

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISION DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS



TESIS

Determinación espectrofotométrica del contenido de alicina de los extractos de ajo obtenidos por calentamiento óhmico

Presentado por:

GUADALUPE LINOR PECH DAMIAN

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

Saltillo, Coahuila, México,

Diciembre del 2019

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

Determinación espectrofotométrica del contenido de alicina de los extractos de ajo obtenidos por calentamiento óhmico

Presentado por:

GUADALUPE LINOR PECH DAMIAN

TESIS

Presentada como requisito para obtener el título de:

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

Aprobada por el comité de asesoría:

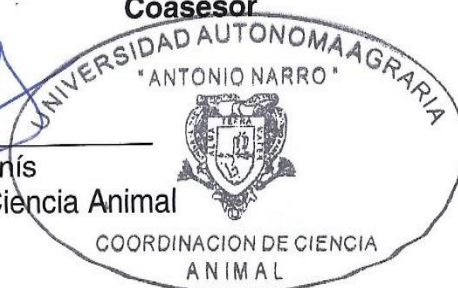
Dra. Dolores Gabriela Martínez Vázquez
Asesor interno

Dra. Judith Amador Hernández
Asesor externo

M.C: Alma Leticia Martínez Herrera
Coasesor

Dra. Ana Verónica Charles Rodríguez
Coasesor

Dr. José Duñez Alanís
Coordinador de la División de Ciencia Animal



Saltillo, Coahuila, México
Diciembre 2019

MANIFIESTO DE HONESTIDAD ACADÉMICA

La suscrita **Guadalupe Linor Pech Damian** alumna de la carrera Ingeniero en Ciencia y Tecnología de Alimentos con matrícula 41154980 y autora de la siguiente tesis manifiesta que:

- 1.- Reconozco que el plagio académico constituye un delito que está penado en nuestro país.
- 2.- Las ideas, opiniones, datos e información publicadas por los otros autores y utilizadas en la presente tesis han sido debidamente citadas reconociendo la autoría de la fuente original.
- 3.- Toda información consultada ha sido analizada e interpretada por el suscrito y redactada según su criterio y apreciación, de tal manera que no se ha incurrido en el "copiado y pegado" de dicha información.
- 4.- Reconozco la responsabilidad sobre los derechos del autor de los materiales bibliográficos consultados por cualquier vía y manifiesto no haber hecho mal uso de ninguno de ellos.
- 5.- Entiendo que la función y alcance de mi comité de asesoría está circunscrito a la orientación de guía respecto a la metodología de la investigación realizada para la presente tesis, así como del análisis e interpretación de mis resultados obtenidos, y por lo tanto eximo de toda responsabilidad relacionada al plagio académico a mi comité de asesoría y acepto que cualquier responsabilidad respecto es únicamente mía.

Atentamente



GUADALUPE LINOR PECH DAMIAN

Tesista

AGRADECIMIENTOS

Con el más profundo amor a mi madre *Irma Damían Ascencio* por ser ejemplo de vida, por todos los años de lucha, cansancio y enseñanzas para procurarme. Porque han sido tus brazos mi consuelo y tu fortaleza de mujer mis cimientos. Porque cada día de mi vida he tenido tu bendición y por siempre confiar en mí e impulsarme a seguir superándome como ser humano.

A mi padre *José Ángel Pech Sarricolea* por los momentos felices, porque solo eso he de tomarle en cuenta, porque me enseñaste a que una mujer vale igual que un hombre incluso en el ámbito laboral.

A mis hermanos *María Victoria, Yolanda del Carmen y José Eduardo* por todo su amor, en especial a mi *Hermana Angelica Lurlina y su familia* por ser parte de esta travesía ya que en cada día transcurrido siempre estuvo apoyándome en todos los sentidos, por nunca dejarme sola. Gracias porque tus formas parte de este logro en mi vida, lo hicimos juntas. Gracias a todos. Los amo.

A la *Dra. Dolores Gabriela Martínez Vázquez* por haberme dado mi primera oportunidad en el área de investigación, ya que me fortaleció con su paciencia y humildad al momento de enseñarme dentro de laboratorio haciendo de ese mundo ante no conocido y temido el más placentero dentro de la universidad. Así mismo por proveerme de todo lo necesario para culminar este trabajo tanto económicamente como intelectualmente.

A mi asesora externa la *Dra. Judith Amador* y mis coasesoras *M.C: Alma Leticia Martínez Herrera y A la Dra. Ana Verónica Charles Rodríguez* porque sin sus conocimientos no hubiera podido lograr la culminación mi tesis. Por su

disponibilidad y por permitirme vencer mis propias deficiencias académicas. Son extraordinarias mentoras.

A las *maestras Carmen Julia, Sarahí, María, Yajaira* y todos los que me han formado como una profesional, gracias por sembrar la semilla en mi corazón de dudas e inquietudes de cosas nuevas por descubrir y comprender.

Gracia a mi institución la Universidad Agraria Antonio Narro por ampliar mis horizontes y darme cimientos firmes.

Alma Terra Mater

A *Guadalupe Rueda Altunar y Gilberto Robledo Morales* por su valiosa amistad y haber compartido todos los momentos importantes que nos unieron. Y por último a mi cuñado *Eddy Aguilera Rodríguez* por su gran corazón capaz de rebasar las distancias más grandes y romper las barras mentales.

DEDICATORIA

A mi *Díos Padre* por ser infinitamente misericordioso conmigo, por haber puesto todo aquello que necesitaba para poder culminar esta etapa, pues no ha hecho falta nada e incluso he tenido más de lo merecido. Gracias porque en cada día le das una nueva razón a mi existencia, porque has sido tu Padre quien ha movido los corazones de quienes me han ayudado y eres la fuente de todo mi bien, mi fuerza, mi alegría y temores. Gracias porque eres tú quien me da este logro, gracias, *por tanto*.

A mi *amado esposo Robert Aguilera Rodríguez* por ser mi compañero de vida, porque de sus palabras ha nacido la razón para recorrer y terminar esta etapa; por haber permitido ser madre, esposa y amiga. Por cada consejo otorgado porque me has hecho resurgir como guerrera dispuesta a luchar ante la adversidad aun si tengo que enfrentarme sola. Gracias por hacerme fuerte, siempre estarás en mí.

A los tesoros más preciados de mi corazón, no alcanzan las palabras para expresarles mi amor; son el complemento perfecto a mi alegría, por ser los cómplices de mis sonrisas, por la paciencia, las locuras, la energía y porque son la luz de mi vida:

Mi hijo José Ángel Aguilera Pech por sus sabio consejos en momentos de angustia y dolor, cada palabra ha sido escuchada, gracias porque trazaste mi camino hacia un nuevo y mejor día.

Mi princesa Isení Dael Aguilera Pech por su incomparable ternura, porque han sido sus manos y su cálida voz mejor que cualquier medicina.

Mi nena María Guadalupe Aguilera Pech, mi pequeña gran guerrera, capaz de vencer hasta la muerte con ayuda divina; ejemplo de humildad y servicio al prójimo e incomparable valentía.

Gracias Dios Padre

“Porque me forjaste en el pasado y me sembraste en mí presente.

Hoy, te dedico mí futuro”

*El camino del hombre es incierto
hasta que es trazado en su corazón
y permitido por el creador.*

*No importa cuánto sufrimiento sienta.
Debe recordar que Dios nunca le dará más
de lo que pueda soportar.*

*Solo tiene que tener clara la meta
no desviarse ni desistir,
aunque caiga cien veces
y fracase otras mil.*

*Cuando llegue el tiempo y la hora
que le permita su propósito alcanzar
estará listo como tierra fértil
para nuevas vidas transformar.*

*“Porque nadie da lo que no tiene,
ni prolifera en lo que nunca siembra.”*

Guadalupe Pech

INDICE GENERAL

RESUMEN.....	1
CAPITULO I.....	2
1.- INTRODUCCIÓN.....	2
1.1 ANTECEDENTES.....	4
1.2 JUSTIFICACIÓN.....	6
1.3 HIPÓTESIS.....	8
1.4 OBJETIVOS.....	8
1.4.1 Objetivo general.....	8
1.4.2 Objetivos específicos.....	8
CAPITULO II.....	9
2.- MARCO TEORICO.....	9
2.1 El ajo.....	9
2.1.1 Taxonomía.....	9
2.1.2 Composición general del ajo.....	9
2.1.3 Variedades.....	11
2.1.4 Composición química del ajo.....	13
2.1.5 Compuestos sulfurados del ajo.....	14
2.1.6 Aliina.....	14
2.1.6.1 Enzima aliinasa.....	15
2.1.7 Tiosulfatos.....	15
2.2 Métodos de extracción.....	17
2.2.1 Variables del calentamiento óhmico (OH).....	23
2.3 Métodos de purificación o separación de mezclas.....	28
2.3.1 Centrifugación.....	28
2.3.2 Extracción en fase solida (SPE).....	28
2.4 Métodos de interés en cuantificación analítica.....	30
2.4.1 Cromatografía.....	30
2.4.2 Fundamento teórico.....	30
2.4.3 Cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC).....	30
2.5 Espectrofotometría UV -visible.....	32

CAPITULO III	34
3.- METODOLOGIA	34
3.1 Localización del área de estudio	34
3.1.1 Micro y macro ubicación	34
3.2 Materiales y reactivos	35
3.3 Selección y preparación de muestra	35
3.3.1 Etapa 1. Pretratamiento de las muestras	36
3.3.2 Etapa 2. Extracción	36
3.3.3 Etapa 3. Método espectrofotométrico	37
CAPITULO IV	39
4.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN	39
5.- CONCLUSIÓN	44
6.- RECOMENDACIONES	44
7.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Partes del ajo.	10
Figura 2. Abundancia de raíces.	10
Figura 3. Ajo tierno o ajete. (inifap, 2009)	11
Figura 4. Ajo perla. (inifap, 2009)	11
Figura 5. Ajo california. (inifap, 2009).....	12
Figura 6. Ajo morado. (inifap, 2009).....	12
Figura 7. Principales compuestos azufrados del ajo (Bravo Días, 2003).	16
Figura 8. Proceso de transformación de la alicina (Lawson, 1993).....	17
Figura 9. Interrelación de variables de la materia prima y OH	24
Figura 10. Componentes de un HPLC. (Plou Gasca & Torres Salas, 2015).	32
Figura 11. Micro y macro ubicación del área de estudio (UAAAN).	34

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición química del ajo. (Zamora, 2016), (Terán Quiroga, 1990) y (CONAJO, 2019).....	13
Tabla 3. Atapas del proceso de SPE.	29
Tabla 4. Resultados de temperaturas, abs y rendimientos, del tratamiento A.	40
Tabla 5. Temperaturas, abs y rendimiento alcanzado por el tratamiento B.	41
Tabla 6. Temperaturas, abs y rendimiento alcanzado por el tratamiento C.	42

RESUMEN

El punto central de esta investigación se basa en la aplicación de tecnologías emergentes como lo es el óhmico, en el análisis de la determinación de la alicina; se ha utilizado dos tratamientos como bases comparativas (A y B) teniendo como variable principal la temperatura antes de la aplicación de dicho método ya que de esta dependen otros factores como el grado de conductividad eléctrica, la reacción enzimática y relación del tiempo del tratamiento con la generación del producto.

La aplicación del método óhmico a 100V para la extracción de alicina no presenta mejores rendimientos que los métodos convencionales, sin embargo, si nos garantiza la calidad del compuesto al estar libre de residuos no aptos para la salud como solventes. Los mejores rendimientos se obtuvieron con las muestras A, donde se sometió a un pretratamiento de reposo el agua destilada por 3:30h sometándolo a refrigeración, durante el tratamiento en el tiempo de 3.5 min se obtiene un rendimiento del 0.10% de alicina siendo este el más alto.

En el tratamiento B se obtuvieron concentraciones mucho más bajas, sin embargo, el mayor rendimiento con el $1.4588E-6$ se obtuvo a partir de los 120s en adelante siendo este valor constante, la temperatura a partir de este tiempo fue en aumento ya que este fue de 34°C hasta llegar a 93°C con un tiempo de 210 s. Este comportamiento nos dice que la máxima cantidad generada de compuesto azufrados como la existencia de sulfuro, principalmente de dalilo, las cuales son sustancias bastante estables, responsables del olor y del sabor del ajo.

El uso de esta tecnología es de gran impacto ya que se reduce el consumo energético, esto comparado con los métodos convencionales de extracción donde se le invierte tiempos prolongados a temperaturas elevada, lo que hace que encarezca su proceso.

Palabra clave: Ajo, Alicina, Calentamiento óhmico, Espectrofotometría.

CAPITULO I

1.- INTRODUCCIÓN

Los indicadores evolutivos de nuestra época son evidentemente muy marcados en todos los ámbitos, desde las necesidades agroalimentarias y tecnológicas, hasta el interés por una mejor calidad de vida. Por consiguiente, nos encontramos ante la necesidad de redireccionar los procesos de investigación a través de tecnologías alternativas que ofrecen la oportunidad de mejorar los procesos convencionales de extracción; a la par se presenta la demanda de los consumidores por productos con estándares de seguridad alimentaria libres de trazas de solventes que puedan repercutir en su salud.

Es inminente maximizar los rendimientos de las materias primas utilizadas y al mismo tiempo se presenta el reto de disminuir los tiempos en la generación de un producto, esta es una de las grandes ventajas que ofrecen las nuevas tecnologías

Hacer uso de los insumos naturales en México con su máximo aprovechamiento y sin dejar secuelas que repercutan en el producto o el consumidor, es una meta fijada en la industria agroalimentaria en donde destaca el cultivar de *Allium Sativum* mejor conocido como “ajo”. Colocándose como uno de los principales bulbos producidos desde hace muchos años en este país por sus diversas propiedades siendo las nutraceuticas uno de las más importantes. Sin embargo, este producto no es aprovechado al cien por ciento presentando pérdidas muy significativas después de la postcosecha, una causa de esta es el almacenamiento, al no ser comercializado por completo sumando a esto el bajo costo y la falta de valor agregado. Por ello el enfoque se traza hacia el aprovechamiento del ajo mediante el uso de extractos que pudieran tener una mayor vida útil, y los cuales no contengan trazas de solventes.

Mirando un panorama exterior y de cómo es proyectado el ajo mexicano en el mundo se encuentran datos desde 1996 en donde se coloca como uno de los diez principales

exportadores. Desde entonces la producción ha ido en aumento siendo muy marcado en el 2016 con un 28.9% en comparación de los 4 años anteriores, alcanzando las 75mil 266 toneladas. Siendo los principales destinos de comercialización Estados Unidos, Austria, Brasil, Francia y Martinica, los cuales representan el 98.9 % de las ventas al exterior de este producto. (Delegación SADER Zacatecas, 2017)

Las propiedades nutraceuticas del ajo se deben a compuestos azufrados entre los que destaca la alicina, también responsable de su olor característico; estos compuestos son muy sensibles y de fácil degradación por consiguiente es de suma importancia el proceso de extracción para poder garantizar un producto de alta calidad e inocuidad. Al implementar la tecnología del calentamiento óhmico como método de obtención de los extractos de ajo se toma en cuenta factores tanto propios del alimento como del sistema ya que en su conjunto radica la efectividad del mismo. Además, se considera que la velocidad de calentamiento es directamente proporcional a la intensidad del campo eléctrico y la conductividad eléctrica del alimento por lo tanto el aprovechamiento de la energía suministrada es entre el 90 y el 95 % de su totalidad.

Adicional al producto obtenido por este método de extracción se suma la mínima pérdida de materia prima ya que las características físicas del ajo permanecen casi intactas permitiendo utilizar los residuos para la generación de otros subproductos.

Teniendo en cuenta que toda ciencia debe ser probada, este proyecto de investigación no es la excepción, haciendo uso de uno de los métodos analíticos más utilizados. Para el análisis del contenido de alicina se toma como herramienta científica la espectrofotometría la cual consiste en una técnica que permite determinar la concentración de un compuesto al momento en que esté absorbe radiaciones electronegativas.

1.1 ANTECEDENTES

El saber popular a lo largo de varias generaciones permitió correlacionar determinadas sustancias naturales con el tratamiento de enfermedades o síntomas concretos. Las primeras preinscripciones conocidas datan de 2100 a.C.; hacia el año 1500 a.C. en las preinscripciones del antiguo Egipto se especificaba el uso de aceite de resino, opio y otros fármacos que siguen utilizándose en la actualidad; en China se enumera el uso de hierbas medicinales para más de 50 enfermedades; y Dioscórides, un cirujano militar griego que vivió en el siglo I, describió más de 600 plantas medicinales que recogió y analizó en sus viajes. (Brenner & Stevens, 2019)

Las plantas medicinales se han utilizado como tratamientos tradicionales para numerosas enfermedades durante miles de años en todo el mundo debido a su contenido en aceites esenciales, flavonoides, terpenos, alcaloides, alditoles o alcohol-azúcares y otros fitoquímicos. En las zonas rurales de los países en desarrollo siguen siendo utilizados como el principal tratamiento de muchas afecciones y hay suficientes evidencias, avaladas por los correspondientes ensayos clínicos, de que extractos de plantas, aceites esenciales y compuestos de origen vegetal purificados tienen capacidades preventivas en los tratamientos de enfermedades orales. Muchos de estos estudios son muy importantes para poder establecer sus beneficios terapéuticos, solos o combinados. (Sánchez Rubio & Rubio Mirón, 2010)

Entre estas plantas medicinales encontramos que el ajo, originario de Asia Central, llegó al Extremo Oriente hace más de 4000 años, fue utilizado como alimento y planta medicinal por todas las civilizaciones establecidas alrededor del Mediterráneo: egipcios, griegos, romanos, árabes, etc.... Tal es su importancia que se le considera actividad farmacología en donde su empleo inhibe la síntesis del colesterol, actuando sobre el grupo sulfhidrilo de la acetil-CoASH. La Alicina presenta también actividad antirradicalaria contrarrestando el proceso oxidativo de las LDL relacionado con la aterogénesis y la formación de trombos. Además, el bulbo de ajo es capaz de reducir la presión arterial, sobre todo debido a la acción diurética de sus fructosanas. (Bravo Días, 2003)

De acuerdo a un artículo de la revista de Agricultura, Ciencia y Tecnología diversos componentes del ajo y extractos de ajo envejecido, incluyendo la alicina y sus metabolitos volátiles, se han de terminado en diversas matrices de cromatografía líquida de alto rendimiento, cromatografía de gases y la espectroscopia HPLC de masas y GC-MS. Afirmado la complejidad de los métodos y los altos costos de inversión. (Wanyika & *et.al*, 2011)

Desde que la FDA en el año 2000 aprobó el uso de tecnologías no térmicas en la industria alimentarias, se buscan soluciones tecnológicas para mejorar la conservación de productos dada la tendencia de alimentos más frescos, ricos y saludables. Actualmente llamadas tecnologías alternativas cuyo tratamiento son eficaces en la preservación de alimentos extendiendo su vida útil, conservando sus características sensoriales, nutricionales y funcionales, además de ahorrar tiempo y energía respecto a los tratamientos convencionales. (CONICET, 2018)

Otros métodos encontrados donde se analiza este compuesto son a través de una refrigeración por 24 h del pure de ajo empapado con agua destilada para posteriormente utilizar una extracción en fase sólida (SPE) de optimización con mediciones de absorbancia a 240 nm y 254nm. En SPE se analiza el volumen de elución con etanol, metanol y agua. (Wanyika & *et.al*, 2011)

1.2 JUSTIFICACIÓN

En México el bajo aprovechamiento del ajo y el uso de solventes para determinar los extractos de manera convencional, se suman a las pérdidas y desperdicios impactan la sustentabilidad de los sistemas alimentarios, reducen la disponibilidad local y mundial de alimentos, generan menores ingresos a los productores y aumentan los precios para los consumidores. Además, tienen un efecto negativo sobre el medio ambiente debido a la utilización no sustentable de los recursos naturales. Por todo lo anterior, enfrentar esta problemática es fundamental para avanzar en la lucha contra el hambre y debe convertirse en una prioridad para los gobiernos. (FAO, 2019)

Es evidente que la situación antes expuesta es de sumo interés para cualquier parte de la cadena productiva, implicando en sí mismo una mejor toma de decisiones de los distintos departamentos e instancias y todos aquellos involucrados con la conservación y maximización de los sistemas alimentarios.

Al mismo tiempo es necesario analizar las características y condiciones bajo las cuales se lleva a cabo el proceso de extracción-purificación y determinar su efecto en el producto generado, esto nos permitirá la mínima pérdida de tiempo y recursos de cualquier índole al momento de su industrialización. Ya que al recopilar la suficiente información y analizar sus datos, se desarrolla una técnica que permite realizar y proteger el comportamiento del proceso-producto (a través del análisis y la experimentación).

Sumado a la fase de experimentación y análisis, como tema de investigación, se añade la importancia de la producción del ajo mexicano en donde al darle un valor agregado puede potencializarse mejores resultados de comercialización a nivel internacional y porque no decirlo, a nivel mundial. Ya que, al contener una sustancia de sumo interés en diversas áreas de la industria, se puede proyectar el incremento de beneficios económicos hacia los productores al existir una mayor demanda del ajo y sus derivados.

A nivel industrial, si los residuos del proceso son idóneos para la generación de nuevos subproductos de grado alimentario que ofrezcan características buscadas por el

consumidor como cualidades organolépticas y nutricionales, se estará implementando una nueva proyección en la construcción de un sector agroindustrial competitivo capaz de prever a largo plazo el desarrollo para las principales cadenas agrícolas del ajo en México y al mismo tiempo la obtención del sector industrial al reducir las pérdidas por medio de la reutilización de residuos.

Por lo anteriormente expuesto, en este trabajo de investigación se plantea el uso de tecnologías emergentes, específicamente el calentamiento óhmico como herramientas seguras al servicio de la ciencia y la industria en sus respectivas áreas de oportunidad. Teniendo como objeto de estudio la determinación del contenido de alicina de los extractos de ajo por espectroscopia de luz ultravioleta.

1.3 HIPÓTESIS

El calentamiento óhmico es una tecnología alternativa adecuada para la obtención de extractos acuosos de ajo con un contenido equivalente de alicina a los métodos convencionales, cuantificada espectrofotométricamente. Un pretratamiento osmótico facilitara la extracción dando mejores resultados.

1.4 OBJETIVOS

1.4.1 Objetivo general

Cuantificar el contenido de alicina de extractos acuosos de ajo obtenidos por calentamiento óhmico, mediante espectrofotometría de luz ultravioleta.

1.4.2 Objetivos específicos

1. Obtención de extractos acuosos mediante el calentamiento óhmico
2. Evaluar el efecto de la temperatura en el rendimiento del contenido de alicina mediante el método de luz ultravioleta reportado por Han y col., 1994
3. Determinar si la tecnología alternativa es viable con respecto a los métodos convencionales

CAPITULO II

2.- MARCO TEORICO

2.1 El ajo

2.1.1 Taxonomía

Ajo (*Allium sativum* L.)

Familia: Liliaceae (Liliácea)

Nombre científico: *Allium sativum* L.

Etimología: El nombre del género *Allium* deriva de la palabra céltica *all*, que significa caliente, picante. El espítelo *sativum* es una contracción de *seminativum*, que significa que se puede sembrar o cultivar.

Nombres comunes en algunos países o idiomas: Knoblauch (alemán); ajo (España); ail (francés); garlic, ramson (inglés); aglio (italiano); alho (portugués).

El ajo es una de las plantas cuyo cultivo se conoce desde la antigüedad, los sumerios ya lo mencionaban desde hace 5000 años. La plana es originaria del sur de Europa, de África mediterránea o de Asia central. Se cultiva en casi todo el mundo, principalmente en climas cálidos y templados. Se emplea como alimento, condimento y medicina tradicional, estas plantas son ricas en azufre e incluso la la infusión concentrada del ajo se recomienda como insecticida entre otras tantas propiedades que le son atribuidas. (Fonnegra Gómez, 2007).

2.1.2 Composición general del ajo

La planta del ajo llega a medir de 30 hasta cerca de 90 centímetros de altura, es una planta herbácea, bulbosa perenne, sus bulbos son odoríferos, sus raíces son adventicias que se localizan entre 5 y 45 centímetros de profundidad, aunque llegan a medir hasta 70 y 80 centímetros de longitud (inifap, 2009). Cada uno de los 'dientes',

así como el bulbo, queda recubierto por una membrana semitransparente. De su parte superior nacen partes fibrosas que enraízan la planta a la tierra y le proporcionan el alimento; se pueden observar estos aspectos físicos en la figura 1 y 2. (Fondo Europeo de Desarrollo Regional, 2019)

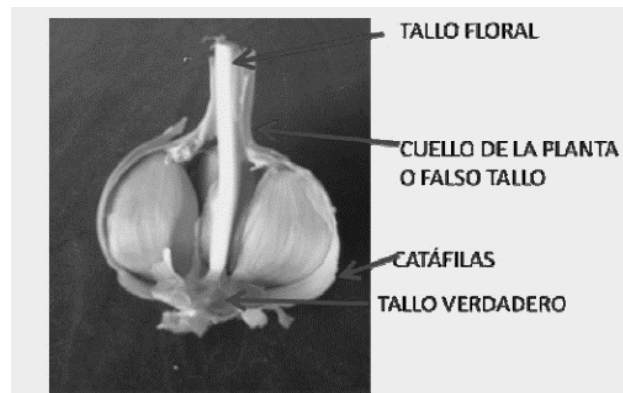


Figura 1. Partes del ajo.



Figura 2. Abundancia de raíces.

2.1.3 Variedades

Ajo tierno

Se trata de la planta en su fase de juventud, a finales de invierno o comienzos de la primavera. Su textura presenta una menor rigidez, mostrándose como un alimento tierno; figura 3.



Figura 3. Ajo tierno o ajete. (inifap, 2009)

Ajo perla

Es una variedad tardía, con ciclo vegetativo de aproximadamente 240 días; sus bulbos son de color blanco cremoso con una cantidad de dientes que varía de 10 a 16, cubiertos por siete túnicas externas en promedio a la cosecha. El rendimiento obtenido es de 16 a 18 toneladas por hectárea.



Figura 4. Ajo perla. (inifap, 2009)

Ajo california

Esta es una variedad de reciente introducción al estado de Aguascalientes, posee un ciclo vegetativo más largo (260 días) que los materiales sembrados tradicionalmente. Produce bulbos de color blanco con un número de dientes que varía de 18 a 26, con un promedio de 22. El rendimiento que alcanza experimentalmente es de 18 a 20 toneladas ton/ha.



Figura 5. Ajo california. (inifap, 2009)

Ajo morado

Esta variedad produce bulbos de color morado, con un promedio de 19 dientes (variando de 11 a 22), los cuales están cubiertos con 5 a 6 capas y su rendimiento medio es de 7 a 8 toneladas por hectárea. Su ciclo vegetativo es de 160 días.



Figura 6. Ajo morado. (inifap, 2009)

Ajo chino

Los bulbos que produce esta variedad son de color morado, con un promedio de 9 dientes (variando de 7 a 13). Tiene un ciclo vegetativo de 160 días y su rendimiento por hectárea es de 7 a 8 toneladas.

2.1.4 Composición química del ajo

El ajo por lo general, sin importar la variedad se encuentra casi en un mismo intervalo de contenido de su composición química. A continuación, se presenta en la tabla 1 en donde se reúne la información de diferentes fuentes, y aun presentando diferente periodo de registro siguen presentando similitudes en los resultados.

Composición química del ajo por cada 100g comestibles

<i>Nutrientes</i>	<i>Zamora ,2016</i>	<i>CONAJO, 2009</i>	<i>Terán, 1990</i>
Agua (%)	59	61	62.5
Proteína	6.4	4 - 6.4	4
Grasa	0.5	0.5	0.2
Carbohidratos (g)	33.1	---	20
Fibra (g)	1.5	----	1.2
Ca (mg)	181	10 – 24	37
P (mg)	153	14 – 195	118
Fe mm(g)	1.7	1.7 – 2.3	0.9
Na (g)	17	---	-----
K (mg)	401	504	-----
Àc. Ascórbico (mg)	31.12	----	13

Tabla 1. Composición química del ajo. (Zamora, 2016), (Terán Quiroga, 1990) y (CONAJO, 2019).

2.1.5 Compuestos sulfurados del ajo

El ajo contiene numerosos componentes activos, entre los que destacan sus compuestos azufrados. Si el bulbo está intacto y fresco, el componente mayoritario identificado es la aliína o sulfóxido de S-alil-cisteína (aminoácido azufrado). La aliína es una sustancia inodora e inestable, pero, además de ésta, en el bulbo intacto se encuentran otros compuestos azufrados solubles en medio acuoso, como son los sulfóxidos S-metil-L-cisteína y S-propenil-S-cisteína, S-glutación, g-glutamyl-S-alil cisteína, y g-glutamyl-S-alil-mercapto-L-cisteína (López Luengo, 2007)

Existe evidencia científica en donde se resalta la importancia de la aliina que por acción de una enzima llamada alianza se transforma el compuesto alicina, el cual es muy inestable y es capaz de descomponerse rápidamente en otros derivados conocidos como sulfuros.

De acuerdo a Bravo Días, 2003 existen sulfuros volátiles, principalmente disulfuro de dalilo, las cuales son sustancias bastante estables, responsables del olor y del sabor del ajo. Ajoenos, entre los que se encuentra tanto el Z y el E-ajoenos y sus derivados metil-ajoeno y dimetil-ajoeno. También reporta otros compuestos como heterósidos azufrados, lectinas y alixinas.

2.1.6 Aliina

De acuerdo a datos reportados (Gómez Gómez, 2008) la aliina es inodora y estable siendo el compuesto de azufre más abundante del ajo fresco siendo su nombre químico S-allilcisteina sulfóxido el cual está compuesto de un grupo alil, un grupo sulfóxilo y cisteína. El ajo entero contiene de 7 a 14 miligramos de aliina por gramo de fresco y de 18 a 42 mg/g de peso seco. Así mismo, cita a Stoll y Seebeek, 1951 en donde afirman que esta sustancia se cristaliza en diluciones de etanol o acetona y es estable en soluciones acuosas y a altas temperaturas, sin embargo, es reportado que cuando las células se rompen, se mezcla con la alianza y en aproximadamente diez segundos, toda la aliina expuesta se convierte en un nuevo grupo de compuestos conocido como alicina.

2.1.6.1 Enzima aliinasa

De acuerdo al Instituto de Biotecnología de la Universidad Autónoma de México las enzimas son proteínas, que catalizan una gran variedad de reacciones químicas en donde la actividad catalítica depende de que mantenga su plegamiento, es decir su estructura tridimensional, en la cual se forman cavidades llamados sitio activo presentando afinidad por las moléculas específicas a los cuales se les conoce con el nombre de sustratos que posteriormente se convierten en un producto. La interacción de grupos funcionales químicos presentes en estas cavidades genera un conjunto de interacciones covalentes y no covalentes que hacen que la conversión de este producto sea favorecida. (Ramírez Ramírez, 1014).

El comportamiento enzimático o su reacción depende de factores propios de la enzima, la rapidez con que reacciona, la cantidad de producto que se genera, entre otras cosas. Para la aliinasa, la actividad enzimática decrece a una temperatura de 42 °C, indicando que la temperatura óptima de activación se encuentra entre 35°C y 37°C y su inactivación se registra entre 42°C y 60°C en donde al rebasar esta temperatura es destruida en su totalidad (Krest & Keusgen, 1999). El valor de pH óptimo para la actividad catalítica de aliinasa es de 6.5.

2.1.7 Tiosulfinatos

El ajo, *Allium sativum* (*Liliaceae*), se ha utilizado como medicamento desde tiempos antiguos debido a las propiedades antimicrobianas de sus componentes, sobre todo la alicina. Se ha demostrado, in vitro, que la alicina es activa contra bacterias grampositivas y gramnegativas, aunque en esta acción parece que también contribuyen los ajoenos y el trisulfuro de dialilo. El ajo es, además, antifúngico, ya que ha demostrado su actividad frente a *Candida* y otros hongos, con una eficacia similar al clotrimazol en la eliminación de los síntomas clínicos de la candidiasis oral. (Sánchez Rubio & Rubio Mirón, 2010).

Cuando los bulbos de ajo se almacenan a baja temperatura, la aliína se mantiene inalterable, mientras que cuando el ajo es machacado o triturado, la aliína se

transforma en alicina y otros compuestos azufrados (tiosulfatos), por la acción de la enzima aliinasa. Estos últimos son muy inestables y se transforman con extrema rapidez en otros compuestos organosulfurados : sulfuro de dialilo, disulfuro de dialilo (mayoritario en la esencia de ajo), trisulfuro de dialilo y ajoenos, todos ellos solubles en medio oleoso. (López Luengo, 2007), (Ledezma, 2006). Figura 7

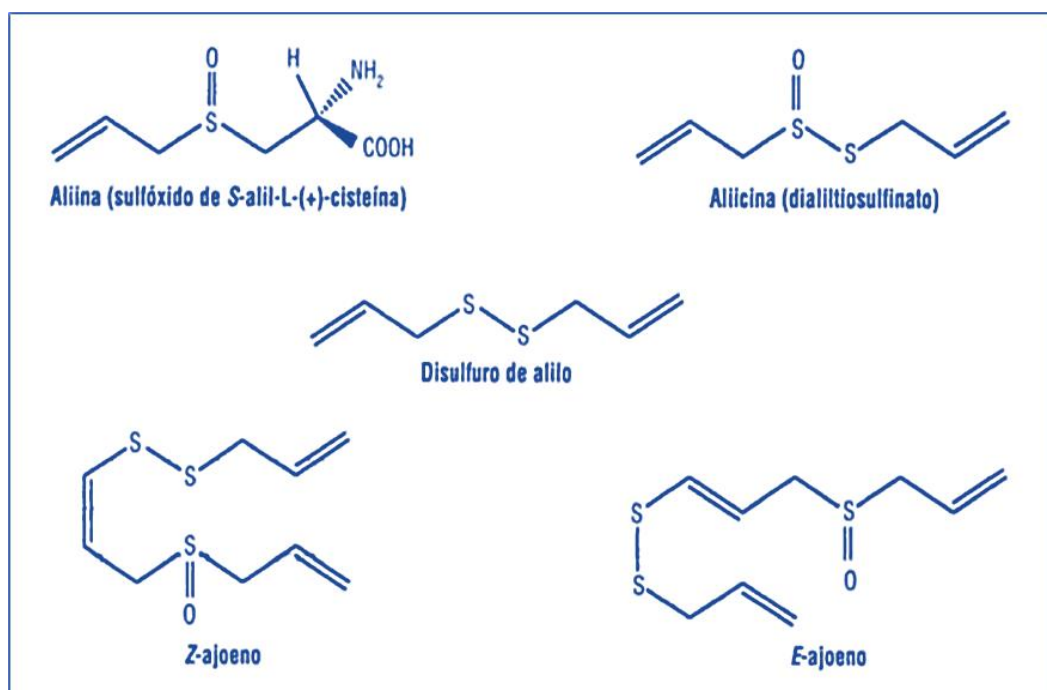


Figura 7. Principales compuestos azufrados del ajo (Bravo Días, 2003).

Otros autores con años de anterioridad como Lawson en 1993 describen el proceso de transformación de la alicina en otros compuestos, teniendo en cuenta que aquí no intervienen ningún proceso enzimático, más bien, es por los medios en donde se encuentre, ya sea agua o solventes en donde la reacción depende de la polaridad. Posteriormente de esta investigación se hace mención que la temperatura también influye y por medio del calor se induce a la degradación de la alicina dando por resultado cuatro compuestos de sulfuro: dialilo de sulfuro, dimetil trisulfuro, de dialilo disulfuro y de dialilo trisulfuro. Figura 8.

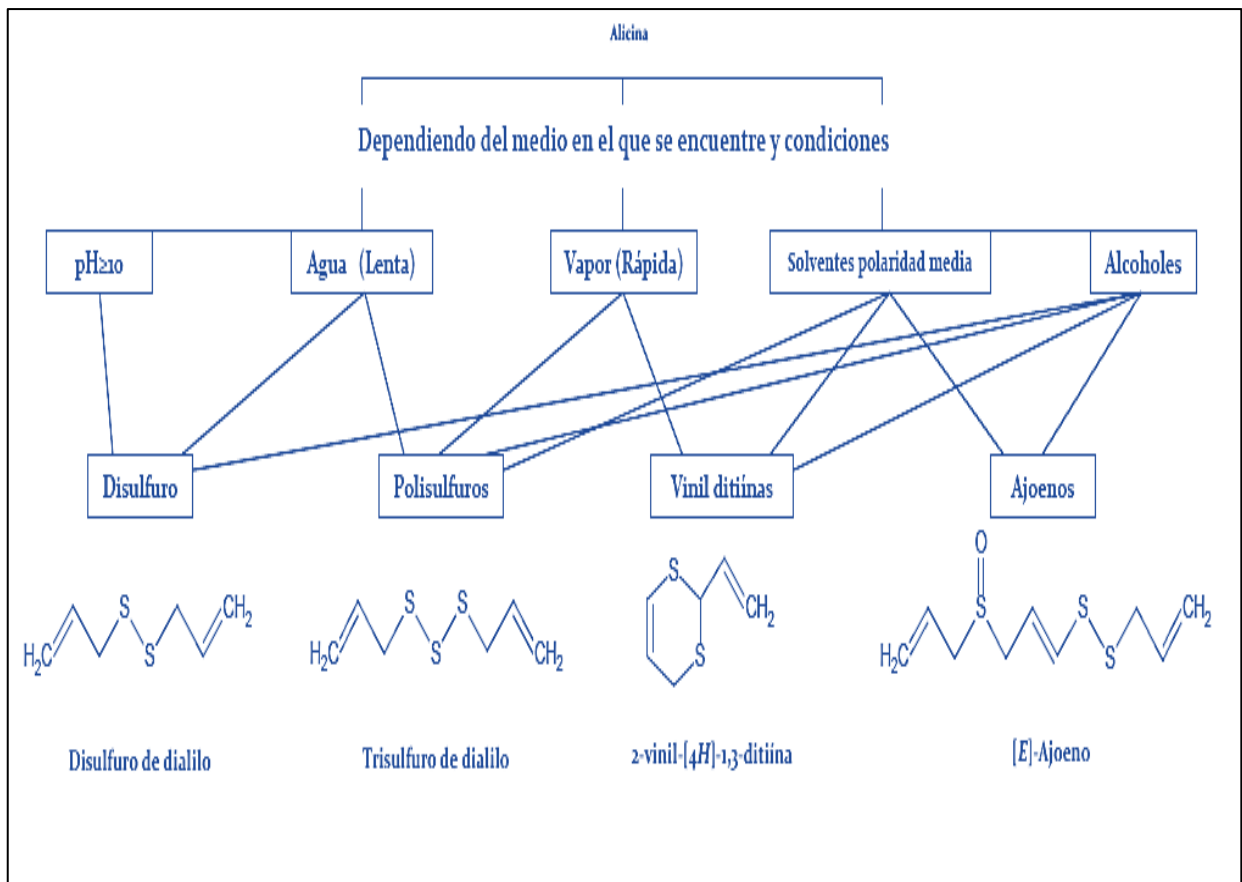


Figura 8. Proceso de transformación de la alicina (Lawson, 1993).

2.2 Métodos de extracción

En las plantas podemos encontrar múltiples compuestos de interés, así como partes comestibles, cascarras, semillas, etc., y cada una de esas partes presenta características particulares con respecto a las otras partes de la misma. En el caso del ajo los principales activos de interés los encontramos en los que comúnmente se llaman dientes de ajo. Por mucho tiempo se han implementado diferentes técnicas de exaración en donde el objetivo principal es el aprovechamiento del producto orgánico para la obtención de compuestos náurales de alto valor añadido para diferentes industrias agroindustriales, ya sea por sus características funcionales, antimicrobianas, antifúngicas y en otros casos, anticancerígenos.

Se puede mencionar que en el siglo XXI se pueden subdividir esos métodos en dos grupos relevantes. El primero generalmente llamados convencionales, en donde se hace empleo de diferentes solventes dependiendo de las condiciones propias del alimento aprovechando las diferencias de solubilidad y por muchos años han sido las más utilizadas; sin embargo, cabe mencionar que los tiempos de extracción son demasiado prolongados y por consiguiente implican la inversión de una gran cantidad de energía entre otros factores. El segundo grupo es conocido como tecnologías emergentes aparecen a finales del siglo XIX y estando en pleno desarrollo en diversas investigaciones para determinar su eficiencia en donde se busca un proceso más completo e integrado, maximizando el aprovechamiento de los recursos existentes y minimizando las pérdidas. Clasificaciones representadas en las tablas 2 y 3.

Por lo general se puede mencionar que los métodos de extracción tanto convencionales como tecnológicos emergentes parten del análisis de los mismos parámetros en los que se destaca: *la temperatura* en donde puede acelerar la reacción y degradar la sustancia de interés al sobrepasar temperatura óptima y re tolerancia; *disolvente*, el cual es tomado en cuenta desde la cantidad hasta la naturaleza ya que cuanto más grande sea el volumen de este más rápido se pueden degradar los compuestos de interés, esto de la mano si es agua, disolventes orgánicos, etc. que presentan a su vez diferentes pH aptos o no al compuesto; y por último se analiza el parámetro o intervalo del *factor tiempo de extracción*, en donde depende de mucho la materia prima como su dureza, superficie de contacto, naturaleza bioactiva como si son hidrosolubles, volátiles, entre otros.

MÉTODO DE EXTRACCIÓN

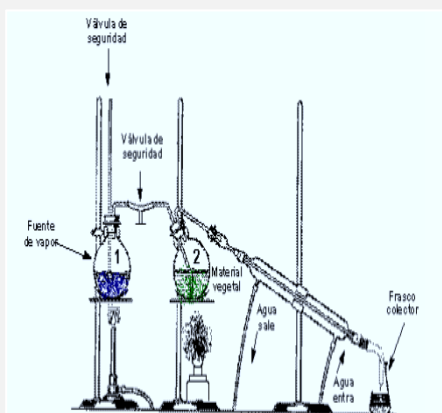
FUNDAMENTO

DISOLVENTES



La extracción con disolventes es la técnica de separación de un compuesto a partir de una mezcla sólida o líquida, aprovechando las diferencias de solubilidad de los componentes de la mezcla en un disolvente adecuado. Constituye una de las técnicas de separación de compuestos más utilizada en el laboratorio químico. (Angurell & Et.Al, 2019)

ARRASTRE DE VAPOR



Se lleva a cabo por la vaporización selectiva del componente volátil de una mezcla formada por éste y otros "no volátiles". Lo anterior se logra por medio de la inyección de vapor de agua directamente en el interior de la mezcla, denominándose este "vapor de arrastre", pero en realidad su función no es la de "arrastrar" el componente volátil, sino condensarse en el matraz formando otra fase inmiscible que cederá su calor latente a la mezcla a destilar para lograr su evaporación. (Z.G., 2001)

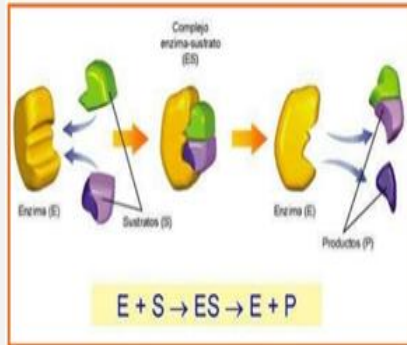
MECÁNICA



Procedimientos separativos mediante la acción de una fuerza mecánica donde un líquido es separado de un residuo sólido. Para aumentar el rendimiento pueden requerir un tratamiento térmico previo, con el que disminuir la afinidad del aceite por las superficies sólidas. Los productos obtenidos pueden ser azúcares, ácidos cítricos,

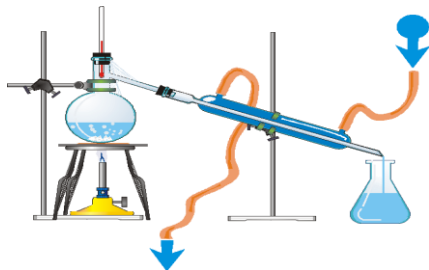
sustancias aromáticas, colorantes, purgantes etc. (CTC, 2003)

ENZIMÁTICA



Se puede definir como la utilización de enzimas como biocatalizadores para obtener un producto a nivel industrial. Al tener una alta especificidad, no es necesaria la utilización de grupos protectores como ocurre con la síntesis química convencional, disminuyendo así las reacciones y aumentando el rendimiento del proceso y por otro lado se reduce la producción de residuos contaminantes. (Rojas Muñoz, 2009)

HIDRODESTILACIÓN



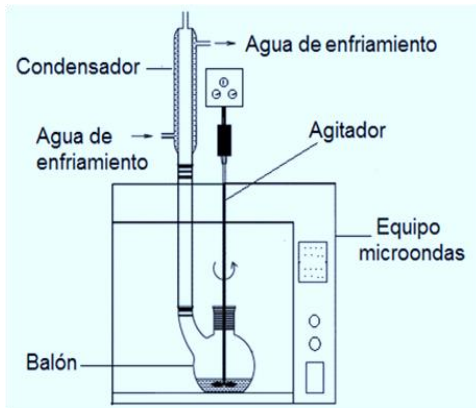
Su principio se basa en llevar a estado de ebullición una suspensión acuosa de un material vegetal en donde los vapores generados se condensan y recolectan. El tiempo del proceso va en función de los componentes presentes y su punto de ebullición. Cabe mencionar que los aromas y colores del producto son más fuertes con respecto a los obtenidos por otros métodos de extracción. (Bandoni, 2000)

Tabla 2. Métodos convencionales de extracción.

MÉTODO DE EXTRACCIÓN

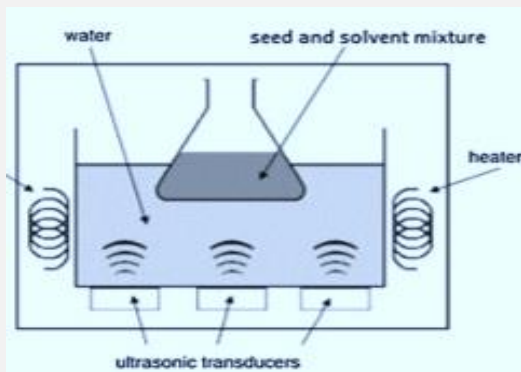
FUNDAMENTO

MICROONDAS



La irradiación por microondas causa el movimiento de las moléculas por migración de iones y rotación de dipolos que contribuyen a una rápida transferencia de energía al solvente y materia vegetal, como consecuencia se tiene tiempos de tratamiento más cortos y un incremento de la calidad del producto. Los productos tratados son por lo general hortalizas, algas, etc. (Leonelli & Mason, 2010)

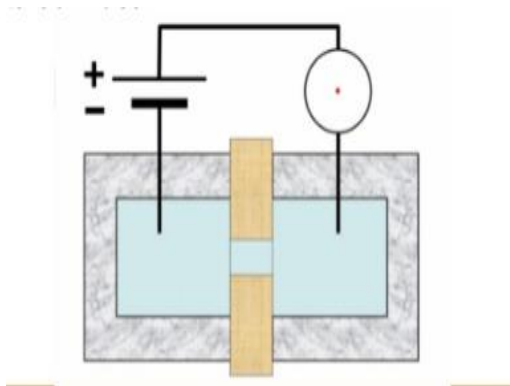
ULTRASONIDO



Esta extracción utiliza sonidos de alta frecuencia, con el fin de desprender el compuesto de interés de un material vegetal, en donde las partículas sólidas y líquidas vibran al mismo tiempo que se aceleran ante la acción ultrasónica. Esto da como resultado que el soluto pase rápidamente al solvente (Azuola & Vargas, 2007). las ondas acústicas inaudibles de una frecuencia generalmente superior a los 20 kHz. Se usan traductores especiales que transforman la energía eléctrica en energía mecánica que se expresa finalmente como ondas sónicas. (Señorans, 2017)

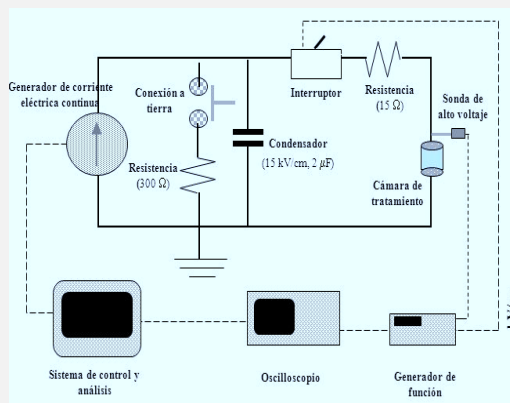
CALENTAMIENTO ÓHMICO

El calentamiento óhmico se produce cuando una corriente eléctrica pasa a



través de un alimento, provocando la elevación de la temperatura interna debido al paso de la corriente eléctrica. Es rápido y tiene mayor capacidad de penetración que las microondas, lo cual hace que sea especialmente útil. Existe un gran número de aplicaciones del calentamiento óhmico que incluyen escaldado, pasterización, esterilización, descongelación, evaporación, deshidratación, fermentación y extracción, entre otras. (Sigala Adame B. , 2019)

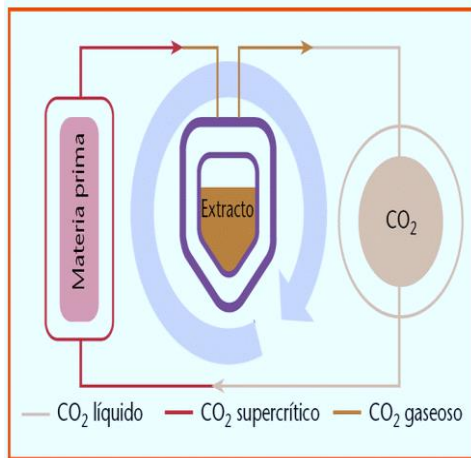
PULSOS ELECTRICOS



Ésta consiste en la aplicación intermitente de campos eléctricos, generalmente de alta intensidad (1–40 kV/cm) y corta duración (μs) a un alimento colocado entre dos electrodos. Estos tratamientos producen el fenómeno conocido como electroporación (aparición de poros sobre la membrana citoplasmática de las células), que resulta en la permeabilización transitoria o permanente de las membranas celulares. (Puértolas & Et.Al, 2012)

Utiliza principalmente dióxido de carbono y agua en donde se puede realizar una extracción incluso selectiva de compuestos variando las presiones del fluido supercrítico. Este último se refiere a

FLUIDOS SUPERCRÍTICOS



cualquier sustancia a una temperatura y presión sobre su punto crítico termodinámico. Así mismo presenta un comportamiento de difusión a través de los sólidos como un gas y de disolución como un líquido.

Tabla 3. Métodos de extracción con tecnologías alternativas.

2.2.1 Variables del calentamiento óhmico (OH)

Para el calentamiento óhmico se ha reportado literatura donde es usado por lo general para preservar alimentos siendo sus principales aplicaciones de esta tecnología para la pasteurización, esterilización, escaldado y descongelamiento. Sin embargo, para el proceso de extracción es necesario tener en cuenta factores que involucren directamente al alimento y su correlación con el sistema a utilizar. En la figura 9 se muestra la interacción de las principales variables a considerar en este trabajo.



Figura 9. Interrelación de variables de la materia prima y OH

2.2.1.1 pH - CE

pH se define como el potencial de hidrógeno negativo de la actividad de iones El hidrógeno (H^+) y se utiliza para evaluar la actividad del ion hidrógeno en cualquier solución sin la necesidad de utilizar números complejos difíciles de entender. El pH tiene una escala de 0 a 14 siendo las soluciones acidas menor a un pH de 7 y las soluciones las que tienen un pH mayor a 7. Por lo tanto, se deduce que un pH de 7 indica una solución neutra.

El pH del medio controla las reacciones químicas que determinan si los nutrientes van a estar o no disponibles (solubles o insolubles) para su absorción. Por tal motivo, los problemas básicos nutritivos más comunes ocurren en los cultivos cuando el pH se encuentra fuera del rango óptimo, para la planta de ajo el pH óptimo se encuentra entre 6 y 6.5. (Barbaro & Et.Al, 2017)

La Conductividad Eléctrica (CE) es la medida de la capacidad de un material para conducir la corriente eléctrica, el valor será más alto cuanto más fácil se mueve la corriente a través del mismo. Esto significa que, a mayor CE, mayor es la concentración de sales. (Barbaro & Et.Al, 2017)

En general, el flujo de electricidad a través de un conductor es debido a un transporte de electrones. Según la forma de llevarse a cabo este transporte, los conductores eléctricos pueden ser de dos tipos: conductores metálicos o electrónicos y conductores iónicos o electrolíticos. A este segundo tipo pertenecen las disoluciones acuosas. En ellas la conducción de electricidad al aplicar un campo eléctrico se debe al movimiento de los iones en disolución, los cuales transfieren los electrones a la superficie de los electrodos para completar el paso de corriente.

La conductividad eléctrica (CE) de una disolución puede definirse como la aptitud de ésta para transmitir la corriente eléctrica, y dependerá, además del voltaje aplicado, del tipo, número, carga y movilidad de los iones presentes y de la viscosidad del medio en el que éstos han de moverse. En disoluciones acuosas, y puesto que su viscosidad disminuye con la temperatura, la facilidad de transporte iónico o conductividad aumentará a medida que se eleva la temperatura. En soluciones acuosas la conductividad es directamente proporcional a la concentración de sólidos disueltos, por lo tanto, cuanto mayor sea dicha concentración, mayor será la conductividad. (Sigala Adame B. , 2019)

2.2.1.2 Tiempo de extracción

El calentamiento óhmico por lo general ocupa tiempos cortos para los procesos que se han implementado en la industria alimentaria permitiendo tener mejores resultados organolépticos, nutricionales e incluso en la vida de anaquel al reducir la carga microbiana por más tiempo o similares los métodos convencionales, donde por lo general usan tiempos prolongados y al momento de alcanzar la temperatura deseada hay que suministrarle una corriente con bajas temperaturas lo cual implica un trabajo extra.

Si se toma en cuenta que en este proceso es desarrollado para la extracción de compuestos bioactivos generados por una reacción enzimática, es de suma importancia el tiempo de suministro de energía eléctrica buscando el comportamiento en la generación del producto deseado ya que no se encuentran reportes que den luz a datos similares, por lo cual se pretende analizar. Sin embargo, se puede proveer que efectivamente el tiempo será menor que en los métodos convencionales por el comportamiento intramolecular.

2.2.1.3 Voltaje (V) - Efecto Joule

Actualmente conocemos varios tipos de energía de las cuales hacemos uso cotidianamente, como la mecánica, cinética, potencial, térmica eléctrica, tan solo por mencionar las más comunes. De entre estas, la energía eléctrica es utilizada después de ciertas transformaciones como calor e iluminación distribuyéndose con gran facilidad. Pero ¿qué es una corriente eléctrica? Se puede mencionar que es un flujo de electrones que poseen la misma carga negativa, donde los electrones al formar parte de los átomos y estando en buenos conductores, los que están en la capa externa se liberan para saltar a otro en donde posee más cargas positivas. De esta forma se desplazan saltando de un extremo a otro conductor generando así una corriente eléctrica.

La etimología del nombre voltio se deriva de Alessandro Volta, quien en 1799 inventó la pila voltaica, la primera batería electroquímica. La electricidad se define como el flujo de electrones a través

de un conductor. Cuando los electrones fluyen de una fuente colectora a través de un conductor, se crea una corriente eléctrica, la cual se mide en amperios (A). La fuerza que causa el flujo de electrones es el voltaje y se mide en voltios (V). Cualquier cosa que impida el flujo de electrones a través del conductor crea una resistencia, que se mide en ohmios (Ω) (carlos & Carvajal, 2015)

El efecto Joule es el desprendimiento de calor en un material provocado por el movimiento de los electrones al paso de la corriente eléctrica. Así pues, este efecto permite convertir la energía eléctrica en calor. Es, por tanto, la propiedad que permite el funcionamiento tanto de aparatos domésticos como industriales. Actualmente se desarrolla y producen nanomateriales basados en carbono que incorporados a diferentes materiales incrementan su conductividad eléctrica. De esta forma, se obtienen polímeros (que por su propia naturaleza son aislantes eléctricos) con diferentes valores de conductividad eléctrica, desde disipadores (propiedades antiestáticas) hasta altamente conductores. La gran ventaja asociada a este incremento en la conductividad eléctrica de los materiales para aprovechar el calor generado es la reducción del consumo energético ya que son materiales con mayor eficiencia energética con un efecto Joule que permite generar una mayor cantidad de calor, reduciendo por tanto el consumo de energía. (Applynano, 2019)

El efecto Joule no solo es utilizado en el área doméstica e industrial, sino a nivel laboratorio es una herramienta necesaria en muchos procesos experimentales, como por ejemplo se incursiona el empleo de este para la extracción de compuesto de alicina y sus derivados por medio del calentamiento óhmico.

2.2.1.4 Superficie de contacto

En reacciones químicas la velocidad de reacción aumenta con el área de la superficie, esto es debido a que entre más partículas estén, más de estas expuestas son alcanzadas por moléculas reactantes. Para el proceso de extracción por medio óhmico es importante considerar las condiciones de la materia prima, en donde hay que recordar que la estructura física del ajo se presenta por capas en donde se encuentran

separada la aliina y la alinasa por lo que es necesario una ruptura de estos tejidos, además reducir el tamaño de partículas del ajo aumenta las partes expuestas al sistema eléctrico y por consiguiente aumenta su velocidad de extracción.

2.3 Métodos de purificación o separación de mezclas

2.3.1 Centrifugación

La centrifugación es una técnica de separación que se utiliza para aislar o concentrar partículas suspendidas en un líquido aprovechando la diferente velocidad de desplazamiento según su forma, tamaño o peso al ser sometidas a una fuerza centrífuga.

La fuerza centrífuga es la que se ejerce sobre un cuerpo cuando éste gira alrededor de un eje. Esta fuerza, cuya magnitud es directamente proporcional a la masa del cuerpo, el radio de giro y la velocidad de giro (o angular), es perpendicular al eje y tiende a alejar el cuerpo del mismo. La fuerza centrífuga puede acelerar el proceso de sedimentación de partículas que tienen tendencia a hacerlo espontáneamente (densidad superior a la del líquido), o en aquellas que tienden a flotar (densidad inferior a la del líquido). En este sentido, la tecnología actual permite llegar a fuerzas de centenares de miles de veces la fuerza de la gravedad ('1g' es aproximadamente la fuerza centrífuga generada por un rotor de 25 cm de radio girando a una revolución por Segundo). (Sadoth Sandoval & Et.Al)

2.3.2 Extracción en fase solida (SPE)

Es una técnica que permite concentrar y separar un analito, catiónico o aniónico de una matriz compleja, mediante una fase sólida estacionaria. Como resultado, se elimina la matriz interferente, no retenida y, el analito se puede analizar con la mejor sensibilidad posible, mediante la técnica analítica adecuada, evitando el riesgo de las interferencias de matriz.

En los últimos años se ha hecho también muy popular la Retención de Componentes Matriz. En este caso, el adsorbente elegido se utiliza para retener componentes no deseados de una matriz sin afectar los analitos de interés. De nuevo, conseguimos una mejora en la sensibilidad del análisis de la muestra al eliminar especies potencialmente interferentes. (Peña & Et.Al., 2003)

Esta técnica se utiliza principalmente en la industria alimentaria. En ambos casos, el adsorbente se utiliza en cartuchos o columnas de cromatografía iónica que puedan admitir cantidades variables de muestras sin procesar. Un método SPE consta generalmente de cuatro etapas explicadas en la tabla 3.

1. ACONDICIONAMIENTO	Preparación del adsorbente para procesar la muestra
2. RETENCIÓN	Filtrar los analitos deseados o los componentes no deseados
3. ACLARADO	Arrastre por lavado de cualquier elemento no deseado que haya sido retenido simultáneamente.
4. ELUCIÓN	Desorción selectiva y recogida del analito de interés.

Tabla 2. Atapas del proceso de SPE.

Para usar eficazmente un método SPE debe elegir adecuadamente el tipo y volumen del cartucho o columna, el adsorbente y la cantidad del analito. Normalmente, la capacidad de retención total (incluidos interferentes) de un cartucho o columna es aproximadamente el 5% del peso adsorbente. (Peña & Et.Al., 2003)

2.4 Métodos de interés en cuantificación analítica

2.4.1 Cromatografía

La cromatografía comprende un conjunto de técnicas que tienen como finalidad la separación de mezclas basándose en la diferente capacidad de interacción de cada componente en otra sustancia. De forma general, consiste en pasar una fase móvil (una muestra constituida por una mezcla que contiene el compuesto deseado en el disolvente) a través de una fase estacionaria fija sólida. La fase estacionaria retrasa el paso de los componentes de la muestra, de forma que los componentes la atraviesan a diferentes velocidades y se separan en el tiempo. Cada uno de los componentes de la mezcla presenta un tiempo característico de paso por el sistema, denominado *tiempo de retención*. Cuando el tiempo de retención del compuesto deseado difiere del de los otros componentes de la mezcla, éste se puede separar mediante la separación cromatográfica. (Plou Gasca & Torres Salas, 2015).

2.4.2 Fundamento teórico

La separación de los diferentes componentes de una mezcla que se encuentran en un líquido o gas es el resultado de las diferentes interacciones de los solutos a medida que se desplazan alrededor o sobre una sustancia líquida o sólida (la fase estacionaria). Las diversas técnicas para la separación de mezclas complejas se fundamentan en la diversidad de afinidades de las sustancias por un medio móvil gas o líquido y un medio absorbente estacionario (papel, gelatina, alúmina o sílice) a través del cual circulan. (Bayo & Yusa, 2016)

2.4.3 Cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC)

Se suele denominar HPLC, y es una forma de cromatografía en columna que se utiliza a menudo en bioquímica y química analítica. La muestra problema es forzada a pasar a través de una columna (fase estacionaria) por un líquido (fase móvil) a elevada presión, lo que disminuye el tiempo que los componentes separados permanecen en la fase estacionaria, y por lo tanto, el tiempo de difusión dentro la columna. En la salida de la comuna existe un detector que indica la cantidad de soluto que está saliendo.

Este proceso de difusión dentro la columna comporta la aparición de picos anchos y pérdida de resolución. El hecho de estar menos tiempo en la columna se traduce en picos más estrechos en el cromatograma resultante, así como una mayor resolución y sensibilidad. (Plou Gasca & Torres Salas, 2015)

Otra manera de disminuir el tiempo que la muestra está dentro de la columna es utilizar un gradiente de disolventes, que consiste en cambiar la composición de la fase móvil a fin de acelerar la salida de la muestra del interior de la columna. Se pueden considerar dos tipos:

Fase normal. Se utiliza una fase estacionaria polar y una fase móvil apolar, y se usa principalmente cuando la muestra a analizar es de naturaleza apolar. Fue el primer tipo de HPLC, pero hoy en día ha sido muy desplazado por la fase reversa.

Fase reversa. Se desarrolló debido al elevado número de biomoléculas polares. La fase estacionaria es apolar y la fase móvil polar. Una de las fases estacionarias más empleadas es sílice tratada con RMe_2SiCl , donde R es una cadena alquílica como $\text{C}_n\text{H}_{2n+1}$. En este caso, para una determinada sustancia, el tiempo de retención aumenta con la polaridad de la fase móvil.

De acuerdo a Gasca y Torres 2015, los principales componentes o básicos de un equipo de cromatografía líquida de alta resolución debe disponer de al menos los siguientes módulos: 1) reservorios o botellas para la fase móvil, 2) sistemas de bombeo, 3) inyector ya sea manual o automático, 4) columna, 5) uno o varios detectores en serie, 6) sistema de tratamiento de resultado y 7) botella de residuos. La representación gráfica o ensamblamiento se ve representado en la figura 10.

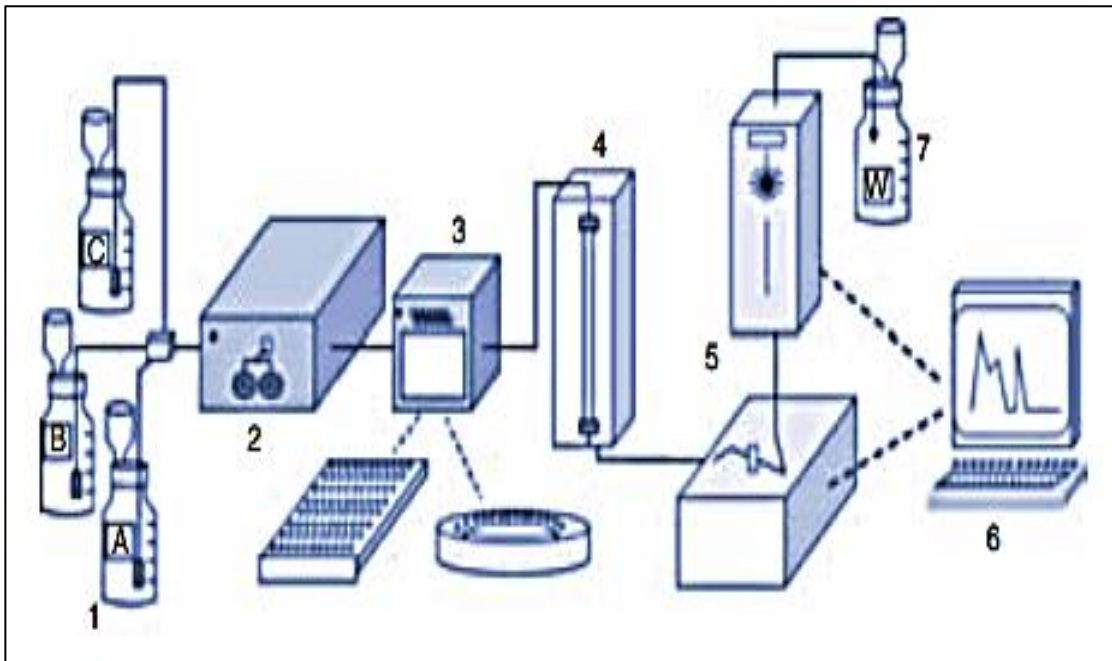


Figura 10. Componentes de un HPLC. (Plou Gasca & Torres Salas, 2015).

2.5 Espectrofotometría UV -visible

El estudio a nivel bioquímico de cualquier biomolécula requiere la utilización de técnicas analíticas que permitan su determinación cualitativa y cuantitativa, así como su caracterización físico-química y biológica. Uno de los métodos más sencillos, accesibles, útiles y utilizados es la espectroscopía, en general, y la espectroscopía ultravioleta-visible, en particular. Se pueden identificar y cuantificar biomoléculas en solución y en muestras biológicas, con el empleo 1 de reactivos específicos que reaccionan con el compuesto a analizar y forman un producto coloreado que permite detectarlo en muestras complejas. (Abril Díaz & Et.al., 2010).

La espectroscopía es un conjunto de técnicas instrumentales de análisis que se basan en la interacción de la radiación electromagnética con la materia. Las técnicas ópticas son técnicas espectroscópicas que utilizan la radiación electromagnética. Esta radiación electromagnética es una forma de energía transmitida por el espacio a gran velocidad. El espectro electromagnético es el conjunto de radiaciones electromagnéticas ordenadas según su longitud de onda, frecuencia o energía. La

radiación electromagnética es una combinación de campos eléctricos y magnéticos alternos que viajan por el espacio con un movimiento de onda. Cuando la luz (energía) es absorbida por una molécula, se produce un salto desde el estado energético fundamental (E1) a un estado excitado (E2). Cada molécula posee una serie de estados excitados o bandas características, que son distintas al resto de las moléculas. (Martelo Vidal, 2014)

Este método analítico tiene una gran utilidad debido a la elevada sensibilidad del método, así como la sencillez para detectar una molécula. Esta identificación puede considerarse como una huella dactilar de identificación de dicha sustancia. en la región visible se aprecia el color de la disolución, que corresponde con la longitud de onda de la luz transmitida, es decir, que no se absorbe es el color complementario del color inicial. Está basado en el proceso de absorción por las moléculas de la radiación ultravioleta-visible entre 190 nm y 780 nm. El espectro electromagnético se divide en varias regiones espectrales que abarcan un intervalo continuo de longitudes de onda o frecuencias. (Roca & et.al, 2004)

CAPITULO III

3.- METODOLOGIA

3.1 Localización del área de estudio

El presente trabajo de investigación se realizó en el laboratorio de Bioprocesos del Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

3.1.1 Micro y macro ubicación

Carretera La Calzada Antonio Narro 1923, Col. Saltillo, Coahuila, México; con coordenadas en Latitud Norte 25°21'13" y Longitud Oeste 101° 01'56".(figura 11)

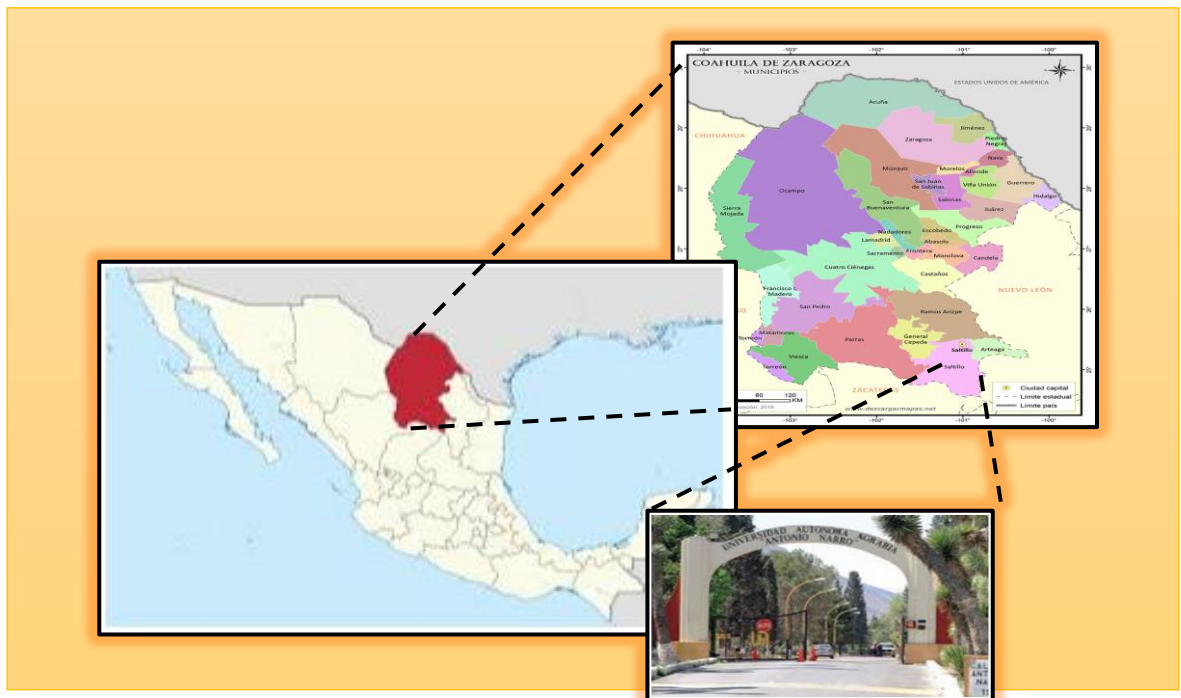


Figura 11. Micro y macro ubicación del área de estudio (UAAAN).

3.2 Materiales y reactivos

La materia prima analizada es una variedad de ajo morado obtenido del ejido Rinconada ubicada en el estado de Nuevo León en las coordenadas al Norte 27°47', al Sur 23° 10' de Latitud Norte, al Este 98° 24' y al de Oeste 101° 12' de longitud Oeste.

Materiales y equipos utilizados. Estufa Since 1889 Yamato®, Balanza analítica Ohaus®, matraz de afloración (100mL y 250mL), vasos precipitados (50mL, 250mL, 500mL y 1L), pinzas de ajuste y soportes universal, pipetas (1mL, 5mL y 10mL), Cables calibre 12, Placas de acero inoxidable, calibrador o pie de rey, espectrofotómetro VELAB, Bomba de vacío marca BIOBASE, aguja de acero inoxidable de 7.5 cm (adaptada), centrifugadora marca UNICO modelo C8624, celda de cuarzo, tubos de ensayo, refrigerador Y VOLTMETER EVM-3.

Reactivos. Etanol puro, agua desionizada, biodestilada y destilada, L -Cysteine de la marca Sigma Aldrich, Trizma® hydrochloride, Scientific™ DTNB (reactivo de Ellman), n-hexano y Thermo Scientific™ Cartucho HyperSep™ C18 con peso del lecho de 5 g.

Todos los materiales, equipos y reactivos fueron proporcionados por la UAAAN a través del Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos.

3.3 Selección y preparación de muestra

El peso total de la materia prima ya pelada sin las catáfilas fue de 687g, con un diámetro promedio ecuatorial de 4.3 cm, de 31 a 36 bulbillos por cabeza de ajo. De estos se separó 18g de dientes en condiciones no aptas para el proceso (daños fisiológicos y mecánicos) correspondiendo al 2.62% del total. Todas las muestras analizadas fueron en fresco. Cabe mencionar que todas las muestras presentaron la misma proporción de 4:1 de agua-ajo respectivamente. Las muestras presentan una preparación de tres etapas.

3.3.1 Etapa 1. Pretratamiento de las muestras

Los dientes de ajo fueron pelados y colocados dentro un contenedor hermético en un refrigerado andes de someter a tratamiento (cada uno se realizó por separado desde el pelado hasta la lectura por espectrofotometría UV-visible)

1. Muestras A

Se pesaron 8 muestras por triplicado de 10 g de dientes de ajo cortados y colocados en 40mL de agua destilada a 5°C, las cuales se dejaron en reposos durante 3:5 h bajo refrigeración. Los ajos al momento del corte habían alcanzado internamente los 4°C. las muestras fueron colocadas en vasos de precipitado de 100 mL y sellados con papel film hasta el momento de su uso.

2. Muestras B

Para estas muestras solo se pelaron los dientes de ajo, se pesaron 8 muestras por triplicado de 10g los cuales se cortaron inmediatamente y se colocados en 40 mL de agua destilada a temperatura ambiente (21°C) para iniciar el proceso de extracción.

3. Muestra C.

Se preparó una muestra con 100 g de ajo cortado (después de su peso) con 400 mL de agua destilada a temperatura ambiente, también tratada inmediatamente por extracción óhmica

3.3.2 Etapa 2. Extracción

3.3.2.1 Método Óhmico

Las muestras A y B se sometieron a un tratamiento óhmico con intervalos de 30 s iniciando de una muestra sin tratamiento hasta los 3.5min, de cada muestra tratada se tomó una alícuota de 10mL la cual fue colocada en baño de agua fría 10°C hasta su utilización (aproximadamente 20min). Se aplico 100V en general a las muestras por medio de dos placas conductoras.

Para la muestra C se utilizó el mismo voltaje con un tiempo total de 2hrs de tratamiento de extracción, en donde se tomaron alícuotas de la misma (por triplicado) con intervalos de tiempo de 10min, 20min, 30min y 40min; de este tiempo se volvieron a tomar muestras hasta los tiempos de 1:30, 1:40 y 2 hrs alcanzando en esta última el punto de ebullición.

3.3.2.1 SPE

La extracción en fase sólida consta de cuatro etapas fundamentales

- a) Acondicionamiento. Se realizó antes de preconcentrar la muestra, adicionando al soporte un volumen de 3 mL de n- hexano siendo a fin con la fase estacionaria del C₁₈ para que las cadenas del octadecilo se extiendan, posteriormente se agregó 5mL de metanol puro para generar una interfase entre la matriz de la muestra y el adsorbente. Finalmente se colocó 10ml de agua desionizada.
- b) Adsorción. La alícuota de 10mL fue centrifugada por 10 min a 4500 rpm, la cual se pasó a través del soporte C₁₈.
- c) Lavado. Se aplicó 10 mL de metanol al 3% V/V para eliminar interferencias coadsorbidas en la fase sólida.
- d) Elución. Los analitos de interés fueron removidos mediante la adición de 3mL de metanol puro como disolvente.

3.3.3 Etapa 3. Método espectrofotométrico

Para el análisis de muestras se tomó 5mL de L-cysteine a 10 μ M en un buffer de Tris-HCL a 50 μ M (pH 7.5), esta se le agregó 1mL del extracto generado por SPE; la mezcla generada se tomó 1mL para ser diluida en 99mL de agua bidestilada; de dicha dilución se ha tomado 4.5mL al cual se le adicionó 0.5ml de DTNB a 1.5 μ M preparado con Tris-HCL buffer a 50 μ M (pH 7.5). Posteriormente se dejó reaccionar por 15min para ser leídas a 412 nm de absorbancia. Para el blanco se sustituyó el mL del extracto recaudado por 1 mL de agua bidestilada.

La concentración de alicina total se ha determinado por la siguiente fórmula:

$$\Delta A_{412} = A_o - A$$

$$C_{\text{alicin}} \text{ (mmol/mL)} = (\Delta A_{412} - \beta) / (2 * 14.150)$$

Donde

A_o = Absorbancia del blanco

A = Absorbancia de la muestra

β = Dilución de L-Cistina

14.150 = Coeficiente de extinción del NTB

CAPITULO IV

4.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El proceso de acondicionamiento de las muestras es de vital importancia para cualquier método o proceso de extracción del analito de interés y debe partir del conocimiento de las características propias, tanto de la materia prima como del sistema a utilizar. En el análisis de la determinación de la alicina se ha utilizado dos tratamientos como bases comparativas (A y B) teniendo como variable principal la temperatura ya que de esta dependen otros factores como el grado de conductividad eléctrica, la reacción enzimática y relación del tiempo del tratamiento con la generación del producto.

De acuerdo a las bases antes expuestas por Sigala (2019) y Barbaro *et al.*, (2017) se comprende que, al reducir la temperatura del agua destilada, también se reduce la conductibilidad ya que es inversamente proporcional a la viscosidad, además de tomar en cuenta que el ajo presenta un pH de 6 a 6.5 se puede afirmar que también reduce la reacción enzimática y por consiguiente el tiempo de degradación del producto (alicina).

En la tabla 4 se plasman los resultados obtenidos presentando dos observaciones destacadas.

1) El tiempo 0 (sin tratamiento óhmico) presenta una temperatura inicial de 11 °C en donde ya se presenta una absorbancia de 0.191nm, lo cual demuestra que se ha iniciado la transformación de la aliina; el valor de la absorbancia se incrementa ascendentemente en los siguientes tres tiempos de tratamiento (30, 60 y 90 s), probablemente estos valores corresponden al compuesto de alicina debido a que hay datos preliminares donde se reporta la desnaturalización de la enzima aliinasa por método de liofilización, sin embargo se logra su inactivación por medio de ultracongelación (a -80 °C) para posteriormente refrigerarlas a entre 0 °C y 4 °C por 12 h logrando su descongelación y luego dejarlas hasta alcanzar temperatura

ambiente por 20min para toma de muestras; este método fue reportado como el mejor para conservación y dando los mejores resultados de presencia de alicina determinado por HPLC, teniendo solo un 0.2% de desviación estándar con respecto a muestras frescas. (Díaz J. & Jiménez L., 2008)

2) Es posible que en los tiempos de tratamiento de 120s y 150s sea cuando se lleve a cabo la degradación de la alicina para transformarse su respectivos derivados por acción de la temperatura y al mismo tiempo se efectúa la degradación enzimática por efecto térmico. Para la alicina, la actividad enzimática reportada decrece a una temperatura de 42 °C, indicando que la temperatura óptima de activación se encuentra entre 35°C y 37°C y su inactivación se registra entre 42°C y 60°C en donde al rebasar esta temperatura es destruida en su totalidad (Krest & Keusgen, 1999). Siendo en el método experimental el tiempo de tratamiento de 90s el que presenta la máxima tolerancia enzimática a la temperatura.; por lo cual decrece la curva de comportamiento para posteriormente aumentar, es lógico teniendo en cuenta que los derivados del analito original son captados a la misma línea de absorbancia.

Tiempo S	Temperatura °C	Abs (nm)	Rendimiento %
0	11	0.191	0.024
30	22	0.248	0.031
60	30	0.276	0.035
90	34	0.595	0.075
120	44	0.587	0.074
150	50	0.519	0.066
180	55	0.659	0.083
210	85	0.796	0.10

Tabla 3. Resultados de temperaturas, abs y rendimientos, del tratamiento A.

En el tratamiento B se obtuvieron concentraciones mucho más bajas, sin embargo, el comportamiento de las absorbancias es lo interesante, pues me describe ligeramente el comportamiento de los datos del tratamiento A solo que en estos datos en el tiempo de 90s se alcanza una temperatura de 31°C y bajando la concentración de analito detectados para después incrementarse y permanecer constante a 0.301 de abs. Este comportamiento me dice que la máxima cantidad generada de compuesto azufrados fue alcanzada a una temperatura de 34°C en un tiempo de 2 min. Asimismo, delata que los derivados de la alicina son tolerantes a temperatura altas, esto corrobora la información de Bravo Días (2003) donde menciona la existencia sulfuro, principalmente de dialilo, las cuales son sustancias bastante estables, responsables del olor y del sabor del ajo. Tabla 5

En la figura 9 de la literatura se observa el proceso de transformación de la alicina reportado por Lawson (1993) donde se muestran los derivados de la alicina resultado cuatro compuestos de sulfuro: dialilo de sulfuro, dimetil trisulfuro, de dialilo disulfuro y de dialilo trisulfuro.

Tiempo S	Temperatura °C	Abs nm	Rendimiento %
0	21	0.003	1.454E-08
30	24	0.057	2.7626E-07
60	27	0.166	8.0455E-07
90	31	0.113	5.4767E-07
120	34	0.301	1.4588E-06
150	75	0.301	1.4588E-06
180	86	0.301	1.4588E-06
210	93	0.301	1.4588E-06

Tabla 4. Temperaturas, abs y rendimiento alcanzado por el tratamiento B.

La tabla 6 contiene los valores de una sola muestra a la que se le aplicó por más tiempo el suministro de energía y de las cuales se tomaron alícuotas en diferentes tiempos. En los resultados podemos observarlas temperaturas se van incrementando constantemente de acuerdo al tiempo de extracción, los datos obtenidos de sus absorbancias no presentan variación significativa. De esta forma se comprueba que nos basta con tener un buen método de cuantificación analítica ya que, por este, se han revelados estudios realizados a aceites de ajo, tabletas y ajo en polvo en donde el contenido de alicina es superior en el aceite siendo de 61.15 % basado en el método espectrofotométrico y de 76.39% con el HPLC. También se rebela que el método de GC no es adecuado para la cuantificación de alicina, mientras que el método espectrofotométrico era el más simple y conveniente para los productos de ajo sólido y el HPLC fue más preciso en los productos, específicamente en líquidos. (Zhou & Et.Al, 2015)

Tiempo	Temperatura °C	Abs (nm)	Rendimiento %
0	21	0.031	1.50246E-07
10min	24	0.04	1.93866E-07
20min	27	0.044	1.64786E-07
30min	31	0.039	1.8902E-07
40min	34	0.03	1.69633E-07
1:30h	75	0.038	1.84173E-07
1:40h	86	0.042	2.0356E-07
2h	93	0.042	2.0356E-07

Tabla 5. Temperaturas, abs y rendimiento alcanzado por el tratamiento C.

Respecto al contenido de alicina en el ajo reportan que por los métodos convencionales como hidrodestilación de ajo fresco se obtiene un 0.38% estando dentro de parámetros de rendimiento (0.12 % -0.53%) ya antes reportados; sin embargo en ajo seco, liquido residual y destilación por calentamiento óhmico se obtuvieron rendimiento de 0.026%, 0.029% y 0.019% respectivamente. Teniendo como objeto de método analítico la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) (Ramírez Pérez, 2019). Estos datos son similares a los obtenidos en el primer tratamiento en donde varían de 0.024% a 0.10% de acuerdo al tiempo de extracción.

El obtener resultados tan bajos como se demostró depende mucho de las condiciones de extracción, sin embargo el ajo analizado presentaba un periodo de almacenamiento aproximadamente de un mes y medio, pudiendo ser este otro factor importante de dicho resultados; se sabe que el ajo fresco presenta promedio una vida de tres meses de almacenamiento a temperatura ambiente, mencionando la pérdida de alicina en un 50% en tan solo los primeros 15 días, disminuyendo de forma progresiva hasta ser casi indetectable. (P. Cañizares & et.al., 2004)

Las diferencias tan significativas presentadas en el rendimiento entre con las muestras A y B a pesar de el mismo tiempo de extracción se puede explicar debido a la influencia de temperatura ejercida sobre las reacciones enzimáticas: al dejarlas primeras en reposo 3:5h a una temperatura por debajo de la temperatura óptima reportada para la enzima amilasa se efectuó un proceso de osmosis en donde el ajo absorbió agua permitiendo el aumento interno de la conductibilidad (a una baja actividad enzimática) al momento de aplicar el proceso óhmico facilitando la extracción del compuesto de interés. La agitación térmica de la molécula de la enzima rompe los puentes de hidrogeno, enlaces iónicos y otras interacciones débiles que estabilizan la estructura activa hasta desnaturalizarla. Cada enzima tiene una temperatura óptima a la cual la velocidad de reacción es máxima permitiendo la mayor conversión de reactivos a producto (Campbell & Reece, 2007)

Los residuos generados presentan una apariencia física similares a ajos frescos variando apenas de color y firmeza los residuos de 2h. Esta es una ventaja adicional

de este método de extracción en donde se utiliza agua destilada en lugar de cualquier solvente que dañe los tejidos de la materia prima.

5.- CONCLUSIÓN

La aplicación del método óhmico para la extracción de alicina no presenta mejores rendimientos que los métodos convencionales, sin embargo, si nos garantiza la calidad del compuesto al estar libre de residuos no aptos para la salud como solventes. Los mejores rendimientos se obtuvieron con las muestras pretratadas osmóticamente en el tiempo de 3.5min con un rendimiento del 0.10% de alicina.

Este método alternativo, específicamente para el ajo, presenta mejores resultados en tiempos de tratamiento cortos a la temperatura de 10°C en donde no se inactiva la enzima alinasa, tan solo se reduce su tiempo de reacción y por consiguiente el tiempo de degradación de los compuestos de interés.

La SPE combinado con espectrofotometría UV-visible permitió la cuantificación de alicina total dando valores similares a métodos más precisos y complejos como HPLC.

6.- RECOMENDACIONES

Esta investigación desarrollada a nivel laboratorio dio pie al análisis de rendimiento de la alicina como compuesto de interés obtenido del ajo, es aquí en donde se hace uso de una tecnología emergente para determinar las mejores condiciones de extracción y conservación; adicional a esto se encuentra la responsabilidad de los residuos generados, por lo cual se recomienda analizar las características físico-químicas de los residuos de materia prima ya utilizada para determinar qué tan apta es para reutilización en nuevos subproductos bajando al porcentaje mínimo de desechos agroindustriales de este cultivar.

7.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abril Díaz, N., & Et.al. (2010). Espectrofotetría: Espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas. Córdoba.: Depertamento de Bioquímica y Biología Molecular.
- Angurell, I., & Et.Al. (o1 de 11 de 2019). Operciones basicas en el laboratorio de quimica. Obtenido de Eniversidad de Barcelona: <http://www.ub.edu/oblq/oblq%20castellano/index1.html#>
- Applynano. (02 de 26 de 2019). Applynano Solutions. Obtenido de <http://www.applynano.com/es/efecto-joule-que-es-y-cargas-basadas-en-carbono/>
- Azuola, R., & Vargas, P. (2007). Extraccion de sustancias asistida por ultrasonido (EUA). Tecnología en marcha, 30-40.
- Bandoni, A. (2000). Los recursos vegetales aromáticos en latinoamerica. Universidad Nacional de la Plata.
- Barbaro, L. A., & Et.Al. (2017). Importancia del pH y la Conductividad Elèctrica en los susratos de plantas. Inisterio de Agricultura, Ganaderia y Pesca, 2-11.
- Bayo, M., & Yusa, M. (2016). HPLC instrumental. Universitat Politècnica de València.
- Bravo Dìas, L. (2003). Farmacongnosia. Madrid, España: Elsevier España. S.A.
- Brenner, G. M., & Stevens, C. W. (2019). Farmacología Basica, 5 ed. España, S.L.U: Elsevier.
- Campbell, N. A., & Reece, J. B. (2007). En Biología. 154-155: Ed. Médica Panamericana.
- carlos, L. J., & Carvajal, F. (2015). Lesiones eléctricas. Univ. Méd. ISSN 0041-9095. Bogotá (Colombia), 63-74.
- CONAJO. (26 de 11 de 2019). Situación Nacional e Internacional del Ajo en México. . Obtenido de <http://www.conajo.com.mx/situacion.html>
- CONICET. (4 de Octubre de 2018). Alimentos e Industrias. Obtenido de <https://www.conicet.gov.ar/una-tecnologia-emergente-que-permite-procesar-alimentos-mas-frescos-ricos-y-saludables/>
- CTC. (2003). Extracción de compuestos de interés. Agrowaster, 2-8.
- Delegación SADER Zacatecas. (24 de Abril de 2017). Gobierno de México . Obtenido de <https://www.gob.mx/agricultura%7Czacatecas/articulos/aumenta-produccion-de-ajo-hecho-en-mexico-28-9-por-ciento-en-2016>

- Díaz J., L., & Jiménez L., K. (2008). Validación de un Método de Extracción de Alicina en Ajo y su Cuantificación por HPLC . Simposio de Metrología del 22 al 24 de Octubre.
- FAO. (24 de Noviembre de 2019). Raúl Benítez, Representante Regional de la FAO para América Latina y el Caribe. Obtenido de Oficina Regional de la FAO para América Latina y el Caribe: <http://www.fao.org/americas/noticias/ver/es/c/239393/>
- Fondo Europeo de Desarrollo Regional. (26 de noviembre de 2019). Region de Murcia. Obtenido de https://www.regmurcia.com/servlet/s.SI?sit=c,543,m,2714&r=ReP-20063-DETALLE_REPORTAJES
- Fonnegra Gómez, F. G. (2007). Plantas medicinales aprobadas en Colombia. Colombia: Universidad de Antioquia.
- Gómez Gómez, N. (2008). Tesis. Cinética de ácido pirúvico durante el proceso de secado constante y variable del ajo. . Oaxaca, Oax.: Instituto Politécnico Nacional.
- inifap. (2009). Tecnología para el cultivar de ajo en Zacatecas. En m. Reveles Hernández, & Et. Al.. México: Libro Técnico No. 11. Campo Experimental.
- Krest, J. G., & Keusgen, M. (1999). Cysteine sulfoxidos and Allinase activity of some allium species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 3753-3760.
- Lawson, L. D. (1993). *American Chemical Society*, 306-330.
- Lawson, L. D., & Buer, R. (2005). *American Chemical Society*, 179-209.
- Ledezma, E. (2006). Ajoene, el principal compuesto activo derivado del ajo (*Allium sativum*), un nuevo agente antifúngico. *Revista Iberoamericana de Micología*, 75-80.
- Leonelli, C., & Mason, T. J. (2010). Microwave and ultrasonic processing. *Chem Eng Process: Proc Intensif.*
- López Luengo, M. T. (2007). El ajo. *Offarm Elsevier*, 78-81.
- Martelo Vidal, M. J. (28 de Febrero de 2014). Tesis. Desarrollo de métodos rápidos basados en espectroscopia UV-VIS-NIR para el análisis de vinos. Logo.
- P. Cañizares, I., & et.al. (2004). Thermal degradation of allicin in garlic extracts and its implication on the inhibition of the in vitro growth of *Helicobacter pylori*. *Biotechnol. Vol. 20*, 32-37.
- Peña, A., & Et. Al. (2003). Extracción en fase sólida como una alternativa para el procedimiento de limpieza en la determinación de hidrocarburos aromáticos

- policíclicos por cromatografía de gases: aplicación a organismos marinos. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*.
- Plou Gasca, F. J., & Torres Salas, P. (2015). cromatografía líquida de alta resolución I. Instituto de Catálisis y Petroleoquímica.
- Puértolas, E., & Et.Al. (2012). Industrial application of pulsed electric field for food pasteurization: review of its technical and commercial viability. *CyTA - Journal of Food* , Vol 11, 81-88.
- Ramírez Pérez, I. J. (2019). Tesis. Evaluacion de la Calidad de Extracto de Ajo Morado Obtenido a Partir de Tecnologías Alternativas. Saltillo, Coahuila, Mexico.
- Ramírez Ramírez, J. (1014). Enzimas. rdu. *REvista Digital Universitaria*. revista.unam.mx, Vol.15 2-13.
- Roca, P., & et.al. (2004). *Bioquímica: técnicas y métodos*. Hélice.
- Rojas Muñoz, V. R. (2009). Tesis. evaluación de métodos de extracción y purificación de enzimas pectinolíticas obtenidas por fermentación en estado semisólido del *Aspergillus Niger*. medellín.
- Sadoth Sandoval, S., & Et.Al. (s.f.). Análisis de la filtración centrifuga de una suspensión. Obtenido de <https://www.ciidiroaxaca.ipn.mx/ssandoval/sites/www.ciidiroaxaca.ipn.mx/ssandoval/files/images/18.%20An%C3%A1lisis%20de%20la%20Filtraci%C3%B3n%20centr%C3%ADfuga.pdf>
- Sánchez Rubio, I., & Rubio Mirón, A. (2010). Atención farmacéutica en la enfermedad periodontal (y II). *Plantas medicinales*. Elsevier, 62-67.
- Señorans, F. J. (2017). Extracción ultrasónica de mucílago para extracción de líquido a presión de aceite rico en omega-3 de semillas de chía (*Salvia hispanica* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*., 65 , 12 , 2572-2579.
- Sigala Adame, B. (2019). Tesis.“Obtención de almidones de papa (*Solanum Tuberosum*) pregelatinizados usando calentamiento óhmico”. Santiago de Querétaro.
- Terán Quiroga, O. (1990). *El cultivo del ajo*. Cotagaita- San Juan del Oro: Plural Editores.
- Wanyika, H. N., & Et.Al. (2011). Un método rápido basado en espectrofotometría UV para la determinación cuantitativa de alicina en solución acuosa de ajo. *Diario de Agriculturista, Ciencia y Tecnología*, 74-82.
- Z.G., A. (2001). *Química Organica, Experimentos Con Un enfoque Ecologico*. México : Cerpa MG.

- Zamora, E. (2016). El cultivo del ajo. Serie guías - producción de hortalizas DAG/HORT-014 , 1-7.
- Zhou, C., & Et.Al. (2015). La cuantificación de alicina en productos a base de ajo: Las comparaciones entre espectrofotometría, GC y HPLC. Avance Diario de la Ciencia y Tecnología de Alimentos, 269-277.