxidante de preparados y bebidas típicas del estado de Tlaxcala, la evaluación se llevó a cabo con la técnica DPPH, de las bebidas evaluadas el ponche, atole de amaranto, el chileatole, fueron de mayor capacidad antioxidante en un rango de (70%±), el atole de judas fue la bebida con menor capacidad antioxidante estando en un rango de (40%), estos resultados sobre el % de reducción de la capacidad antioxidante son similares a los obtenidos en esta evaluación, puesto que las bebidas analizadas están dentro de un rango de alta capacidad antioxidante, siendo el tascalate la única con capacidad antioxidante media.

El atole agrio es una bebida fermentada y su porcentaje de inhibición antioxidante es alta al igual que el pozol de cacao fermentado, los alimentos fermentados tienen una elevada capacidad antioxidante y así lo demuestran importantes estudios, que abrieron un nuevo campo de investigación en sustancias bioactivas o biogénicos en los alimentos, a través de los procesos de fermentación (Gobbetti, 2010).

Hijar y cols (2017), analizaron la capacidad antioxidante de tortillas de maíz azul, llegando a la conclusión de que el porcentaje de inhibición en grano y tortilla, no marca una diferencia significativa y que el proceso de nixtamalización no altera la capacidad antioxidante de la tortilla, lo que se puede observar en el caso de la bebida pozol de cacao, puesto que a pesar de

someter al maíz al proceso de nixtamalización la capacidad antioxidante de la bebida se puede clasificar como alta.

**Tabla 7. % de inhibición del radical ABTS y mg de antioxidantes en un vaso de 250 ml.**

<b>BEBIDA</b>	<b>% DE INHIBICION DEL RADICAL ABTS</b>	<b>MM. EQ. DE TROLOX/GRAMO DE ALIMENTO</b>
Pozol de cacao	96.76742233	27,67
Pozol de cacao fermentado	96.68345928	27,64
Tascalate	56.54911839	10,37
Atol agrio	95.75986566	27,24
Pinol	92.27539882	25,74

Gutiérrez y cols en el año 2007 realizaron la determinación antioxidante de alimentos Chiapanecos con el método ABTS utilizando acetona como medio de extracción de los alimentos estudiados, entre ellos el pozol, obteniendo como resultado mm equivalentes de trolox 6,66 por gramo de alimento, el pozol al cual disolvieron en agua tuvo una capacidad antioxidante eq. de trolox de 7,78 siendo estos resultados menores que los obtenidos en esta investigación, pudiendo ser factores importantes en la variación de resultados el medio de extracción, la clase de grano de maíz y las cantidades de los ingredientes.

Otro factor que influye en la capacidad antioxidante de las bebidas es la técnica de elaboración y el proceso de cocción al que se somete al maíz y al cacao, en el año 2015, Zapata y cols realizaron la evaluación del Efecto del Tostado Sobre los Metabolitos Secundarios y la Actividad Antioxidante de Clones de Cacao Colombiano, entre las técnicas que utilizaron se encuentra la técnica ABTS, sus resultados fueron que la actividad antioxidante de los granos de cacao analizados no variaron significativamente y el comportamiento de los granos no fue definido pues en algunas variedades el efecto del tostado aumentaba la capacidad antioxidante, encontrándose un efecto positivo en los granos tostados a 150° C, Suazo (2014) que las melanoidinas que se producen en la reacción de Maillard son responsables de la actividad

atrapadora de radicales libres, estos resultados concuerdan con los encontrados en esta investigación en el pinol de cacao, pues al ser una bebida en la que se somete al maíz y al cacao al proceso de tostado su capacidad antioxidante fue alta, a diferencia del tascalate, considerando que el proceso de tostado pudo afectar la capacidad antioxidante de la bebida, al no existir un control estricto de la temperatura de tostado.

### **CAPSULA INFORMATIVA DE RADIO**

El impacto de las emisiones de la capsula informativa de radio fue de 400 personas aproximadamente, de acuerdo a la información proporcionada por el productor asignado por radio Unicach, Christian Cruz Hernández.

## CONCLUSIONES

Los efectos del estrés oxidativo pueden prevenirse consumiendo de alimentos que tengan alta capacidad antioxidante y realizando actividades físicas que contribuyan al buen funcionamiento del organismo; por esta razón es de suma importancia hacer un análisis de los alimentos que se están incluyendo en la dieta y dejar de consumir o disminuir la ingesta de aquellos alimentos que promueven la formación de radicales libres.

Siendo el objeto de este estudio las bebidas tradicionales de Chiapas ( pozol de cacao, pinol, tascalate, atol agrio y pozol fermentado) y habiendo obtenido como resultado el porcentajes de inhibición que van del 50 al 96 %, siendo el menor en el caso del tascalate 56.54 % y el de mayor porcentaje de inhibición 96.76% en el pozol de cacao, estando dentro del rango del 92 al 96% de inhibición el atol agrio, pozol fermentado y pinol, se recomienda consumir estas bebidas que además de proporcionar nutrientes necesarios a la dieta aportan antioxidantes en porcentajes que van desde la capacidad antioxidante media a la alta, así como disminuir el consumo de bebidas embotelladas que son altamente calóricas y que además existen estudios que han comprobado su relación con el estrés oxidativo.

Estas bebidas fueron consumidas por los antepasados y al día de hoy su consumo va en disminución, pocas personas saben prepararlas, los jóvenes las consumen con poca frecuencia, por esta razón es de suma importancia promover su consumo, profundizar en el estudio de las características fisicoquímicas, microbiológicas y bromatológicas, así como de la propiedad funcional del atol agrio y el pozol fermentado, de las cuales se tiene poca información.

## **PROPUESTAS Y RECOMENDACIONES**

Se recomienda que se realicen más investigaciones en este campo de las bebidas de maíz, pues los estudios que hay entorno a ellos son basados en el estudio de la cultura que encierran, sin embargo se carece de investigación en relación a sus características fisicoquímicas, bromatológicas.

Se recomienda que se cuiden las temperaturas y los tiempos de cocción al momento de realizar las bebidas pues estos son factores que pueden influir en el contenido de antioxidantes.

Se recomienda tener una alimentación variada en la que se incluyan estas bebidas siempre y cuidando no se excederse en el consumo puesto que contienen azúcares naturales del maíz y la sacarosa que se agrega al preparar las bebidas.

## REFERENCIAS DOCUMENTALES

AESAN Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición,  
<http://www.aesan.msc.es/>

Amaya Rodríguez Lorena Maribel, Caherine Elizabeth Portillo Membreño, Determinación de fenoles, flavonoides y capacidad antioxidante en melaza, azúcar blanco y moreno en el ingenio chaparrastique por el método de espectrofotometría ultravioleta-visible, Facultad de Química y Farmacia, San Salvador, el Salvador, 2013.

Argüelles Martínez Lisbet, Hernández Ramírez Iván, Méndez Iturbide Daniel, Méndez Hernández Pablo, Evaluación de la capacidad antioxidante de alimentos preparados y bebidas típicas del estado de Tlaxcala. Revista Médica Universidad de Veracruz [en línea] 2011, 33 (ene-jun): [fecha de consulta: 1 de abril de 2012] Disponible en: [http://www.uv.mx/rm/num\\_anteriores/revmedica\\_vol11\\_num1/articulos/evaluacion.pdf](http://www.uv.mx/rm/num_anteriores/revmedica_vol11_num1/articulos/evaluacion.pdf)

Ávila Hernández, Bastarrachea Manzano, Díaz Cardoza, Flechsig Grant, Moedano Navarro, Norman Mora, Pérez San Vicente, Salinas Sanchez, Suarez y Farias, Vargas Guadarrama, Atlas Cultural de México, Gastronomía. Instituto Nacional de Antropología e Historia, marzo 1988. Grupo editorial planeta. ISBN 468406096

Assad S.F., Singh S., Ahmad A., Khan N., Hadi S.Y. (2001). Prooxidant and antioxidant activities of bilirubin and its metabolic precursor biliverdin: a structure-activity study. *Chemic-Biological Interactions*; 37: 59-74.

Barros Cristina, Buenrostro Marcos, pozol, popo, champurrado. 2011, Rev, Dig. Universitaria UNAM, Vol. 12, N° 4, ISSN: 1067-6079.

Bentiger N., Brismark K., Dallner G. (2007). The antioxidant role of coenzyme Q. *Mitochondrion*; 7:541-550.

Cadena Iñiguez P. De la Cruz Morales F.R. Comidas y bebidas mezcla de saberes y sabores zoques en Chiapas. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y

Pecuarías. México. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Campus Cintalapa, Chiapas.

Chiapas Viaje Culinario, capítulo de las bebidas, Celis Juárez María Engracia, primera edición 2014, pag. 274 ISBN: 978 607 7528 35

Cemeli E., Baumgartner A., Anderson D. 2009. Antioxidants and the Comet assay. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*; 681: 51–67.

Colina Johana, Guerra Marisa, Guilarte Doralys, Alvarado Carlos, Contenido de polifenoles y capacidad antioxidante de bebidas elaboradas con panela. Departamento de Tecnología de Procesos Biológicos y Bioquímicos. Universidad Simón Bolívar. Departamento de Producción e Industria Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Central de Venezuela. Vol. 62 N° 3, 2012.

Coronado H Martha. Vega y Leon Salvador, Gutierrez T. Rey, Vazquez F. Marcela Radilla V. Claudia Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana.. 2015. 2, Mexico : Rev. Chil Nutricion , 2015, Vol. 42.

Delgado Olivares Luis , Betanzos Cabrera Luis, Sumaya Martínez Ma. Teresa, importancia de los antioxidantes dietarios en la disminución del estrés oxidativo. Universidad Autónoma de Aguascalientes, Rev. Investigación y Ciencia, N. 50 , septiembre 2010. <http://www.uaa.mx/investigacion/revista/archivo/revista50/Articulo%202.pdf>

Encuesta Nacional de Salud y Nutricion (ENSANUT), 2012.

Escalante Aburto Anayansi, Ramírez-Wong Benjamín \*, Torres-Chávez Patricia I., Barrón-Hoyos J. Manuel, Figueroa-Cárdenas Juan de Dios y López-Cervantes Jaime, la nixtamalización y su efecto en el contenido de antocianinas de maíces pigmentados, una revisión. *Rev. Fitotec. Mex.* Vol. 36 (4): 429 - 437, 2013

Escamilla Jiménez C.I, Cuevas Martínez E.Y, Guevara Fonseca J: Flavonoides y sus acciones antioxidantes, Vol. 22 N° 2, México, MarzoAbril, 2009, pág. 73-75.

Fina Brenda, estrés oxidativo, Laboratorio de Biología Ósea y Metabolismo Mineral Facultad Cs. Médicas - UNR - Rosario - Argentina [laboratorio@biologiaosea.com.ar](mailto:laboratorio@biologiaosea.com.ar)

Flores Maltos, Dulce AbrilSandoval Cortés, José, Valdivia Urdiales, Blanca, Aguilar González, Cristóbal Noé. Uso de técnicas electroquímicas para evaluar el poder antioxidante en alimentos Investigación y Ciencia 2010, 18 (Mayo-Agosto) : [fecha de consulta: 16 de abril de 2012] Disponible en: <<http://redalyc.uaemex.mx/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=67415178004>> ISSN 1665-4412

García Macia Marina, reflexión acerca del estudio del estrés oxidativo en la investigación reciente. Medwave, 2012 febrero.12: [fecha de consulta: 05 octubre de 2016: [fecha de consulta: 16 de abril de 2012] Disponible en:] Disponible en:<http://www.medwave.cl/link.cgi/Medwave/Perspectivas/Editorial/5299>

Gómez-Juaristi M., L. González-Torres , L. Bravo , M. P. Vaquero , S. Bastida y F. J. Sánchez-Muniz, Efectos beneficiosos del chocolate en la salud cardiovascular, Nutr Hosp. 2011;26(2):289-292 ISSN 0212-1611.

González Fuentes Fanny Jaqueline. “Determinación de la capacidad antioxidante y características estructurales de metabolitos secundarios de extractos polares y aceite esencial de orégano mexicano (*Lippia graveolens*) mediante la técnica de voltamperometría diferencial de pulso” Director: Dra. Sandra Olimpia Mendoza Díaz. Universidad Autónoma de Querétaro, facultad de química, 2009.

Gutiérrez Ruvalcaba Clara Luz, Vásquez-Garibay Edgar , Romero-Velarde Enrique, Troyo-Sanromán Rogelio, Cabrera-Pivaral Carlos, Ramírez Magaña Olga, Consumo de refrescos y riesgo de obesidad en adolescentes de Guadalajara, México. Bol. Med. Hosp. Infant. Mex. vol.66 no.6 México nov./dic. 2009. ISSN 1665-1146

Gutiérrez Zavala, Ángel, Ledesma Rivero, Luis, García García, Isabel, Grajales Castillejos, Octavio. Capacidad antioxidante total en alimentos convencionales y regionales de Chiapas, México. Revista Cubana de Salud Pública [en línea] 2007, 33 (ene-mar): [fecha de consulta: 29 de marzo de 2012] Disponible en: <<http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=21433108>> ISSN 0864-3466 Gutiérrez Zavala Ángel, Ledesma Rivero Luis, García García Isabel y Grajales Castillejos Octavio.

Hijar Mateos Martha Isabel, Yahuáca Berenice, Cortés Consuelo de Jesús, “capacidad antioxidante de tortillas de maíz azul” Facultad de Químico farmacobiología, De La Universidad Michoacana San Nicolás de Hidalgo, 2017.  
[http://www.ifuap.buap.mx/eventos/SFHPPG17/programa/Memorias\\_SFHPPG17.pdf](http://www.ifuap.buap.mx/eventos/SFHPPG17/programa/Memorias_SFHPPG17.pdf)

Herrera Teófilo, Los hongos en la cultura mexicana: bebidas y alimentos tradicionales fermentados, Departamento de Botánica, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. *Etnobiología* 5: 108-116 (2005) 2007

Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI),2012.

Instituto Nacional de Salud Pública (INSP), 2014.

Jiménez Vera Román, González Cortés Nicolás, Magaña Contreras Arturo, Corona Cruz Alma. Evaluación microbiológica y sensorial de fermentados de pozol blanco, con cacao (*Theobroma cacao*) y coco (*Cocos nucifera*). *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*. [en línea] Enero-Junio, 2010. [fecha de consulta: 08 de septiembre de 2016] Disponible en: [http://www.worldcocoaafoundation.org/wp-content/uploads/files\\_mf/jimenezvera2010.pdf](http://www.worldcocoaafoundation.org/wp-content/uploads/files_mf/jimenezvera2010.pdf)

Kuskoski E. Marta, G. Asuero Agustín, Troncoso, Jorge Mancini-Filho, Roseane Fett, Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, 25(4): 726-732, out.-dez. 2005

Liria Reyna. Consecuencias de la obesidad en el niño y el adolescente: un problema que requiere atención. *rev. Peru Med. Salud publica* [en línea] 2012, ;29(3):357-60. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rins/v29n3/a10v29n3.pdf>.

López- Martínez, L. y H. García-Galindo Actividad antioxidante de extractos metanólicos y acuosos de distintas variedades de maíz mexicano. *Revista Electrónica Nova Scientia* Universidad del Papaloapan, Loma Bonita, Oaxaca. UNIDA, Instituto Tecnológico de Veracruz, Veracruz. [en línea] 2009, [fecha de consulta: 3 de agosto 2012] Disponible en: [http://nova\\_scientia.delasalle.edu.mx/numero\\_3/NovaScientia\\_03\\_051.pdf](http://nova_scientia.delasalle.edu.mx/numero_3/NovaScientia_03_051.pdf)

López Ruiz Sergio Alejandro, 5 bebidas tradicionales de Chiapas, *Todo Chiapas en un mismo sitio*. Tuxtla Gutiérrez Chiapas, 23 de Diciembre de 2011

Macedo-Márquez, Alain. La producción de especies reactivas de oxígeno (EROs) en las mitocondrias de *Saccharomyces cerevisiae*. *Tip Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, vol. 15, núm. 2, 2012, pp. 97-103 Universidad Nacional Autónoma de México Distrito Federal, México

Mayor Oxilia Rosa, Estrés Oxidativo y Sistema de Defensa Antioxidante. Oxidative Stress and Antioxidant Defense System. Servicio de Pediatría del Instituto de Medicina Tropical, Asunción. Paraguay, *Rev. Inst. Med. Trop.* 2010;5(2):23-29

Mendoza-Díaz S, M C Ortiz-Valerio, E Castaño-Tostado, J D FigueroaCárdenas, R Reynoso-Camacho, M Ramos-Gómez, R Campos-Vega, G F Loarca-Piña (2012) Antioxidant capacity and antimutagenic activity of anthocyanin and carotenoid extracts from nixtamalized pigmented creole maize races (*Zea mays* L.). *Plant Food Hum. Nutr.* 67:442-449.

Mercado-Mercado Gilberto, de la Rosa Carrillo Laura, Wall-Medrano Abraham, López Díaz José Alberto y Álvarez-Parrilla Emilio. Compuestos polifenólicos y capacidad antioxidante de especias típicas consumidas en México. Departamento en Ciencias Químico Biológicas. Departamento en Ciencias de la Salud. Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. Chihuahua. México. *Nutr Hosp.* 2013;28(1):36-46

McCullough, M. L. *et al.* (2011) "Following cancer prevention guidelines reduces risk of cancer, cardiovascular disease, and all-cause mortality cancer" *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*. Vol. 20, núm. 6, pp. 1089-1097.

Navarro Arturo. Boletín Unam 2015. Disponible en: [http://www.dgcs.unam.mx/boletin/bdboletin/2015\\_046.html](http://www.dgcs.unam.mx/boletin/bdboletin/2015_046.html)

Pallares Gomez Miguel Angel, Mexico cuarto lugar en consumo de refrescos en el mundo, el Universal , 10 de Julio de 2015. Disponible en: <http://www.eluniversal.com.mx/articulo/cartera/finanzas/2015/07/10/mexico-cuarto-lugar-en-consumo-de-refrescos-en-el-mundo>

Petrich Perla, La alimentación Mochó, acto y palabra (estudio etnolingüístico), 1985 Centro de Estudios Indígenas (Serie Monografías, 1), Universidad Autónoma de Chiapas.

Podsedek A. 2007. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. *LWT - Food Science and Technology*; 40: 1–11.

Porras Loaiza A.P. Lopez Malo A. Importancia de los geupos fenolicos en los alimentos. departamento de ingeniería Química de alimentos. Universidad de las Americas Puebla. temas selectos de ingeniería de alimentos 3-1(2009):121-134.

Prior Ronald L., Wu X, Schaich K, (2005) Standardized methods for the determination of Antioxidant– Capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J. Agric. Food Chem.* 53, 4290-4302.

Quintero-Salazar, Baciliza, Bernáldez Camiruaga, Aldo Iván, Dublán-García, Octavio, Barrera García, V. Daniela, Favila Cisneros, Héctor Javier. Consumo y conocimiento actual de una bebida fermentada tradicional en Ixtapan del Oro, México: la sambumbia *Alteridades* [en línea] 2012, 22 ( ) : [fecha de consulta: 8 de noviembre de 2014] Disponible en: <<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=74728323002>> ISSN 0188-7017

Ramírez Anaya Jessica del Pilar, influencia de las técnicas culinarias sobre el contenido de polifenoles y capacidad antioxidante en hortalizas de la dieta mediterránea, Universidad de Granada, Departamento de Nutricion y Bromatologia, 2013.

Rodríguez-Burelo, María del Rosario; Avalos-García, María Isabel; López-Ramón, Concepción. Consumo de bebidas de alto contenido calórico en México: un reto para la salud pública. *Salud en Tabasco*, vol. 20, núm. 1, enero-abril, 2014, pp. 28-33

Salinas-Moreno Y, F Martínez-Bustos, M Soto-Hernández, R OrtegaPaczka, J L Arellano-Vázquez (2003) Efecto de la nixtamalización sobre las antocianinas de granos pigmentados. *Agrociencia* 37:617-628

Sanchez Valle Vicente, Mendez Sanchez Nahum, Estrés oxidativo, antioxidantes y enfermedad, *Rev Invest Med Sur Mex*, Julio-Septiembre 2013; 20 (3).

Chordi Barrufet Silvia, Soliva Fortuny Robert C, Contenido fenólico y capacidad antioxidante de fresa mínimamente procesada sometida a tratamientos de conservación por

pulsos de luz de alta intensidad. Universidad Lleida, Facultad de Medicina, Nutrición Humana y Dietética, 2013

Speisky, H., Pastene, E. y Gómez. M. Antioxidantes Fundamentales para la Salud. *Indualimentos*, 41, 2006

Shilpi JA, Taufiq-Ur-Rahman M, Uddin SJ, Alam MS, Sadhu SK, Seidel v. Preliminary Pharmacological Screening of *Bixa orellana* L. Leaves. *J Ethnopharmacol.* 2006 Nov 24; 108(2):264-71. Epub 2006 Jun 12

Suazo, Y., G. Davidov-Pardo and I. Arozarena. 2014. Effect of fermentation and roasting on the phenolic concentration and antioxidant activity of cocoa from Nicaragua. *Journal of Food Quality* 37(1): 50–56.

Tovar del Rio Jennifer. “determinación de la actividad antioxidante por dpph y abts de 30 plantas recolectadas en la eco región cafetera” tesis (de grado: Químico Industrial) Colombia: Universidad Tecnológica de Pereira, 2013, 150p.

Wacher Carmen. Departamento de alimentos y biotecnología. Facultad de química, Unam. Disponible en: <http://www.fao.org/fileadmin/templates/abdc/documents/pozol.pdf>

ZAMORA S, Juan Diego. ANTIOXIDANTES: MICRONUTRIENTES EN LUCHA POR LA SALUD. *Rev. chil. nutr.* [online]. 2007, vol.34, n.1 [citado 2014-11-11], pp. 17-26 . Disponible en: [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0717-75182007000100002&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75182007000100002&lng=es&nrm=iso). ISSN 0717-7518. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182007000100002>.

Zapata Bustamante Sandra; Tamayo Tenorio Angélica, Alberto Rojano Benjamín, “Efecto del Tostado Sobre los Metabolitos Secundarios y la Actividad Antioxidante de Clones de Cacao Colombiano” *Rev. Fac. Nac. Agron. Medellín* 68(1): 7497-7507. 2015

# ANEXOS

## ANEXO 1. PREPARACION DE SOLUCIONES

### PREPARACION DE SOLUCIONES

#### *Soluciones estándar de trolox:*

Se preparan 10 ml de una solución stock de trolox 1 mM.

PM Trolox: 250.29 g/mol

$$10 \text{ ml} \left( \frac{1 \text{ L}}{1000 \text{ ml}} \right) \left( \frac{1 \text{ mmol}}{1 \text{ L}} \right) \left( \frac{1 \text{ mol}}{1000 \text{ mmol}} \right) \left( \frac{250.29 \text{ g}}{1 \text{ mol}} \right) = 0.0025 \text{ g trolox}$$

Pesar **0.0025 g** trolox y aforar a **10 mL** con Metanol (solución **T**)

Para preparar las concentraciones deseadas se toma de la solución **T** y se añade metanol de acuerdo a la siguiente tabla 2:

**Tabla 2. Concentraciones para realizar la curva patrón.**

Concentración Trolox	μL de T	μL de MetOH
0.5	50	950
1	100	900
2	200	800
3	300	700
4	400	600
5	500	500
6	600	400
7	700	300
8	800	200

### ***Solución acuosa 7 mM de ABTS:***

PM ABTS: 548.68 g/mol

$$\frac{5 \text{ ml} \left( \frac{1 \text{ L}}{1000 \text{ ml}} \right) \left( \frac{7 \text{ mmol}}{1 \text{ L}} \right) \left( \frac{1 \text{ mol}}{1000 \text{ mmol}} \right) \left( \frac{548.68 \text{ g}}{1 \text{ mol}} \right)}{1} = 0.01920 \text{ g ABTS}$$

Pesar **0.01920g** de ABTS y aforar a **5mL** con agua destilada.

### ***Solución acuosa 140 mM de persulfato de potasio ( $K_2S_2O_8$ ).***

PM persulfato: 270.33 g/mol

$$\frac{5 \text{ ml} \left( \frac{1 \text{ L}}{1000 \text{ ml}} \right) \left( \frac{140 \text{ mmol}}{1 \text{ L}} \right) \left( \frac{1 \text{ mol}}{1000 \text{ mmol}} \right) \left( \frac{270.33 \text{ g}}{1 \text{ mol}} \right)}{1} = 0.1892 \text{ g } K_2S_2O_8$$

- 1.- Pesar **0.1892 g** de  $K_2S_2O_8$  y aforar a **5ml** con agua destilada.
- 2.- Mezclar en un vial los 5 ml de ABTS y 88  $\mu\text{L}$  de la solución de persulfato de potasio, forrar el vial con papel aluminio; la nueva solución (A) se guarda en un lugar oscuro durante 12 horas a temperatura ambiente para que se genere la formación del radical.
- 3.- Pasadas las 12 hrs se hace una dilución de la siguiente manera. Dentro de un vial, forrado con papel aluminio, Se mezclan 1000  $\mu\text{L}$  (1 ml) de la solución A, que contiene el  $ABTS^{\bullet+}$  y 4.5 ml de etanol. Esta nueva solución B debe tener una absorbancia entre 0.7 y 1, es necesario verificar este valor en el espectrofotómetro UV-VIS a una longitud de onda **de 734 nm**.

NOTA: Si las lecturas en el espectrofotómetro a esta concentración son mayores a 0.7, se debe ajustar la concentración de la solución B añadiendo etanol hasta alcanzar este valor, en caso de que se haya realizado el ajuste se debe anotar el volumen total añadido de etanol a la solución B.

Una vez que la solución B tiene una absorbancia de 0.7 se deben preparar 20 ml a esta misma concentración.

### **Solución de ácido clorhídrico 2N**

PM HCl: 36.5g/mol      N=12.06

$$V_2 = V_1 \cdot N_1 / N_2 = (0.25)(2) / (12.06) = 0.0416L = 41.6 \text{ mL}$$

Tomar **41.6** ml de HCl del frasco y aforar a 250 ml con agua destilada y tapar para evitar evaporación o contaminaciones.

## **PREPARACIÓN DE LA MUESTRA**

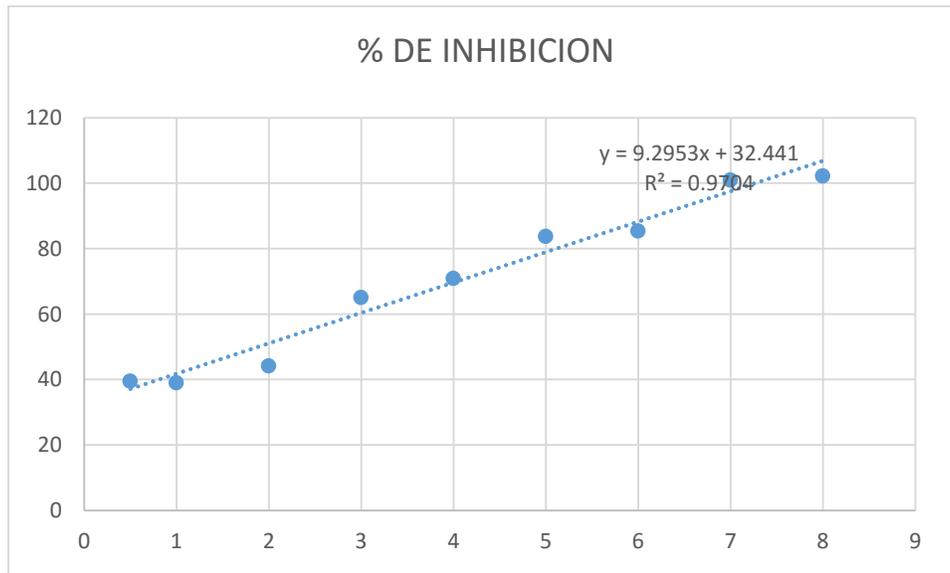
Pesar 250 mg de la bebida en un micro tubo para centrifuga. 2. Agregar 1 mL de metanol al 80%. 3. Agitar en el vortex durante 1 min. 4. Centrifugar a 10 000 rpm durante 15 min. 5. Recuperar el sobrenadante y transferirlo a otro micro tubo. 6. Agregar al pellet 500  $\mu$ L de metanol al 100%.

Agitar en el vortex durante 1 min. 8. Centrifugar a 10 000 rpm durante 15 min. 9. Recuperar el sobrenadante y transferirlo al micro tubo que contiene el

Sobrenadante obtenido de la primera centrifugación. 10. Ajustar el volumen a 2 mL. 11. Proteger de la luz el micro tubo con el extracto y mantenerlo a -20° C, hasta su uso.

## ANEXO 2. CURVA PATRÓN

CONCENTRACION	% DE INHIBICION
0.5	39.54
1	39.04
2	44.2
3	65.11
4	70.9
5	83.75
6	85.45
7	101
8	102.26



### ANEXO 3. CALCULO DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE CON LA TECNICA ABTS

1. Con esta técnica se obtendrán los porcentajes de inhibición para cada muestra, estos se obtienen al comparar los cambios de la absorbancia del control (solvente + ABTS) con respecto a los cambios en la muestra. Una disminución o desaparición del color azul característico del reactivo de ABTS al reaccionar con una muestra, significa que la muestra tiene capacidad de inhibir al oxidante. Este cambio de coloración se indica por una disminución en la absorbancia de la muestra a 734 nm.

$$\% \text{ inhibición} = [(Abs \text{ control} - Abs \text{ muestra}) / Abs \text{ control}] * 100$$

Como se manejan duplicados o triplicados de las muestras se saca un promedio del % de inhibición para cada muestra y la desviación estándar de éste porcentaje para cada muestra también.

Abs. Control= 0.794

	Abs. Muestra	% de inhibición	Promedio % de inhibición
Pozol	0,031	96,09571788	96,76742233
	0,021	97,35516373	
	0,025	96,85138539	
Tascalate	0,367	53,77833753	56,54911839
	0,339	57,30478589	
	0,329	58,56423174	
Pinol	0,06	92,44332494	92,27539882
	0,057	92,82115869	
	0,067	91,56171285	
Atol agrio	0,027	96,59949622	95,75986566
	0,028	96,47355164	
	0,046	94,20654912	

2. A partir del porcentaje de inhibición se calcula:

$$\text{TECELDA} = (\% \text{inhibición} - b) / m$$

POZOL	(96,76742233- 32.441)/9.296	6,919795862
ATOL AGRIO	(95,75986566- 2.441)/9.296	6,811409817
PINOL	(92,27539882- 32.441)/9.296	6,436574744
TASCALATE	(56,54911839- 32.441)/9.296	2,593386229
POZOL DE CACAO FERMENTADO	(96,68345928- 32.441)/9.296	6,910763692

Donde TECELDA es la actividad antioxidante equivalente a trolox en el volumen total de la celda

b es la ordenada al origen

m es la pendiente

3. **TEEXTRACTO DILUIDO = (TECELDA x VOLCELDA) / VOLEXTRACTO LÍQUIDO**

Vol. De celda= 2000µL

Vol. De extracto liquido= 160 µL

	CÁLCULOS	TEEXTRACTO DILUIDO
POZOL	(6,919795862* 2000)/160	86,49744828
ATOL AGRIO	( 6,811409817* 2000)/160	85,14262271
PINOL	(6,436574744* 2000)/160	80,45718431
TASCALATE	(2,593386229* 2000)/160	32,41732787

POZOL DE CACAO FERMENTADO	(6,910763692* 2000)/160	86,38454615
---------------------------------	----------------------------	-------------

Donde TEEXTRACTO DILUIDO es la actividad antioxidante equivalente a trolox del extracto diluido

TECELDA es la actividad antioxidante equivalente a trolox en el volumen total de la celda VOLCELDA ( $\mu\text{L}$ ) es el volumen total en la celda

VOLEXTRACTO LÍQUIDO ( $\mu\text{L}$ ) es el volumen de extracto diluido añadido a la celda

4. **TEEXTRACTO = TEEXTRACTO DILUIDO x FD**

$$FD=(2000/150)=12.5$$

	<b>CÁLCULOS</b>	<b>TEEXTRACTO</b>
<b>POZOL</b>	<b>(86,49744828* 12.5)</b>	<b>1081,218103</b>
<b>ATOL AGRIO</b>	<b>(85,14262271* 12.5)</b>	<b>1064,282784</b>
<b>PINOL</b>	<b>(80,45718431*12.5)</b>	<b>1005,714804</b>
<b>TASCALATE</b>	<b>(32,41732787* 12.5)</b>	<b>405,2165983</b>
<b>POZOL DE CACAO FERMENTADO</b>	<b>(86,38454615* 12.5)</b>	<b>1079,806827</b>

Donde TEEXTRACTO es la actividad antioxidante equivalente al trolox del extracto en metanol obtenido a partir del fruto fresco

TEEXTRACTO DILUIDO es la actividad antioxidante equivalente a trolox del extracto diluido

FD es el factor de dilución (**Volumen final/Volumen de extracto en metanol**)

**$\mu\text{moles equivalentes a trolox} = (\text{TEEXTRACTO} \times \text{VOLEXTRACTO}) / (1000000 \times \text{MFRUTO})$**  gr de fruto fresco

	<b>CÁLCULOS</b>	<b><math>\mu\text{moles equivalentes a Trolox}</math></b>	<b>Milimoles equivalentes de trolox/gr de alimento</b>
<b>POZOL</b>	<b><math>(1081,218103 \times 160) / (1000000 \times 10)</math></b>	<b>276,7918345</b>	<b>27.67</b>
<b>ATOL AGRIO</b>	<b><math>(1064,28278 \times 160) / (1000000 \times 10)</math></b>	<b>272,4563927</b>	<b>27,24</b>
<b>PINOL</b>	<b><math>(1005,714 \times 160) / (1000000 \times 10)</math></b>	<b>257,4629898</b>	<b>25.74</b>
<b>TASCALATE</b>	<b><math>(405,2165983 \times 160) / (1000000 \times 10)</math></b>	<b>103,7354492</b>	<b>10.37</b>
<b>POZOL DE CACAO FERMENTADO</b>	<b><math>(1079,806827 \times 160) / (1000000 \times 10)</math></b>	<b>276,4305477</b>	<b>27.64</b>

Donde TEEXTRACTO es la actividad antioxidante equivalente al trolox del extracto en metanol obtenido a partir del fruto fresco VOLEXTRACTO ( $\mu\text{L}$ ) es el volumen total del extracto en metanol obtenido a partir del fruto fresco

MFRUTO es el peso de fruto fresco a partir del cual se obtuvo el extracto en metanol

#### ANEXO 4. CAPSULA INFORMATIVA DE RADIO

Música de fondo: la chiapaneca.

Todos los días vemos a muchas personas vendiendo pozol o tascalate en las calles, ¿tu consumes estas deliciosas bebidas? Es importante que de ahora en adelante te propongas consumir estas refrescantes bebidas para tiempos de calor, o en épocas de frío te invito a consumir el pinol de cacao y al atol agrio, te preguntarás ¿por qué? Pues tan sencillo! Además de ser las bebidas que nos heredaron nuestros antepasados y que tienen un grande valor cultural, estas bebidas nutritivas tienen antioxidantes naturales.

Seguramente has escuchado hablar de ellos, los antioxidantes ayudan a prevenir el envejecimiento celular, este envejecimiento es provocado por el estrés oxidativo al que sometes al cuerpo con los malos hábitos alimenticios (como el consumo de bebidas gaseosas, embutidos, entre otros), la poca actividad física y el consumo de bebidas alcohólicas, tabaco o drogas. Si no consumes alimentos con antioxidantes este envejecimiento celular llega a dañar de forma irreversible el organismo, presentándose con enfermedades como cáncer, diabetes, hipertensión, entre otras enfermedades.

¿Ahora queda clara la importancia de consumir alimentos que tienen antioxidantes? Todas las frutas y verduras los contienen en diferentes proporciones y como ya te había dicho, de acuerdo a un estudio realizado en la Facultad de Ciencias de la Nutrición y Alimentos de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas, las bebidas como el pinol de cacao, el atol agrio, y el pozol de cacao tienen alrededor de un 90% de capacidad antioxidante y el tascalate un porcentaje de capacidad antioxidante del 56%, así que ya es tiempo de dejar las bebidas carbonatadas y consumir las bebidas que nos heredaron nuestros antepasados.