



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“EFECTO DE LA SONICACIÓN COMO PRETRATAMIENTO
EN LA ELABORACIÓN DE AJO NEGRO”**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

ING. QUÍMICO EN ALIMENTOS

PRESENTA

SILVANA ESTHER LÓPEZ HERNÁNDEZ

DIRIGIDA POR

Dra. MA. ESTELA VÁZQUEZ BARRIOS

SANTIAGO DE QUERÉTARO, QUERÉTARO, 2021.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“EFECTO DE LA SONICACIÓN COMO
PRETRATAMIENTO EN LA ELABORACIÓN DE AJO
NEGRO”**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

ING. QUÍMICO EN ALIMENTOS

PRESENTA

SILVANA ESTHER LÓPEZ HERNÁNDEZ

DIRIGIDA POR

Dra. MA. ESTELA VÁZQUEZ BARRIOS

SINODALES

Dra. Ma. ESTELA VÁZQUEZ BARRIOS _____

DIRECTORA

Dr. EDMUNDO M. MERCADO SILVA _____

SINODAL

Dra. DULCE MARÍA RIVERA PASTRANA _____

SINODAL

Dr. GERARDO MANUEL NAVA MORALES _____

SINODAL

ÍNDICE GENERAL

Contenido	Página
ÍNDICE GENERAL	i
ÍNDICE DE CUADROS	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	v
RESUMEN	
1. ANTECEDENTES	1
1.1 Generalidades del ajo	1
1.1.1 Impacto económico (nacional e internacional)	1
1.1.2 Clasificación taxonómica del ajo	4
1.1.3 Descripción botánica	5
1.1.4 Variedades	6
1.1.5 Composición química del ajo	8
1.1.5.1 Fructanos	9
1.1.6 Productos derivados de ajo	12
1.2 Ajo negro	13
1.2.1 Definición	13
1.2.2 Composición del ajo negro	14
1.2.3 Efecto del consumo de ajo negro en la salud humana	15
1.2.4. Reacción de Maillard	16
1.2.5. Métodos de obtención de ajo negro	19
1.2.5.1 Método tradicional para la obtención de ajo negro	19
1.2.5.2 Pretratamientos para la elaboración de ajo negro	21
1.2.5.2.1 Calentamiento óhmico, secado convectivo y almacenamiento a -20 °C	21
1.2.6 Aplicación de la sonicación en alimentos	23
1.2.6.1 Parámetros del proceso de sonicación	26
1.2.6.2 Efectos de la sonicación sobre los carbohidratos	27

2.	HIPÓTESIS	29
3.	OBJETIVOS	30
3.1	General	30
3.2	Específicos	30
4.	METODOLOGÍA	31
4.1	Material biológico	32
4.2	Métodos	32
4.2.1	Tratamiento tradicional para obtener ajo negro	32
4.2.2	Sonicación de bulbos de ajo	33
4.2.3	Determinación de las mejores condiciones de sonicación	34
4.2.3.1	Determinación de azúcares reductores	35
4.2.3.2	Determinación de grados Brix	36
4.2.3.3	Evaluación de color	37
4.2.4	Determinación del tiempo de almacenamiento	37
4.2.5	Comparación de parámetros de calidad entre el producto final y un producto comercial	38
4.2.5.1	Análisis fisicoquímicos	38
4.2.5.1.1	Determinación de pH	38
4.2.5.1.2	Determinación de acidez titulable	38
4.2.5.1.3	Determinación de actividad de agua	39
4.2.5.1.4	Determinación de textura	40
4.2.5.2	Análisis bromatológicos	40
4.2.5.2.1	Humedad	40
4.2.5.2.2	Cenizas	41
4.2.5.2.3	Extracto etéreo (grasa cruda)	42
4.2.5.2.4	Proteína	43
4.2.5.2.5	Sodio	44
4.2.5.2.6	Vitamina C	45
4.2.5.3	Análisis microbiológicos	47
4.2.5.3.1	<i>E. coli</i>	47

4.2.5.3.2	<i>Salmonella</i>	48
4.2.5.3.3	Coliformes totales	48
4.2.5.4	Evaluación de la calidad sensorial	49
5.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	51
5.1	Estandarización del proceso de obtención de ajo negro	51
5.2	Determinación de las mejores condiciones de sonicación	61
5.2.1	Determinación de azúcares reductores	61
5.2.2	Determinación de grados Brix	63
5.2.3	Evaluación de color	65
5.3	Determinación del tiempo de almacenamiento	68
5.3.1	Determinación de azúcares reductores	68
5.3.2	Determinación de grados Brix	70
5.3.3	Evaluación de color	71
5.4	Análisis de calidad del producto final y una muestra comercial	72
5.4.1	Determinación de textura	73
5.4.2	Análisis fisicoquímicos del producto final	75
5.4.3	Análisis bromatológicos del producto final	77
5.4.4	Análisis microbiológicos del producto final	78
5.4.5	Análisis sensorial del producto final	81
6.	CONCLUSIONES	84
7.	REFERENCIAS	85

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Clasificación taxonómica del ajo (Ravindran, 2017).	4
2. Composición nutrimental del ajo (por cada 100 g de producto) (USDA, 2018).	8
3. Comparación entre los componentes de ajo negro y ajo fresco (Kimura y col., 2017).	14
4. Tratamientos utilizados durante el experimento.	34
5. Parámetros de textura del producto final (con 16, 20 y 24 días de almacenamiento a 75% HR y 70 °C) y la muestra comercial.	73
6. Comparación de los parámetros fisicoquímicos del producto final y la muestra comercial.	76
7. Comparación de parámetros bromatológicos del producto final y la muestra comercial (datos obtenidos de la etiqueta).	77
8. Comparación entre el producto final, comercial y las especificaciones de la NOM-210-SSA1-2014*.	80

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1.	Países productores de ajo en 2019 y producción registrada (FAOSTAT, 2019).	2
2.	Producción mundial de ajo, en el periodo 2000-2018 (FAOSTAT, 2018).	3
3.	Producción de ajo en México, en el periodo 2010-2020 (SIAP, 2020).	4
4.	Ajo comercial a) tipo morado b) tipo blanco c) tipo colorado d) tipo castaño (Burba, 2008).	7
5.	Diferentes tipos de fructanos a) inulina, b) levana, c) graminados, d) neo-inulina, e) neo-levana (Sosa y Delgado, 2016).	11
6.	Estructura del fructano de ajo; grado de polimerización = 58 (n = 9) (Baumgartner y col, 2000).	12
7.	Ajo negro. a) Ajo durante el proceso de envejecimiento (de izquierda a derecha). b) Dientes de ajo negro (Kimura y col., 2017).	13
8.	Esquema de la reacción de Maillard (Lund y Ray, 2017).	18
9.	Cambios en el color del ajo negro durante el periodo de envejecimiento (Choi y col., 2014).	20
10.	Estrategia experimental.	31
11.	a) Horno ahumador con regulador de temperatura Marca Koch modelo 320034. b) Sistema de almacenamiento de bulbos de ajo para la obtención de ajo negro, mostrando la adecuación para sostener los ajos.	33
12.	Aplicación de sonicación a bulbos de ajo.	34

13.	Muestras para medición de azúcares reductores (AR) por el método DNS: de extracto de ajo (izquierda) y soluciones empleadas en la curva patrón (derecha).	35
14.	Medición de °Bx del extracto de ajo negro.	36
15.	Reacción de oxidación de ácido áscórbico con yodo (I ₃ ⁻) (Fang, 2017).	46
16.	Colonias de <i>E. coli</i> desarrolladas en agar Mac Conkey (a) (Soza, 2017) y en agar EMB (b) (Faridullah y col., 2016).	48
17.	Acomodo de muestras para evaluación sensorial.	49
18.	Hoja de respuesta para la prueba sensorial de ajo negro.	50
19.	Apariencia de bulbos de ajo almacenado por 5 días a 95% HR y 70 °C. T0 = control, T1 = 3 min, T2 = 5 min, T3 = 10 min, T4 = 15 min, T5 = 20 min.	51
20.	Apariencia del bulbillo y bulbo de ajo sonicado por 5 min a 40 kHz y almacenado por 5 días de almacenamiento a 95% HR y 70 °C.	52
21.	a) Apariencia física interna y externa del ajo negro comercial marca “Los Rancheros”, b) bolsa con 2 bulbos de ajo negro.	53
22.	Cambios en el color externo de bulbos de ajo durante su almacenamiento a 95% HR y 70 °C. T0 = control, T1 = 3 min, T2 = 5 min, T3 = 10 min, T4 = 15 min, T5 = 20 min.	54
23.	Cambios en el color interno (bulbillos) del ajo durante su almacenamiento a 95% HR y 70 °C. T0 = control, T1 = 3 min, T2 = 5 min, T3 = 10 min, T4 = 15 min, T5 = 20 min.	55
24.	Bulbos de ajo sonicados y almacenados por 11 días a 95% HR y 70 °C. T0 = control, T1 = 3 min, T2 = 5 min, T3 = 10 min, T4 = 15 min, T5 = 20 min.	56

25.	Apariencia de los bulbos de ajo sonicados y almacenados por 18 días a 95% HR y 70 °C.	56
26.	Apariencia visual de cáscara y diente en bulbos de ajo negro almacenado por 18 días a 95% HR y 70 °C; previa sonicación por 10 min.	57
27.	Lixiviación en el sistema debido a la alta humedad.	57
28.	Bulbos de ajo almacenados por 7 días a 95% HR (a) más 7 días a 75% HR (b).	58
29.	Bulbo de ajo fresco sonicado por 15 min y almacenado 4 días a 95% HR más 4 días a 75% HR y 70 °C.	59
30.	Cambios en el color externo (ΔE) del ajo durante su almacenamiento por 4 días a 95% HR y 70 °C más 4 días a 75% HR y 70 °C. T0 = control, T1 = 3 min, T2 = 5 min, T3 = 10 min, T4 = 15 min, T5 = 20 min.	60
31.	Cambios en el color interno (ΔE) del ajo durante su almacenamiento por 4 días a 95% HR y 70 °C más 4 días a 75% HR y 70 °C. T0 = control, T1 = 3 min, T2 = 5 min, T3 = 10 min, T4 = 15 min, T5 = 20 min.	60
32.	Efecto del tiempo de sonicación en el contenido de azúcares reductores (AR) del ajo durante el almacenamiento para la obtención de ajo negro. T0 = control, T1 = 3 min, T2 = 5 min, T3 = 10 min, T4 = 15 min, T5 = 20 min.	62
33.	Efecto del tiempo de sonicación en el contenido de sólidos solubles ($^{\circ}Bx$) del ajo durante el almacenamiento para la obtención de ajo negro. T0 = control, T1 = 3 min, T2 = 5 min, T3 = 10 min, T4 = 15 min, T5 = 20 min.	64
34.	Efecto del tiempo de sonicación en el ΔE externo del ajo durante el almacenamiento para la obtención de ajo negro.	

	T0 = control, T1 = 3 min, T2 = 5 min, T3 = 10 min, T4 = 15 min, T5 = 20 min.	66
35.	Efecto del tiempo de sonicación en el ΔE interno del ajo durante el almacenamiento para la obtención de ajo negro. T0 = control, T1 = 3 min, T2 = 5 min, T3 = 10 min, T4 = 15 min, T5 = 20 min.	66
36.	Color interno y externo de ajo almacenado por 16 días con diferentes tiempos de sonicación (de izquierda a derecha: ajo crudo, T0, T1, T2, T3, T4 y T5). T0 = control, T1 = 3 min, T2 = 5 min, T3 = 10 min, T4 = 15 min, T5 = 20 min.	67
37.	Color interno y externo de ajo almacenado por 20 días con diferentes tiempos de sonicación (de izquierda a derecha: ajo crudo, T0, T1, T2, T3, T4 y T5). T0 = control, T1 = 3 min, T2 = 5 min, T3 = 10 min, T4 = 15 min, T5 = 20 min.	67
38.	Color interno y externo de ajo almacenado por 24 días con diferentes tiempos de sonicación (de izquierda a derecha: ajo crudo, T0, T1, T2, T3, T4 y T5). T0 = control, T1 = 3 min, T2 = 5 min, T3 = 10 min, T4 = 15 min, T5 = 20 min.	67
39.	Contenido de azúcares reductores (AR) en ajo negro pretratado con sonicación por 15 min a 16, 20 y 24 días de almacenamiento.	69
40.	Contenido sólidos solubles ($^{\circ}Bx$) en ajo negro pretratado con sonicación por 15 min a 16, 20 y 24 días de almacenamiento.	70
41.	ΔE externo en ajo negro pretratado con sonicación por 15 min a 16, 20 y 24 días de almacenamiento.	72

42. ΔE interno en ajo negro pretratado con sonicación por 15 min a 16, 20 y 24 días de almacenamiento. 72
43. Calificación de los panelistas en la evaluación de atributos del ajo negro producido experimentalmente (producto final). 81
44. Calificación de los panelistas en la evaluación de atributos del ajo negro comercial. 82

Dirección General de Bibliotecas UAQ

RESUMEN

El ajo *Allium sativum* L., es una de las principales hortalizas que se consumen a nivel mundial debido a sus diversas propiedades nutricionales que ofrecen grandes beneficios al consumidor; dentro de sus compuestos destaca el contenido de alicina, la cual es responsable del sabor pungente característico y es también responsable de que el consumo en fresco sea bajo. Actualmente se ha desarrollado ajo negro, un producto derivado de la exposición del ajo fresco a condiciones de temperatura entre 50 y 90 °C por tiempos que pueden variar de 30 a 90 días; en este periodo de almacenamiento se despolimerizan los fructanos (carbohidratos de reserva del ajo) dando como producto moléculas de fructosa libres que promueven la reacción de Maillard (RM). La característica principal del ajo negro es el desarrollo de color negro, además de que presenta una textura suave y es de sabor dulce. Para acelerar el proceso de obtención de ajo negro, se evaluó la aplicación de sonicación como pretratamiento para propiciar la hidrólisis de los fructanos debido al fenómeno de cavitación provocado por la propagación de las ondas ultrasónicas aplicadas. Se evaluaron diferentes condiciones de tiempo y humedad relativa (HR) en el almacenamiento a 70 °C. Se logró obtener ajo negro en 16 días aplicando sonicación por 15 min a 40 kHz y almacenando el ajo sonicado a 70 °C por 4 días a una HR de 95% seguido de 12 días a HR de 75%. El producto obtenido con pretratamiento de sonicación tuvo un sabor más dulce que un producto comercial debido a su mayor contenido en azúcares reductores (AR) y sólidos solubles totales (°Bx), y dicho sabor dulce no se vio influenciado por el bajo pH y mayor % de acidez titulable encontrado; además, la apariencia fue mejor debido a que su cáscara era más clara (lo que se evidenció con el menor valor de ΔE). Las características anteriormente mencionadas permitieron que el producto tuviera mejor aceptación en el análisis sensorial y fuera preferido por el consumidor por encima de un producto comercial. No se detectó presencia de microorganismos (*Salmonella*, *E.coli* y coliformes) ni en el ajo negro producido con pretratamiento de sonicación ni en el ajo negro comercial. En los análisis bromatológicos, a excepción de los contenidos de lípidos y de proteína, hubo diferencias entre el ajo negro obtenido con uso de pretratamiento de sonicación y el comercial; el valor de cenizas y sodio fueron mayores en los ajos negros obtenidos con uso de sonicación, mientras que la humedad y la vitamina C fueron menores. La sonicación permite disminuir el tiempo de obtención de ajo negro logrando una calidad similar a un ajo negro comercial.

1. ANTECEDENTES

1.1 Generalidades del ajo

El ajo, *Allium sativum* L., es una de las 20 principales hortalizas a nivel mundial; por su aroma y sabor característico ha sido utilizado como alimento y como especie culinaria por muchas culturas en la cocina y para diferentes propósitos medicinales (Denre y col., 2014). El ajo ha sido usado medicinalmente por miles de años a través del mundo por varias razones, incluso en antiguos escritos de la india hacen referencia a efectos positivos contra enfermedades del corazón. Diferentes estudios han reportado que el consumo de ajo presenta efectos positivos a la salud, particularmente debido a su poder antioxidante, antimicrobiano, anticancerígeno, en la disminución de la hipertensión, de la hipercolesterolemia; además del efecto hepatoprotector y en la disminución del riesgo de enfermedades cardiovasculares, entre otras (Zeng y col., 2013). Sus propiedades biológicas son relacionadas principalmente a su contenido de polifenoles, destacando los flavonoides y compuestos bioactivos azufrados (Florencia, 2011).

1.1.1 Impacto económico (nacional e internacional)

El ajo, *Allium sativum* L., es originario de Asia Central, específicamente de la India; se extendió en tiempos prehistóricos por toda la región del Mediterráneo, de donde fue traído hace 500 años a América (Cuba). Esta hortaliza ha formado parte de la historia del hombre desde épocas remotas, tanto por su consumo en diversos platillos (fresco o deshidratado), como por sus atributos históricos divinos, místicos, de prevención de enfermedades y recuperación de vigor y fuerza. Ocupa el segundo lugar en importancia a nivel mundial dentro de las especies del género *Allium* después de la cebolla (*Allium cepa* L.) (Acosta y col., 2008; Virgili, 2017). El ajo se cultiva en la mayoría de los países, tanto en las zonas tropicales como en las templadas. En Asia, se cultiva comercialmente en China, Indonesia, Pakistán, República de Corea, Tailandia e India. El comercio mundial de ajo está dominado por los países en desarrollo y su participación en el comercio ha crecido a expensas de la de los países desarrollados (Medina y García, 2007).

A grandes rasgos, la producción mundial de ajo se concentra en el continente asiático, seguido por el continente europeo, después el continente americano y finalmente el continente africano; por su parte Oceanía no registró producción (Figura 1). A nivel mundial, en 2019 se produjeron 30,708,243 toneladas de ajo. Los 10 principales países productores fueron: China, India, Bangladesh, República de Corea, Egipto, España, Estados Unidos de América, Argelia, Uzbekistán y Ucrania. México por su parte se encontró en el lugar 19 con 82,910 toneladas producidas (FAOSTAT, 2019).

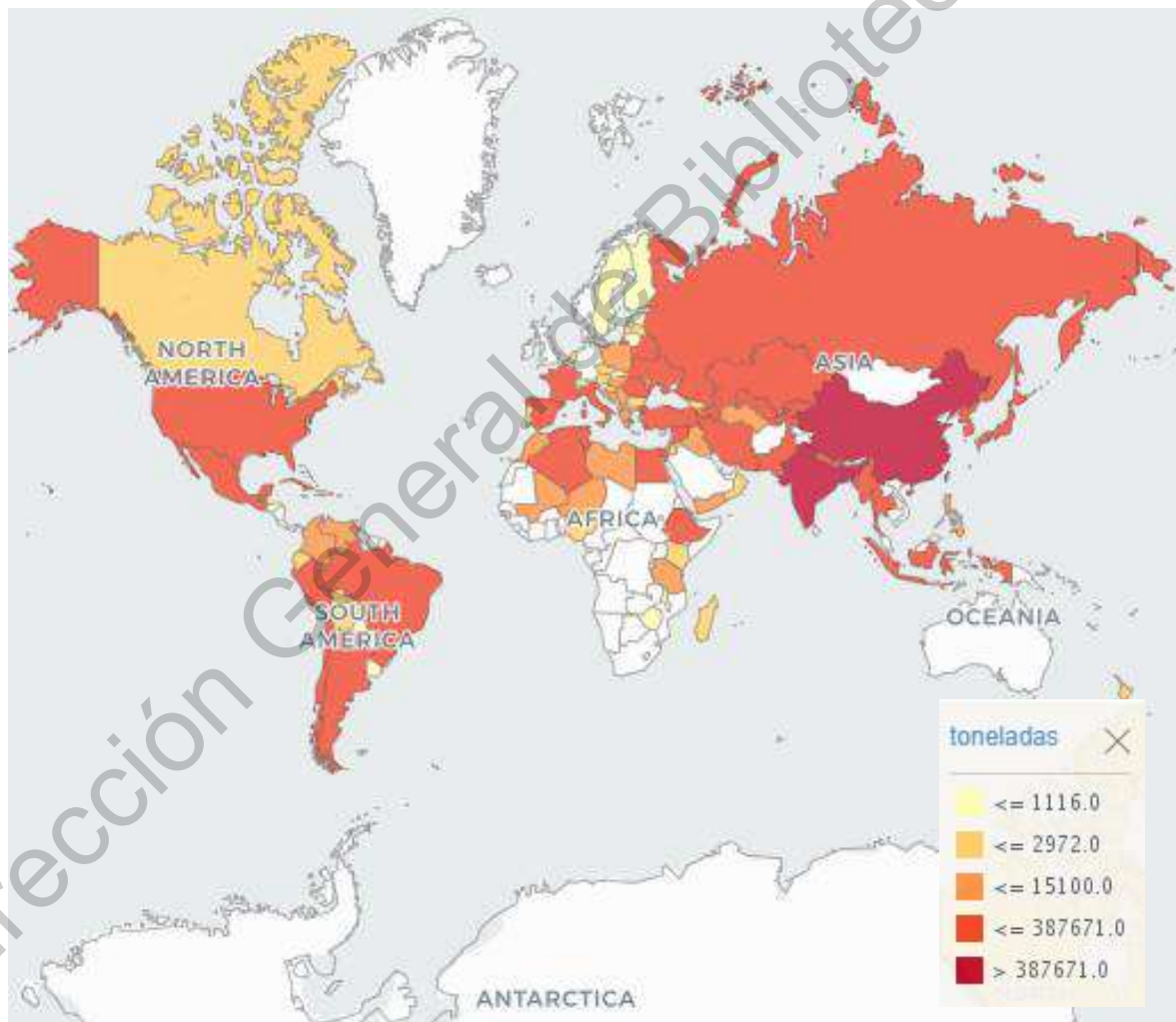


Figura 1. Países productores de ajo en 2019 y producción registrada (FAOSTAT, 2019).

Con el paso de los años, la producción mundial de ajo ha aumentado (Figura 2) (FAOSTAT, 2018). El ajo, *Allium sativum* L., es una hortaliza de gran importancia económica en México.

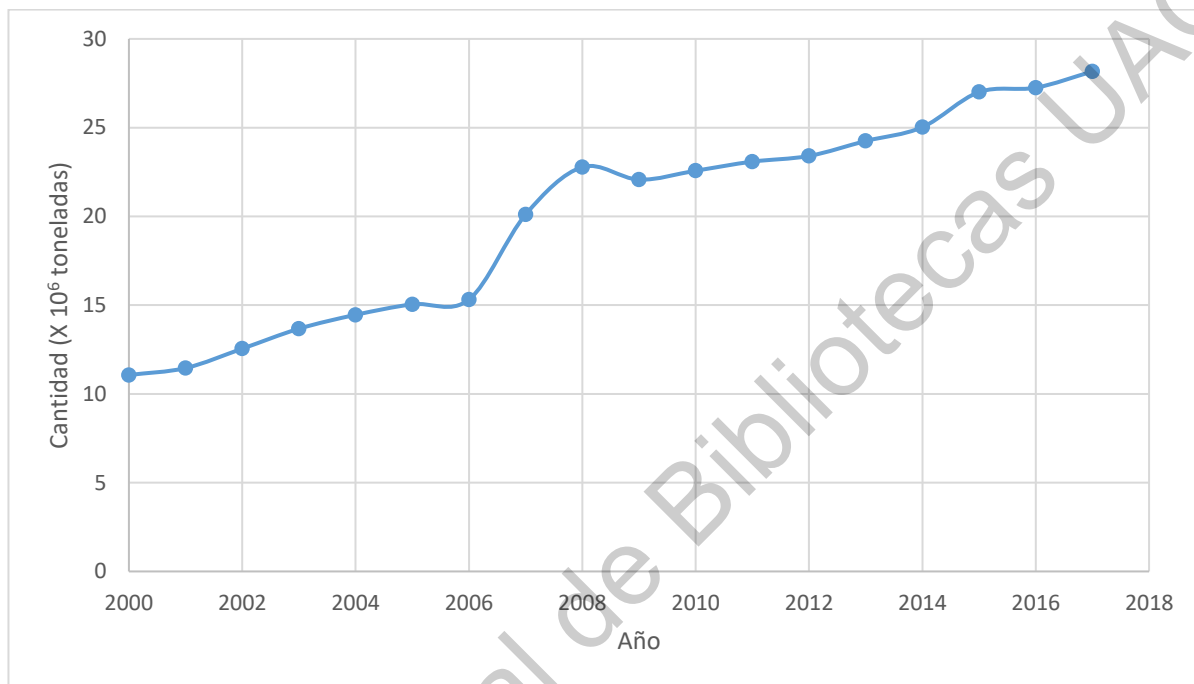


Figura 2. Producción mundial de ajo, en el periodo 2000-2018 (FAOSTAT, 2018).

La figura 3 muestra la producción de ajo en México en el periodo de 2010 a 2020, se aprecia que a partir del año 2015 hubo un aumento en la producción de ajo a excepción del año 2019 donde hubo una disminución de casi 12000 toneladas en comparación al año previo. En 2020, los principales estados productores de ajo en México fueron: Zacatecas (56.53%), Guanajuato (15.66%), Puebla (6.57%), Sonora (4.97%), Aguascalientes (3.53%) y Nuevo León (3.52%). Otros estados que también produjeron este alimento fueron Baja California (2.28%), San Luis Potosí (1.92%), Oaxaca (1.76%), Baja California Sur (0.8%), Hidalgo (0.78%), Querétaro (0.59%), Chihuahua (0.39%), Jalisco (0.33%), Tlaxcala (0.28%), entre otros (SIAP, 2020).

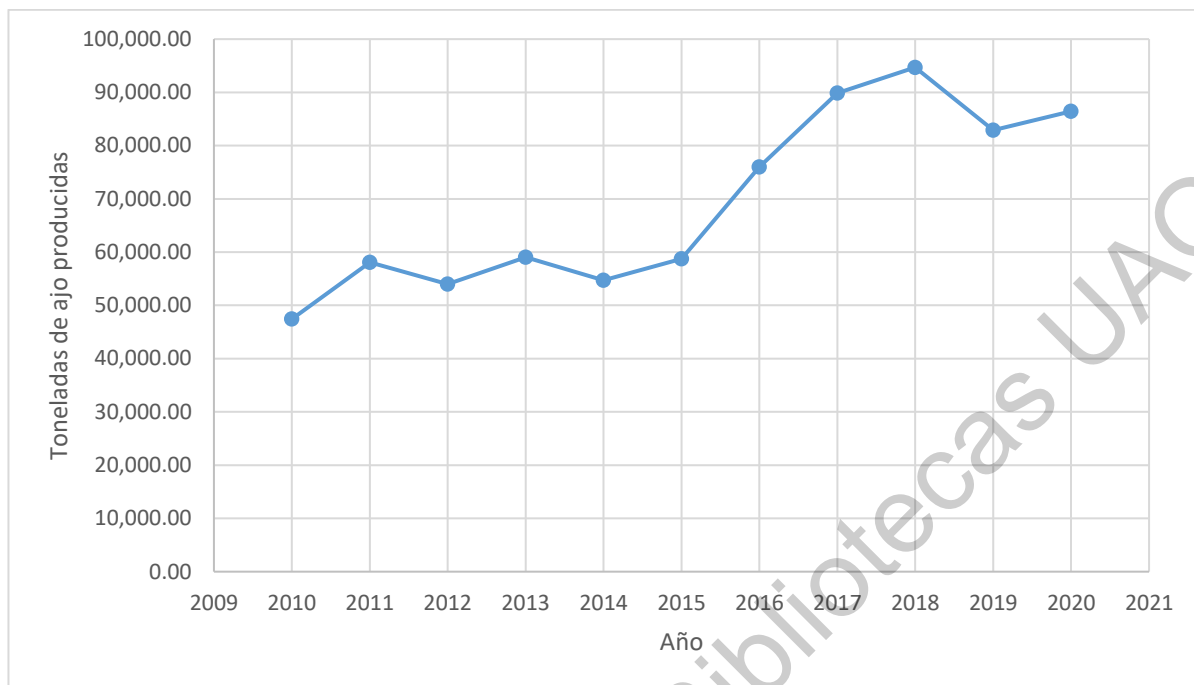


Figura 3. Producción de ajo en México, en el periodo 2010-2020 (SIAP, 2020).

1.1.2 Clasificación taxonómica del ajo

El nombre científico del ajo es *Allium Sativum* L. El nombre de la subfamilia se deriva del nombre genérico del género *Allium*, que incluye varias hortalizas importantes: *A. cepa* (cebolla, echalote), *A. sativum* (ajo), *A. ampeloprasum* (ajo elefante o puerro de cabeza grande), *A. schoenoprasum* (cebollín), *A. fistulosum* (cebolla cambray) y *A. tuberosum* (cebollino chino) (Welbaum, 2015). La jerarquía que ha sido adoptada para *Allium sativum* L. se encuentra detallada en el Cuadro 1. El género *Allium* contiene más de 300 especies de plantas, entre ellas se encuentra *Allium sativum* L. (ajo).

Cuadro 1. Clasificación taxonómica del ajo (Ravindran, 2017).

Reino	Plantae
Subreino	Viridiplantae
Infrareino	Streptophyta

Cuadro 1 continuación. Clasificación taxonómica del ajo (Ravindran, 2017).

Superdivisión	Embryophyta
División	Tracheophyta
Subdivisión	Spermatophytina
Clase	Magnoliopsida
Superorden	Lilianae
Orden	Asparagales
Familia	Amaryllidaceae
Subfamilia	Allioideae
Tribu	Allieae
Género	<i>Allium</i>
Especie	<i>sativum</i> L.

1.1.3 Descripción botánica

Es una planta perenne de unos 60 cm de altura, con hojas planas y delgadas de 1 a 2 cm de ancho y hasta 30 cm de longitud que se alternan a medida que se desprenden del tallo; éstas se vuelven marrones cerca del tiempo en que los bulbos están listos para la cosecha. La planta está madura aproximadamente 40 semanas después de la siembra. Las raíces alcanzan fácilmente profundidades de 50 cm o más. El bulbo, forma una cabeza dividida en gajos que comúnmente son llamados dientes. Cada cabeza puede contener de 6 a 12 dientes, cada uno de los cuales se encuentra envuelto en una delgada capa de color blanco o rojizo. Cada uno de los dientes puede dar origen a una nueva planta de ajo, ya que poseen en su base una yema terminal que es capaz de germinar incluso sin necesidad de plantarse previamente. Las flores son blancas, y en algunas especies el tallo también produce pequeños bulbos (Watson y col., 2014; García, 2017).

El bulbo de ajo comercial pesa típicamente de 60 a 120 g. Las raíces crecen rápidamente alrededor del perímetro de la placa basal y preceden al desarrollo posterior de las hojas. Las hojas surgen en una orientación opuesta y alterna. Dado que la lámina de una hoja determinada emana de un amplio arco meristemático, las bases de las hojas consecutivas se superponen ampliamente; esta superposición de las bases de las hojas da como resultado la producción de un “pseudotallo” que consiste en vainas foliares muy apretadas que rodean las hojas jóvenes. Por encima del pseudotallo, las láminas de las hojas se extienden sin superponerse (Simon y Jenderek, 2010).

El ajo es una planta de propagación vegetativa obligada mediante bulbos, debido a su incapacidad para producir flores fértiles y, por lo tanto, semilla de origen sexual (Nieves y col., 2004).

1.1.4 Variedades

El ajo puede generalmente ser dividido en dos subespecies: *ophioscorodon* (de cuello duro con vara floral) y *sativum* (de cuello blando o ajo “alcachofa”). El ajo de cuello duro produce tallos de flores alargadas y bulbillos en la parte superior del tallo; el ajo de cuello blando no produce bulbillos, excepto en momentos de estrés. El ajo de cuello duro puede ser morado con rayas moradas o blancas y está representado por variedades como Roja, German Red (Roja Alemana), Valencia, Continental y el Criollo; el ajo Criollo, una variedad tardía cubierta con una piel de color morado oscuro es el tipo cultivado en México, América del Sur, y el Valle Imperial de California. El ajo de cuello blando también se conoce como Silverskin, alcachofa, o ajo italiano. Los tipos de cuello blando están representados por las variedades California de cosecha temprana y California de cosecha tardía. El ajo Silverskin se caracteriza por ser una variedad con muchos o pocos dientes, y también puede ser de color marrón claro, blanco totalmente o con un tono morado (Ford y col., 2015).

A la subespecie *sativum* se le denomina popularmente como “soft-neck”, ya que su tallo florece parcialmente o no lo hace, y por lo tanto presentan el “cuello blando fácil de trenzar” en el momento de la cosecha. Engloba a todos aquellos ecotipos de

abundante número de hojas fértiles y relativamente muchos bulbillos o “dientes”. Se denominan variedades de “cuello duro” (hard-neck), a las que siempre tienen tallo floral emergente y por lo tanto en el momento de la cosecha mantienen dicho cuello duro. De manera general, se considera que los ajos se clasifican en las variedades: morados, blancos, colorados y castaños, sean tanto ecotipos de “cuello duro” como de “cuello blando” (Burba, 2008).



Figura 4. Ajo comercial a) tipo morado b) tipo blanco c) tipo colorado d) tipo castaño (Burba, 2008).

Los ajos morados son poblaciones de plantas muy vigorosas, de cosecha temprana, bulbos grandes, pigmentados con estrías moradas, globosos achatados, de escasa conservación, poco ajustados en el cuello y bulbillos o dientes de color castaño claro (Figura 4a). Los ajos blancos son medianos a grandes, achatados, de color externo

blanco o blanco amarillento, con mediana cantidad de dientes (entre 8 y 14), de color blanco, distribuidos en varias hojas fértiles (entre 3 y 5), de cosecha temprana o semi temprana y en general de buena capacidad de conservación (Figura 4b). Los ajos colorados son de tamaño medianos a chicos, globosos a globosos achatados, de color externo blanco o blanco amarillento (eventualmente con tintes violáceos), con pocos dientes (entre 5 y 14) de colores rosados, violáceos o parduscos y distribuidos sólo en 2 hojas fértiles, su sabor es picante y fuerte, son de cosecha semi tardía o tardía, en general de muy buena capacidad de conservación por lo que se destina a exportación, estos ajos se cultivan en clima templado y seco y brindan un buen rendimiento por hectárea (Figura 4c). Los ajos castaños presentan aroma y sabor muy similar a los ajos silvestres, poseen pocos dientes grandes y pesados, de sabor pungente pero de aroma muy suave, de fácil remoción del bulbo, el color de los dientes es de base marrón o castaña aunque pueden mostrar tintes rojizos (Figura 4d) (Burba, 2008). En México se cultivan con fines comerciales dos tipos de ajos: los morados y los blancos (Maldonado, 1999).

1.1.5 Composición química del ajo

En el Cuadro 2 se muestran los componentes del bulbo de ajo, los principales son agua, carbohidratos y proteínas (USDA, 2018). En el ajo, el principal carbohidrato encontrado son polímeros de fructosas (fructanos); por su parte el contenido de proteína (las lectinas son las más abundantes) es mayor que en otros vegetales, pero su contenido de grasa es menor (Lara y col., 2017).

Cuadro 2. Composición nutrimental del ajo (por cada 100 g de producto) (USDA, 2018).

Componente	Cantidad
Agua	58.580 g
Proteína	6.360 g
Lípidos totales (grasa)	0.500 g

Cuadro 2 continuación. Composición nutrimental del ajo (por cada 100 g de producto) (USDA, 2018).

Componente	Cantidad
Carbohidratos	33.060 g
Fibra	2.100 g
Azúcares simples	1.000 g
Calcio	181.000 mg
Hierro	1.700 mg
Magnesio	25.000 mg
Fósforo	153.000 mg
Potasio	401.000 mg
Sodio	17.000 mg
Zinc	1.160 mg
Vitamina C (ácido ascórbico)	31.200 mg
Tiamina	0.200 mg
Riboflavina	0.110 mg
Niacina	0.700 mg
Vitamina B6	1.235 mg

1.1.5.1 Fructanos

Los fructanos, junto con el almidón y la sacarosa, son los carbohidratos de reserva más abundantes y metabolizables encontrados en la mayoría de las plantas. Los fructanos son polímeros de fructosa que contienen de tres a cientos de residuos unidos por enlace β -1,2 a un núcleo de sacarosa. Los fructanos ramificados tienen además enlace β -2,6. De manera general, los fructanos se pueden agrupar en cinco tipos principales: inulinas, levanas, graminados, neoserias de inulina y neoserias de

levana (Figura 5), los cuales difieren en longitud (grado de polimerización), ramificación, tipo de unión entre moléculas de fructosa adyacentes y la posición de los residuos de glucosa. La inulina es lineal y consiste en residuos de fructosa unidos por enlace β -1,2 y a su vez unidos a un núcleo de sacarosa; este tipo de fructanos se encuentran en miembros de la familia Asterales; por ejemplo en la achicoria. Las levanas se encuentran en pastos (*Phleum pratense*) y consisten en una cadena de fructosa unidas por enlaces β -2,6. Por su parte, los fructanos gramíneos o mixtos consisten en residuos de fructosa con enlaces β -2,6 y con ramificaciones β -1,2 y se encuentran en las gramíneas como el trigo (Stick y Williams, 2009; Hossain y col., 2019). Los fructanos del tipo neo-inulina son aquellos que contienen una glucosa entre dos unidades de fructofuranosil con enlaces β -2,1 y están presentes en cebolla y espárragos. Finalmente, los fructanos del tipo neo-levanas están formados por residuos de fructosa unidos por enlaces β -2,1 y β -2,6 donde en cada extremo de una molécula de sacarosa central hay un residuo de fructofuranosil (Sosa y Delgado, 2016; Tunland, 2018). Los fructanos se consideran azúcares no reductores y son solubles en agua, los fructanos con un grado de polimerización de 3 a 10 son comúnmente llamados fructooligosacáridos y los de alto grado de polimerización, dependiendo de la fuente botánica, se consideran como inulinas o levanas (Van den, 2013; Carrillo-Navarrete, 2015).

En el caso particular de los bulbos de ajo, los fructanos se derivan de las neokestosas y son cadenas de fructosas con un grado de polimerización de 58 (Figura 6) (Baumgartner y col, 2000). Los enlaces de naturaleza β los hace resistentes a la actividad de las enzimas digestivas humanas (Carrillo-Navarrete, 2015), pasando directamente al colon donde son fermentados selectivamente por bifidobacterias y lactobacilos inhibiendo el desarrollo de bacterias patógenas como *Escherichia coli* y *Clostridium perfringens*. En el campo industrial se ha demostrado que los fructanos de ajo son solubles en agua, tienen la capacidad de absorber y retener humedad, de absorber aceite, formar espuma, por lo que pueden ser ampliamente utilizados en bebidas, productos cárnicos, lácteos, y otros productos como los farmacéuticos (Schaafsma y Slavin, 2015; Hernández-Corona, 2018).

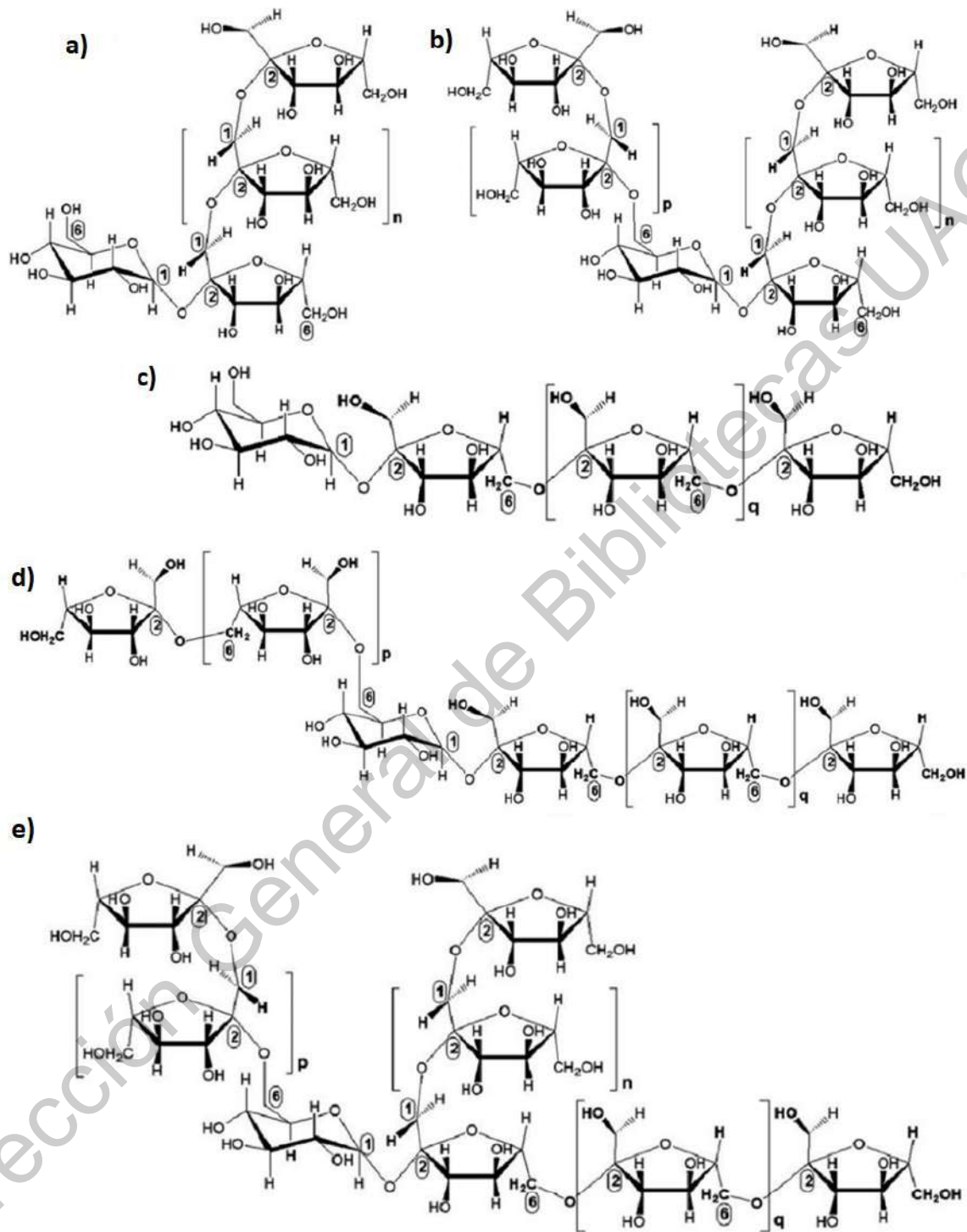


Figura 5. Diferentes tipos de fructanos a) inulina, b) levana, c) graminados, d) neo-inulina, e) neo-levana (Sosa y Delgado, 2016).

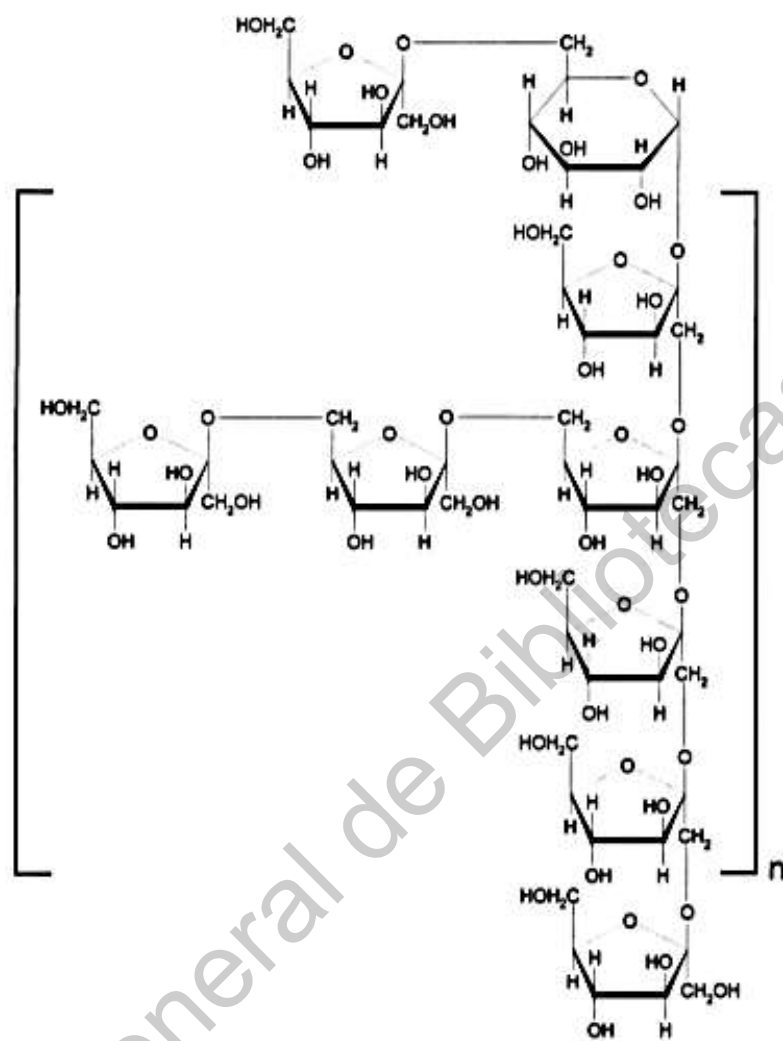


Figura 6. Estructura del fructano de ajo; grado de polimerización = 58 ($n = 9$) (Baumgartner y col, 2000).

1.1.6 Productos derivados de ajo

El comercio de ajo se divide en tres grandes segmentos de productos; mercado fresco, deshidratado y reserva de semillas; cada uno diferenciado por la forma en que se cultiva, se manipula y se utiliza. Aproximadamente una cuarta parte de todo el ajo de los Estados Unidos se vende como producto fresco. El resto se vende como varios productos, entre ellos deshidratados o se usan como semillas certificadas. Mientras que las semillas y el ajo deshidratado son de cosecha mecánica, el ajo fresco se cosecha a mano. El producto fresco se maneja con cuidado para preservar

la apariencia (tamaño, clasificación y almacenamiento), se envía y se vende de la misma manera que los productos frescos. El ajo fresco se puede comercializar durante 3 meses, desde que ha sido cosechado y almacenado en condiciones estándar (20 - 30 °C, HR < 75%), o hasta 6 meses si se mantiene a temperatura fría (-1 a 0 °C), incluso por un año cuando los bulbos se encuentran almacenados en atmósfera controlada (5 - 15% CO₂) (Medina y García, 2007).

1.2 Ajo negro

1.2.1 Definición

El ajo negro es el producto obtenido del proceso de envejecimiento del ajo fresco en condiciones de alta temperatura y alta humedad durante más de un mes, sin usar ningún aditivo artificial. Durante el proceso de calentamiento se propician la hidrólisis de fructanos y la reacción de Maillard que conducen a la formación de compuestos biológicos que no están presentes originalmente en el ajo fresco. El producto final desarrollado de esta manera es de color negro, con poco o nulo olor y sabor irritante que es reemplazado por un sabor dulce característico y es fácilmente comestible debido a su consistencia suave (Figura 7) (Kim y col., 2013; Kimura y col., 2017; Ríos-Ríos y col. 2018).

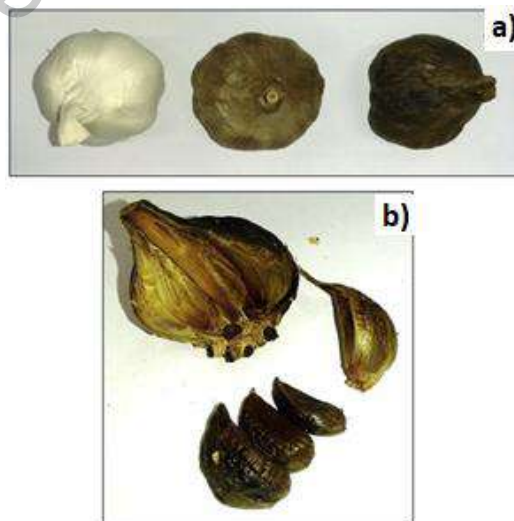


Figura 7. Ajo negro. a) Ajo durante el proceso de envejecimiento (de izquierda a derecha). b) Dientes de ajo negro (Kimura y col., 2017).

Esto se debe a varios cambios, entre ellos del compuesto alicina, que es responsable del olor característico del ajo fresco, en compuestos antioxidantes solubles en agua como la S-alilcisteína, tetrahydro- β -carbolinas, alcaloides biológicamente activos y compuestos similares a los flavonoides. La S-alilcisteína se forma por la degradación de la γ -glutamilcisteína e inhibe el daño oxidativo relacionado con el envejecimiento y diversas enfermedades. Los derivados de tetrahydro- β -carbolina, que se han identificado en extractos de ajo negro, también muestran efectos antioxidantes (Sook y col., 2014).

1.2.2 Composición del ajo negro

Varios estudios han reportado que los azúcares solubles en agua, los aminoácidos, los polifenoles totales y los flavonoides aumentan o disminuyen durante el procesamiento térmico del ajo fresco (Cuadro 3). Se ha reportado que tres de los compuestos de Amadori y tres de Heyns aumentaron significativamente en el ajo negro, hasta 40-100 veces más que lo encontrado en el ajo fresco. En contraste, a través del proceso de almacenamiento para convertir el ajo fresco en ajo negro, la cantidad de fructanos disminuyó simultáneamente, debido a su hidrólisis; y los productos, fructosa y glucosa, reaccionan con algunos de los aminoácidos los cuales participan en la reacción de Maillard (RM) (Kimura y col., 2017; Ríos-Ríos y col., 2018).

Cuadro 3. Comparación entre los componentes de ajo negro y ajo fresco (Kimura y col., 2017).

	Componentes de ajo negro comparados con ajo fresco	Concentración original (ajo fresco)
Azúcares solubles en agua	Incrementan 1.88 - 7.91 veces	450.00 mg/g
Polifenoles	Incrementan 4.19 veces	13.91 mg GAE/g
Flavonoides	Incrementan 4.77 veces	3.22 mg RE/g

Cuadro 3 continuación. Comparación entre los componentes de ajo negro y ajo fresco (Kimura y col., 2017).

	Componentes de ajo negro comparados con ajo fresco	Concentración original (ajo fresco)
Compuestos de Amadori y Heyns	Incrementan 40.00 – 100.00 veces	10.00 µg/g
Leucina	Incrementa 1.06 veces	58.62 mg/100 g
Isoleucina	Incrementa 1.67 veces	50.04 mg/100 g
Fenilalanina	Incrementa 2.43 veces	55.64 mg/100 g
Fructanos	Disminuyen 0.15 - 0.01 veces	580.00 mg/g
Cisteína	Disminuye 0.58 veces	81.06 mg/100 g
Tirosina	Disminuye 0.18 veces	449.95 mg/100 g

GAE=equivalentes de ácido gálico; RE=equivalentes de rutina.

1.2.3 Efecto del consumo de ajo negro en la salud humana

El ajo fresco se ha utilizado como medicina tradicional por la variedad de efectos biológicos derivados de su consumo, entre ellos aumenta la resistencia física, ayuda a la digestión y es usado como una alternativa para el tratamiento contra parásitos intestinales; además ayuda en el tratamiento de enfermedades cardíacas, artritis y fatiga (Sook y col., 2014). Numerosos estudios han demostrado que el ajo fresco posee una amplia gama de compuestos bioactivos, que poseen a su vez propiedades anti-oxidantes, anti-alérgicas, anti-diabéticas, anti-inflamatorias, anti-microbianas, anti-cancerígenas, anti-hipertensivas, hipo-colesterolémicas, hipo-lipidémicas, hepatoprotectoras e insecticidas (Rahman y Lowe, 2006). Diversos autores (Ichikawa y col., 2002; Ichikawa y col., 2006; Lee y col., 2009; Kim y col., 2011b; Kim y col., 2011c; Lee y col., 2011; Colin y col., 2012; Kim y col., 2012) han reportado que en el ajo negro se conservan algunas de estas propiedades.

Existen varios reportes acerca de los efectos biológicos de los compuestos bioactivos que tiene el ajo negro: anticancerígenos (Shin y col., 2010; Wang y col., 2012; Dong y col., 2014), antidiabéticos y contra la obesidad (Seo y col., 2009; Park y col., 2011; Kang y col., 2013; Jung y col., 2014), antialérgicos (Kim y col., 2012; Yoo y col., 2014), hepatoprotectores (Shin y col., 2014), cardioprotectores (García y col., 2016), neuroprotectores (Aminuddin y col., 2015; Hermawati y col., 2015) y antitrombóticos (Yang, 2007; Jung y Sohn, 2014); en la revisión realizada por Ryu y Kang (2017) de igual manera se mencionan los efectos anteriores y además se hace especial énfasis en su actividad anti-oxidante y anti-inflamatoria.

La actividad antioxidante es la propiedad más relevante del ajo negro. Diversos estudios en células RAW264.7 y en ratones han demostrado que los compuestos del ajo negro presentan actividad antioxidante; el piruvato es la principal molécula antioxidante abundante en el ajo negro (Das, 2006; Gupta y col., 2012); sin embargo, también se han encontrado otros antioxidantes representativos como son los fenoles, flavonoides, tiosulfato, S-alilcisteína (SAC), S-alilmercaptocisteína (SAMC) derivados de tetrahydrocarbolina, N-fructosil glutamato, N-fructosil arginina, alixina, selenio y N- α -(1-desoxi-D-fructos-1-il)-L-arginina (Fru-Arg) (Imai y col., 1994; Ryu y col., 2001; Banerjee y col., 2003; Ichikawa y col., 2006; Sato y col., 2006a; Sato y col., 2006b; Choi y col., 2008; Shin y col., 2008a; Shin y col., 2008b; Lee y col., 2010; Cha y col., 2012; Shin y col., 2014). Por su parte, los compuestos del ajo negro que muestran efectos anti-inflamatorios son el piruvato (Jeong y col., 2016), 2-linoleoilglicerol (Kim y col., 2017) y 5-hidroximetilfurfural (5-HMF) (Kim y col., 2011a).

1.2.4 Reacción de Maillard

La RM es la reacción química más importante en el procesamiento del ajo negro, en el que los azúcares reductores (AR) y los aminoácidos son los principales sustratos (Ríos-Ríos y col., 2018; Ríos-Ríos y col., 2019), esta reacción fue reportada en 1912 por Louis-Camille Maillard. Se origina por la interacción de los grupos amino de aminas, aminoácidos y proteínas con el grupo carbonilo de AR, aldehídos y cetonas (Barreiro y Sandoval, 2006).

La RM puede ocurrir durante el calentamiento de un alimento que contiene azúcares reductores y proteínas, en cualquier etapa de su procesamiento o durante su almacenamiento prolongado. Debido a la participación de aminoácidos y azúcares reductores en esta reacción, el valor nutricional del alimento se ve afectado. La reacción permite la condensación entre grupos amino de los aminoácidos, péptidos y proteínas con grupos carbonilos de los AR (reacción carbonilamino) (Barreiro y Sandoval, 2006), dando como resultado la formación de bases de Schiff y posteriormente ocurre el reordenamiento en productos Amadori o Heyns. Estas moléculas se enolizan a 1,2-enaminol o 2,3-enaminol y forman desoxiosonas (compuestos α -dicarbonilo) reactivos capaces de reaccionar fácilmente con nucleófilos (como otras aminas, guanidinas y tioles); estos compuestos α -dicarbonilo también pueden sufrir degradación de Strecker por condensación con aminoácidos libres, formando iminas, que luego se fragmentan para formar aldehídos de Strecker. Otras reacciones posteriores incluyen la formación de productos finales de glicación avanzada (AGEs) como: modificaciones formadas en los residuos de lisina, furfural, 5-HMF, reductonas y acrilamida. Con el tiempo, mediante reacciones de condensación se forman compuestos poliméricos (melanoidinas) que provocan el oscurecimiento (Lund y Ray, 2017). Un esquema de la RM se presenta en la Figura 8.

La RM se ve afectada por diversos factores de los cuales destacan la temperatura, pH, actividad de agua y sustancias reactantes. En relación a la temperatura, se ha demostrado que esta reacción se puede presentar incluso en condiciones de refrigeración (4 °C), aunque se ve favorecida a medida que aumenta la temperatura; principalmente a temperaturas por arriba de 70 °C. El valor de pH también tiene un efecto importante sobre el desarrollo de esta reacción ya que a valores de pH ácido (por debajo de 5.0) la reacción se hace muy lenta y puede incluso llegar a inhibirse, mientras que a pH alcalino o por arriba de 7.0 la reacción se acelera, siendo el rango de 10 a 12.0 el óptimo para la reacción. Otro parámetro que influye es el valor de actividad de agua (A_w), se ha reportado que en alimentos con valores de A_w baja (menor a 0.2) la reacción no se presenta mientras que se da de forma óptima a

valores de A_w entre 0.6 y 0.8. De igual manera, las sustancias reaccionantes influyen ya que cuanto menor es el tamaño de las moléculas que contienen los grupos carbonilo o amino reaccionantes, mayor es la velocidad de la reacción; así, los monosacáridos inducen más fácilmente la reacción que los disacáridos al igual que los aminoácidos libres o los péptidos de pequeño tamaño inducen la reacción con más facilidad que los de gran tamaño o las proteínas (mientras que dentro de éstas inducen con mayor facilidad la reacción las proteínas ricas en lisina) (Labuza, 1971; Ajandouz y col., 2001; Romero y Mestres, 2004).

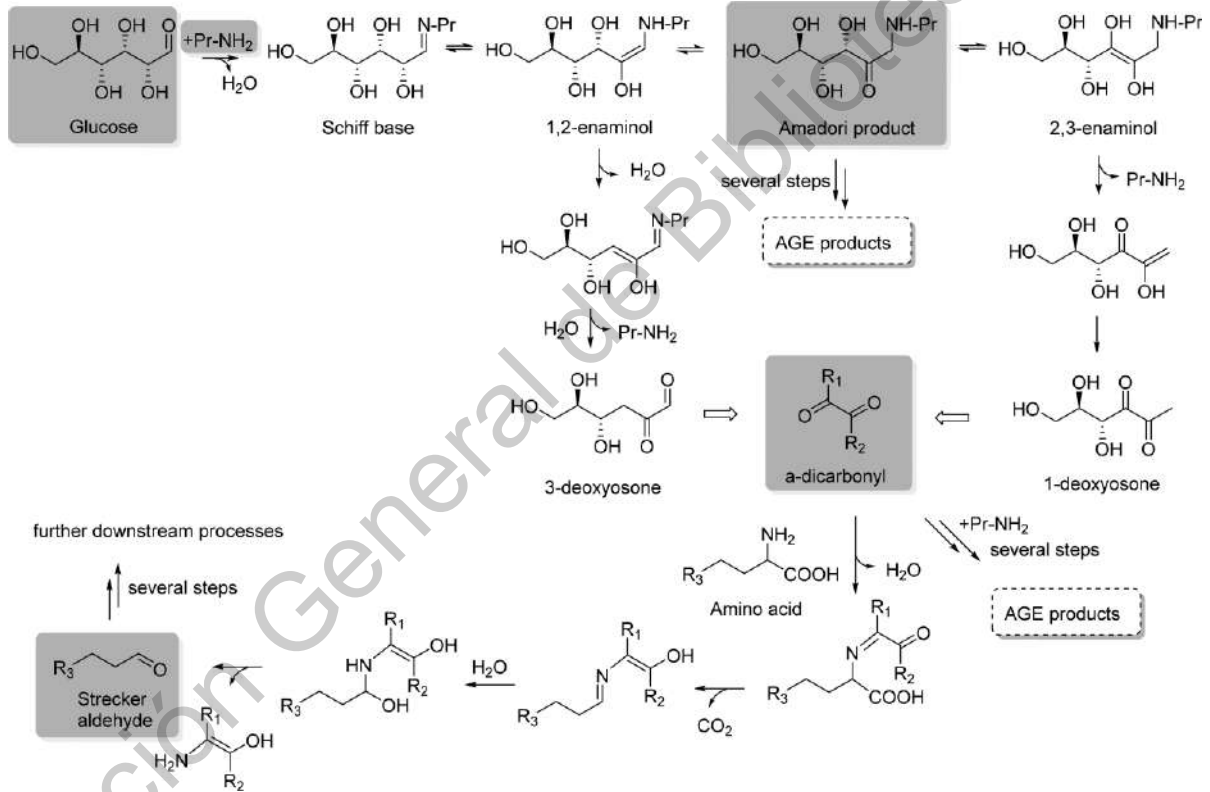


Figura 8. Esquema de la reacción de Maillard (Lund y Ray, 2017).

En el ajo negro, la formación de 5-HMF se correlaciona con la intensidad del color negro. Cuando su contenido alcanza los 4 g/kg, el color del ajo se torna negro. El contenido final de 5-HMF está condicionado por el proceso, así a mayor humedad relativa y temperatura, mayor formación de 5-HMF. Estudios reportados estiman que

la cantidad máxima de 5-HMF producida al final del proceso de elaboración de ajo negro es de aproximadamente 5 g/kg de producto (Lee y col., 2020; Ríos-Ríos y col., 2019; Sun y Wang, 2017; Zhang y col., 2016).

Solo unos pocos organismos reguladores han emitido las pautas y los límites relacionados con el contenido de 5-HMF en los alimentos. El consumo de 5-HMF más allá del límite dietético prescrito puede resultar en efectos nocivos negativos en los seres humanos tales como carcinógenos, genotóxicos, organotóxicos, entre otros. Hasta la fecha, solo en pocos productos se han establecido pautas para dictar un límite para la ingesta dietética de 5-HMF, que es un tema alarmante y debe cuidarse para la seguridad alimentaria sostenible. Por ejemplo, la Comisión del Codex Alimentarius (CODEX) establece un límite máximo de 5-HMF en la miel de 0.04 g/kg (0.08 g/kg en miel) como una forma de asegurar que el producto no haya sufrido un proceso de calor. Sin embargo, se han reportado niveles muy altos de 5-HMF en algunos productos alimenticios, como peras secas (3,5 g/kg), productos de caramelo (9,5 g/kg), café instantáneo en polvo (6,2 g/kg) y sustitutos de café (13,9 g/kg). Las Normas de la Comisión del Codex Alimentarius no establecen límites para 5-HMF en ajo negro (Choudhary y col., 2020; Edris y col., 2007; Lee y col., 2020).

1.2.5 Métodos de obtención de ajo negro

1.2.5.1 Método tradicional para la obtención de ajo negro

El tratamiento tradicional (TT) para obtener ajo negro se basa en el almacenamiento de bulbos de ajo fresco en condiciones controladas de alta humedad y alta temperatura. Las condiciones de almacenamiento son variadas; de manera general, se lleva a cabo en un rango de HR entre 60 a 95%, temperaturas desde 40 a 90 °C y por tiempos que pueden variar desde 30 hasta 90 días (Jing, 2020). El cambio más notorio es el cambio de color; la Figura 9 muestra los cambios de color reportados por Choi y col. (2014) durante el almacenamiento de ajo fresco a 70 °C con HR de 90% y durante 35 días; en estas condiciones se observa que la RM se comienza a manifestar a los 7 días de almacenamiento.

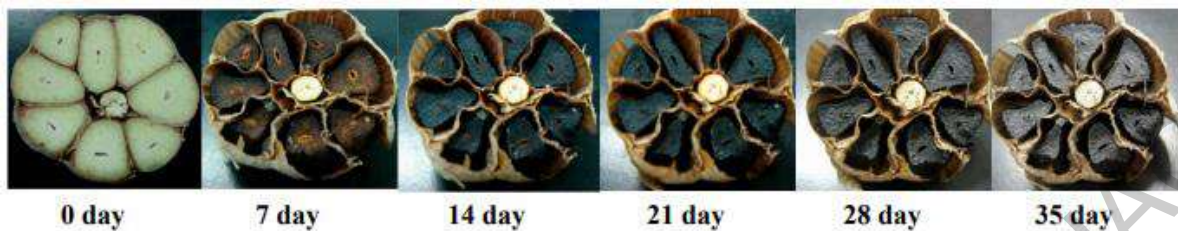


Figura 9. Cambios en el color del ajo negro durante el periodo de envejecimiento (Choi y col., 2014).

El periodo de almacenamiento del ajo es más corto a mayores temperaturas. Zhang y col. (2016) realizaron un estudio para evaluar el efecto de la temperatura en la calidad del ajo negro. Encontraron que el ajo que se obtiene en condiciones de HR de 80% y a 60 °C desarrolla tonalidades cafés oscuras pero no negras y que la velocidad de la RM fue dos veces más rápida a 70 que a 60 °C. A través de una evaluación sensorial, reportaron que la calidad del ajo negro (medida por su aceptación) es mejor y que su color negro es más homogéneo cuando el ajo se obtiene del almacenamiento a 70 u 80 °C. Aunque el ajo negro se obtiene más rápido en un almacenamiento a 90 °C, el sabor del mismo es amargo y agrio, lo cual disminuye su calidad y aceptación; aunado a esto, descubrieron que aunque el contenido de AR aumentaba a altas temperaturas (80 y 90 °C), el ajo negro no tiene un sabor dulce adecuado debido al consumo de una gran cantidad de AR en condiciones de alta temperatura.

Sun y Wang (2017) evaluaron el efecto del uso de distintas temperaturas (65, 75 y 85 °C) y humedades relativas (70, 75, 80 y 85%) durante la producción de ajo negro. Reportaron que en 8 días de almacenamiento, la puntuación sensorial más alta se dio a los ajos almacenados a mayor HR (85%) y temperatura entre 75 y 85 °C. El contenido de humedad del ajo negro disminuyó al almacenarse a menor HR y mayor temperatura. En tanto que el desarrollo del color negro no se vio influenciado significativamente por la HR, pero a temperatura de 65 °C se desarrolló significativamente más lento que a 75 y 85 °C. Por otra parte, también se mostró que el contenido de AR aumentó notablemente con el aumento de la temperatura.

El contenido de AR también se considera un factor importante durante el proceso de almacenamiento. El contenido de AR aumenta gradualmente en 60 y 70 °C durante todo el proceso, lo que significa que a estas temperaturas la tasa de formación de AR es más rápida que su tasa de consumo. Aunque el contenido de AR aumenta a altas temperaturas, en el caso del procesamiento a 80 y 90 °C, el ajo negro no tiene un sabor dulce apropiado debido al consumo de una gran cantidad de AR en condiciones de alta temperatura (Kimura y col., 2017).

1.2.5.2 Pretratamientos para la elaboración de ajo negro

El periodo de tiempo en la producción, así como el alto consumo de energía (altos costos de producción) y la calidad inconstante del método tradicional (TT) no pueden satisfacer la demanda de la producción industrializada (Li y col., 2020).

Es evidente que ocurre hidrólisis de los fructanos durante el periodo de almacenamiento. De manera que si se aplica un pretratamiento al ajo antes de someterlo a la condición de alta temperatura y alta humedad (TT) se puede disminuir el tiempo necesario para obtener un producto de calidad; en el laboratorio de Fisiología Poscosecha de Frutas y Hortalizas de la UAQ se han aplicado diversos pretratamientos que se describen a continuación.

1.2.5.2.1 Calentamiento óhmico, secado convectivo y almacenamiento a -20 °C

El TT para la obtención de ajo negro requiere de la exposición del ajo fresco a altas temperaturas que pueden variar de 70 a 90 °C y altas humedades relativas, generalmente a 95%, el tiempo necesario puede variar desde 30 hasta 90 días (Ríos-Ríos y col., 2018). La aplicación de pretratamientos previo al almacenamiento caliente-húmedo ayuda a acelerar el proceso ya que permite promover la hidrólisis de los fructanos, que son compuestos necesarios para que se presente la RM y con ello reducir el tiempo de producción. Entre estos pretratamientos se han reportado el secado convectivo (Ríos-Ríos y col., 2018), el calentamiento óhmico (Ríos-Ríos y col., 2018) y el almacenamiento a -20 °C (Moreno-Mayorga, 2020) de ajo fresco.

En el caso del pretratamiento de secado convectivo, los bulbos de ajo fresco se colocaron en un horno eléctrico comercial marca Riossa modelo H-82 (220 V, 2200 W) por 4 días a 70 °C con humedad relativa de 9% antes de su exposición a 70 °C en HR de 95%. Con este pretratamiento el ajo negro se obtuvo en 12 días, mientras que el ajo sin pretratamiento requirió de 30 días; a pesar de la disminución del tiempo de producción, la calidad del ajo negro no fue buena ya que el resabio a ajo fue muy marcado lo cual provocó el rechazo por parte de los consumidores (Ríos-Ríos y col., 2018).

Por su parte, el calentamiento óhmico se basa en la elevación de la temperatura en el interior del material expuesto como resultado de la resistencia que ofrece al paso de la corriente eléctrica que pasa a través del mismo. Las ventajas de este proceso se derivan del hecho de que el calentamiento tiene lugar en el interior del alimento (Poggio, 2018). Los bulbos de ajo fresco que se sometieron al calentamiento óhmico se colocaron dentro de una celda de acrílico con dos electrodos de acero inoxidable conectados a una fuente de corriente alterna, un amperímetro y un voltímetro, las muestras se trataron durante 10 min a 70 °C y 130 V. El ajo negro obtenido después de 12 días en condiciones de 70 °C y 95% HR presentó una muy buena aceptación por parte de los consumidores, incluso mejor que el ajo negro control (Ríos-Ríos y col., 2018). Una desventaja de este tratamiento es la necesidad de contar con un calentador óhmico.

Otro pretratamiento para la obtención de ajo negro es el almacenamiento a -20 °C del ajo fresco, lo cual promueve la ruptura celular y por ende, permite que las sustancias intracelulares fluyan durante la descongelación de las células rotas a causa de la congelación (Li y col., 2015); particularmente, los fructanos están más expuestos para la hidrólisis y por tanto este daño acelera la RM cuando el ajo descongelado pasa a condiciones de 70 °C y 95% HR. La exposición de bulbos de ajo fresco a -20 °C durante 24 horas como pretratamiento disminuyó el tiempo para obtener ajo negro de 32 a 21 días conservando las propiedades fisicoquímicas y de calidad del ajo negro, con una capacidad antioxidante dos veces mayor que el control

sin previa congelación; aunque con una ligera pungencia y un sabor ligeramente menos dulce (Moreno-Mayorga, 2020).

Para mejorar la eficiencia del procesamiento, se han probado muchos tipos de pretratamientos; tanto en las investigaciones mencionadas previamente (realizadas en el laboratorio de Fisiología Poscosecha de Frutas y Hortalizas) como en investigaciones realizadas por otros autores donde se ha evaluado el uso de pretratamientos como congelación, campos eléctricos pulsados de alto voltaje, microondas y altas presiones hidrostáticas (Qiao y col., 2013; Li y col., 2015; Ma y col., 2015; Li y col., 2020). El empleo de estos pretratamientos ha mejorado la calidad del ajo negro y acortado el tiempo de procesamiento hasta 8 días. Sin embargo, debido al alto consumo de energía, la gran complejidad operativa de la carga de trabajo y la disminución de la textura del ajo negro, estos pretratamientos aún no se aplican en la producción continua industrializada (Li y col., 2020). Por lo que el interés por buscar otros pretratamientos que pueden aplicarse para disminuir el tiempo de obtención de ajo negro ha llevado a proponer la sonicación como otra alternativa.

1.2.6 Aplicación de la sonicación en alimentos

La sonicación es una técnica que se basa en la aplicación de ultrasonido a una muestra en estudio, generalmente con una frecuencia de 20 - 50 kHz. Uno de los efectos es promover la lisis celular por cavitación e impacto de las ondas (Iannone, 2018).

El ultrasonido es la energía generada por ondas sonoras de 20,000 o más vibraciones por segundo. De manera general, existen dos métodos de aplicación de la sonicación: directo e indirecto. En el método directo, una sonda se inserta directamente en un recipiente que contiene la muestra, mientras que la sonicación indirecta se realiza por inmersión de la muestra en agua donde se propagan las ondas ultrasónicas.

Los usos del ultrasonido en la industria alimentaria se clasifican ampliamente en dos grupos: de baja y alta energía. Las aplicaciones de ultrasonido de baja energía (baja

potencia, baja intensidad) implican el uso de frecuencias superiores a 100 kHz a intensidades inferiores a 1 W/cm^2 , que generalmente no son destructivas; se utilizan con éxito para el seguimiento no invasivo de los procesos alimentarios y como técnica analítica para proporcionar información sobre las propiedades fisicoquímicas de los alimentos, como su composición, estructura y estado físico. El otro grupo es el ultrasonido de alta energía (alta potencia, alta intensidad), que utiliza intensidades superiores a 1 W/cm^2 (normalmente en el rango de $10\text{-}1000 \text{ W/cm}^2$), a frecuencias entre 18 y 100 kHz; se ha utilizado durante muchos años para generar emulsiones, romper células y dispersar materiales agregados. En la industria de alimentos la sonicación se ha usado para mejorar la extracción de oligofructanos e inulina (Galanakis, 2017).

Milani y col. (2011) realizaron un estudio de la extracción asistida por ultrasonido para mejorar el rendimiento de la extracción de inulina de la raíz de bardana (*Arctium lappa*) utilizando sonicación directa a 25 kHz. Encontraron que el uso de sonicación durante la extracción ayuda a obtener un mejor rendimiento en comparación con el método convencional con agua caliente, las condiciones óptimas fueron $t = 25 \text{ min}$ y $T = 36.76 \text{ }^\circ\text{C}$.

Narváz y col. (2015) evaluaron el efecto de la intensidad y temperatura del ultrasonido en la extracción de fructanos de agave (*Agave tequilana* Weber var. Azul) y reportaron que dicha extracción aumentó significativamente con el uso de ultrasonido. Estos autores reportaron que con intensidad de 49 mW/mL a $40 \text{ }^\circ\text{C}$ se extrajo la máxima concentración de fructanos, carbohidratos totales y AR: 7.2, 7.79 y 0.54 g/100 g en muestra seca., respectivamente. El análisis por microscopía realizado en este estudio mostró una alteración en la estructura celular y algunos daños en la pared celular de la planta de agave a una alta intensidad de ultrasonido. Sin embargo, también encontraron que la aplicación de ultrasonido ocasiona ruptura de las moléculas de fructano formándose fragmentos de bajo peso molecular derivado de la acción directa del ultrasonido, lo cual puede disminuir la calidad y funcionalidad de estos compuestos bioactivos.

Lingyun y col. (2007) realizaron una comparación entre la extracción de inulina asistida por ultrasonido (directo e indirecto) y la técnica de extracción convencional en alcachofa de Jerusalén. Encontraron que el uso de ultrasonido permitió que la extracción de inulina se llevara a cabo de forma más rápida y con mayor rendimiento, las condiciones en que se conseguía mayor rendimiento de extracción fueron: sonicación indirecta a frecuencia de 59 kHz por 10 min a 76 °C y sonicación directa a frecuencia de 20 kHz por 8 min a 76 °C. Los resultados que obtuvieron mostraron que a pesar de que el uso de sonicación directa fue el que permitió obtener mayor rendimiento de extracción y en menor tiempo, había mayor degradación de la inulina (lo que cambió su composición química) por lo que el uso de sonicación directa no es adecuada en la extracción de inulina, pero se puede usar en la despolimerización de esta para obtener inulina de cadena corta. Esto los llevo a concluir que la sonicación indirecta es más conveniente para la extracción de inulina en alcachofa de Jerusalén debido a que evita que haya contaminación y pérdida del extracto; además de que no ocasiona despolimerización de la inulina (como la sonicación directa) y es casi 2 veces más rápida que la extracción convencional.

Pourfarzad y col. (2015) realizaron un estudio similar al anterior donde evaluaron la extracción de fructanos de polvo de raíz de *Eremurus spectabilis* con extracción convencional, sonicación directa (frecuencia: 24 kHz, intensidad: 200 W, T: 60 °C) e indirecta (frecuencia: 25 kHz, intensidad: 500 W, T: 60 °C). Los resultados que obtuvieron fueron similares a los reportados por Lingyun y col. (2007); es decir, el uso de sonicación aumentó el rendimiento y pureza además de que permitió el uso de menor temperatura para completar la extracción en un tiempo similar. La sonicación directa fue el método con el que se obtuvo mayor rendimiento de extracción y pureza, pero con menor grado de polimerización en comparación con la sonicación indirecta; por lo tanto, los autores concluyeron que la extracción por sonicación indirecta es más adecuada para la extracción de fructanos, ya que permite obtener mayor rendimiento y pureza que con la extracción convencional, además de que requiere de menor temperatura (60 °C en lugar de 87.99 °C) y derivado de esto los compuestos extraídos tienen mayor grado de polimerización (no hay modificación

en su composición química) que los obtenidos por medio de la extracción convencional y la asistida por sonicación directa.

En base a los estudios mencionados con anterioridad se sabe que la sonicación ha demostrado optimizar la extracción de fructanos e inulina, aumentando el rendimiento y disminuyendo el tiempo de extracción. Sin embargo, como lo mencionan Apolinário y col. (2014), se necesita tomar precaución al realizar extracciones asistidas por ultrasonido porque algunos fragmentos de bajo peso molecular se forman por la acción directa del ultrasonido y se producen cambios en la composición química de los compuestos; por lo tanto, la sonicación indirecta sería más adecuada para extraer dichos compuestos ya que permite extracciones más rápidas y con mayores rendimientos sin afectar la composición química y, por ende, la funcionalidad de los componentes bioactivos.

1.2.6.1 Parámetros del proceso de sonicación

En general, los factores más influyentes durante la aplicación de sonicación son el tipo, el peso molecular y la concentración del polisacárido; así como la intensidad y la frecuencia del ultrasonido, además de la temperatura y el tiempo de tratamiento. Mientras que la formación de radicales o las reacciones térmicas por ultrasonido pueden ser más efectivas para compuestos con bajo peso molecular, los efectos principales de las macromoléculas están asociados con fuerzas mecánicas de corte, que son más pronunciadas con el aumento en el tamaño del compuesto. Las posibilidades para interactuar con la energía de la cavitación aumentan con el peso molecular y las moléculas pequeñas tienen tiempos de relajación más cortos y pueden soportar el estrés de la sonicación con mayor facilidad. Aunque los efectos del ultrasonido generalmente aumentan con la intensidad, esto solo es válido hasta cierto valor, ya que grandes cantidades de burbujas de cavitación podrían actuar como una barrera para la transmisión de energía en el sistema. En relación con la temperatura, y para obtener el máximo efecto de ultrasonido mecánico, los ensayos deben realizarse a la temperatura más baja posible; 60 °C parece ser la temperatura máxima para que las burbujas de cavitación se unan con las burbujas de vapor. En

general, la degradación de los polisacáridos aumenta con el tiempo prolongado de ultrasonido (Villamiel y col., 2017).

1.2.6.2 Efectos de la sonicación sobre los carbohidratos

Los carbohidratos son elementos fundamentales que se pueden encontrar tanto en plantas como en animales. A diferencia de las proteínas, su peso molecular y estructura precisa pueden variar ampliamente incluso dentro de un único tipo de carbohidrato. En general, los carbohidratos son significativamente más fuertes y rígidos que las proteínas; una propiedad que tiene implicaciones importantes para su interacción con las ondas de ultrasonido de alta intensidad, si bien el ultrasonido parece ser particularmente útil para la extracción de polímeros de bajo peso molecular como los azúcares simples u oligómeros, también se ha utilizado para la extracción de carbohidratos complejos, y se han publicado informes de extracción exitosa de dextrano, xilano, pectina, quitina y celulosa (Heldman y Moraru, 2014). En estos casos, se ha informado poco efecto sobre sus propiedades funcionales. A la inversa, la ultrasonicación de las dispersiones moleculares de carbohidratos puede llevar a la generación de especies químicamente diversas, lo que puede atribuirse a una hidrólisis y a la ruptura aleatoria de la cadena del esqueleto del polímero de carbohidratos, lo que resulta en una reducción del peso molecular de los carbohidratos originales o la inducción de una variedad de reacciones químicas tales como modificaciones de la cadena lateral y recombinaciones de los oligómeros y fragmentos generados de forma sonoquímica. Por ejemplo, la sonicación del almidón condujo a la formación de moléculas de cadena más corta y AR (Heldman y Moraru, 2014).

Los métodos sonoquímicos son potencialmente útiles en la química de carbohidratos. Primero, el efecto mecánico de las ondas acústicas mejora las reacciones heterogéneas, por ejemplo, de azúcares simples o poliméricos, en términos de condiciones experimentales más suaves que reducen la necesidad de disolventes caros o contaminantes. En segundo lugar, debido a la fácil formación de especies reactivas transitorias (radicales), se pueden diseñar nuevas transformaciones. La

sonoquímica tiene aplicación en la despolimerización parcial o total inducida por ultrasonidos de polisacáridos naturales. A una frecuencia de 722 kHz, se producen moléculas de cadena más cortas según lo indicado por las mediciones de viscosidad. Cuando se utilizan sonidos audibles (1 - 15 kHz), también se forman algunos AR (Bera y col., 2015).

Se sabe que los polisacáridos constituyen una importante fuente cualitativa y cuantitativa de carbohidratos valiosos. Sin embargo, su aplicación para muchos usos químicos o biológicos requiere una despolimerización parcial o total previa, que generalmente se realiza mediante hidrólisis química o enzimática fuerte siguiendo métodos convencionales. La posibilidad de aplicar tecnologías emergentes como el ultrasonido como alternativa o complemento a estas técnicas para la reducción de peso molecular proporciona un enfoque poderoso para aumentar el rendimiento de despolimerización, disminuir el tiempo de proceso y evitar reacciones no deseadas. Aunque podrían estar involucrados otros mecanismos, la despolimerización de macromoléculas por medio de sonicación puede explicarse como resultado de diferentes efectos: (1) cavitación (20 - 100 kHz), en la cual se produce una degradación mecánica durante el colapso de las burbujas, lo que provoca un aumento de la temperatura en la zona de burbujas y oscilaciones de presión propagadas a través del material, y (2) degradación química debido al efecto de los radicales hidroxilo (100 - 2000 kHz); el primero de estos efectos es el más habitual. Como consecuencia de la ruptura del polisacárido, sus propiedades fisicoquímicas y funcionales pueden modificarse de una manera diferente, dependiendo de las condiciones de procesamiento (Villamiel y col., 2017).

En este trabajo de tesis se planteó evaluar la aplicación de la sonicación indirecta como pretratamiento a la elaboración de ajo negro y evaluar la calidad del producto obtenido.

2. HIPÓTESIS

La aplicación de sonicación de manera indirecta como pretratamiento reduce el tiempo de producción de ajo negro sin afectar su calidad final.

Dirección General de Bibliotecas UAQ

3. OBJETIVOS

3.1 General

Evaluar el efecto del uso de la sonicación indirecta como pretratamiento en la elaboración de ajo negro y su efecto tanto en el tiempo de producción como en la calidad del producto final.

3.2 Específicos

Evaluar el efecto del tiempo de sonicación indirecta en la elaboración de ajo negro a través del cambio de color, la concentración de azúcares reductores (AR) y sólidos solubles totales (°Bx).

Evaluar la calidad de ajo negro producido con el uso de sonicación como pretratamiento a través de parámetros fisicoquímicos, bromatológicos, microbiológicos y sensoriales y compararla con la de un ajo negro comercial.

4. METODOLOGÍA

En este trabajo se evaluó el efecto de la aplicación de sonicación como pretratamiento al almacenamiento de ajo fresco en condiciones de alta temperatura y humedad (TT) para obtener ajo negro. La estrategia experimental se muestra en la Figura 10.

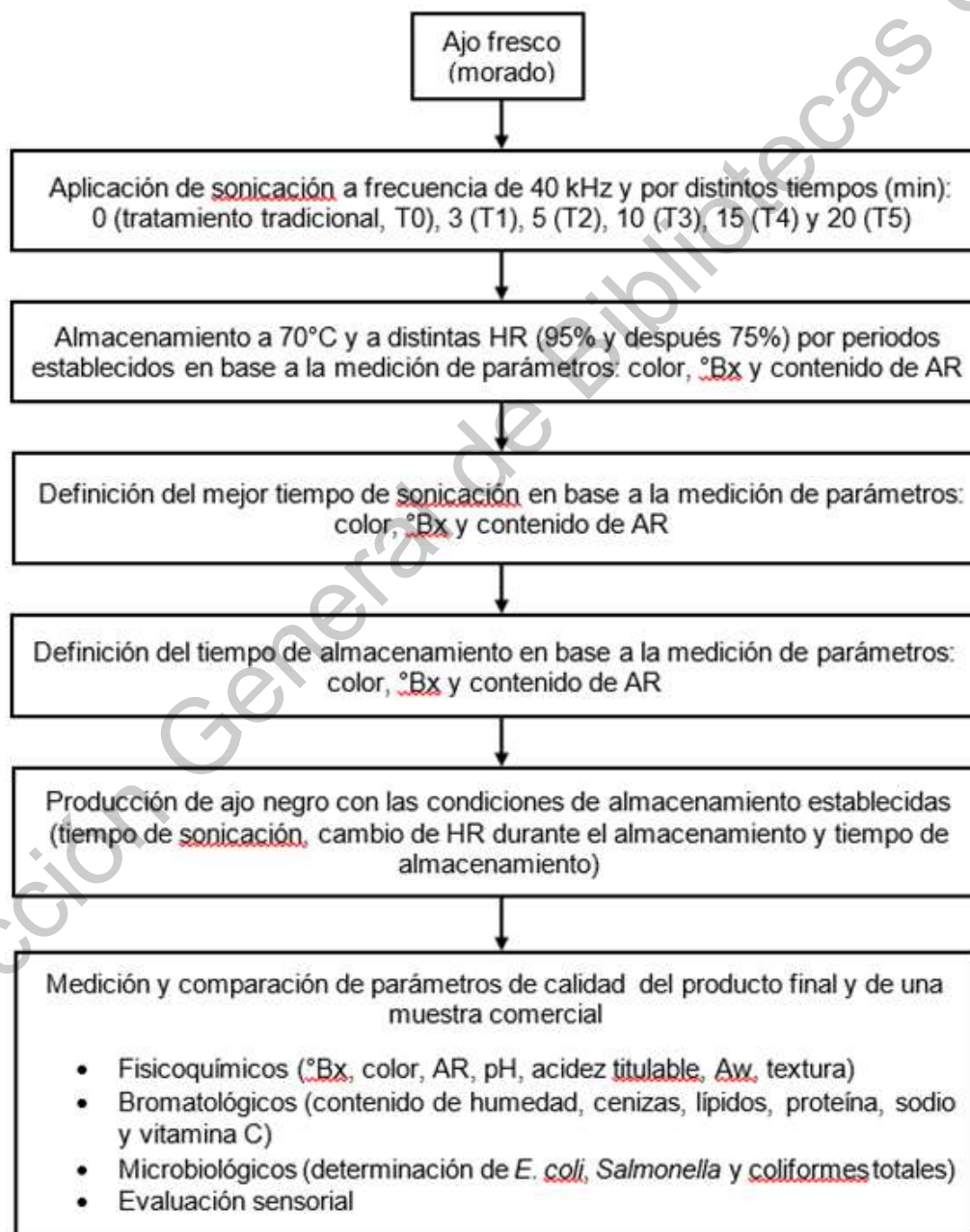


Figura 10. Estrategia experimental.

4.1 Material biológico

Los bulbos de ajo morado (*Allium sativum* L.) que se usaron en los experimentos fueron adquiridos en la central de abastos de la ciudad de Querétaro, seleccionando aquellos bulbos libres de daño y de defectos. Todo el material que se usó fue sanitizado con una solución de hipoclorito de sodio (NaClO) a 200 ppm durante 10 min (López, 2003). Los experimentos se realizaron en la planta piloto de alimentos, y los análisis se realizaron en los laboratorios de fisiología y bioquímica poscosecha de frutas y hortalizas, en el laboratorio de análisis de alimentos y en el laboratorio de microbiología molecular, todos del Posgrado de Alimentos de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro.

4.2 Métodos

4.2.1 Tratamiento tradicional para obtener ajo negro

Para la elaboración de ajo negro se utilizó un horno ahumador con regulador de temperatura Marca Koch modelo 320034 (Figura 11a), la cual se mantuvo en 70 °C. Se montó un sistema cerrado adecuado para mantener suspendidas las muestras en un ambiente de humedad alta, que consistió en frascos de vidrio con tapa que contenían en el fondo agua pura o una solución saturada de NaCl (sal común de mesa) que proporcionaban la HR deseada (95% y 75%, respectivamente) y los bulbos de ajo se colocaron sobre una plato o se mantuvieron suspendidos al estar soportados en un costal (Figura 11b).



Figura 11. a) Horno ahumador con regulador de temperatura Marca Koch modelo 320034. b) Sistema de almacenamiento de bulbos de ajo para la obtención de ajo negro, mostrando la adecuación para sostener los ajos.

4.2.2 Sonicación de bulbos de ajo

Lotes de 60 bulbos de ajo fresco se sometieron a ultrasonido (sonicación) en un sonicador Marca CIVEQ modelo 8893, por el método indirecto; colocando los bulbos en un vaso de precipitados lleno de agua (Figura 12). El tiempo de sonicación varió para cada tratamiento como se observa en el cuadro 4, los tiempos aplicados fueron de 3, 5, 10, 15 y 20 min a una sola frecuencia (40 kHz) definida por el equipo; el tratamiento control (T0) fue aquel donde los bulbos de ajo no se sometieron a sonicación. Posteriormente los bulbos de ajo fueron tratados de la manera descrita en el punto 4.3.1.



Figura 12. Aplicación de sonicación a bulbos de ajo.

Cuadro 4. Tratamientos utilizados durante el experimento.

Tratamiento	Tiempo de sonicación (min) a 40 kHz
T ₀ (Control)	0
T1	3
T2	5
T3	10
T4	15
T5	20

4.2.3 Determinación de las mejores condiciones de sonicación

Para establecer el tiempo óptimo de sonicación para la producción de ajo negro se establecieron 3 parámetros como base: contenido de azúcares reductores (AR), sólidos solubles totales (°Bx) y el color; estos análisis se determinaron durante el almacenamiento de los bulbos de ajo de los 6 tratamientos.

4.2.3.1 Determinación de azúcares reductores

La determinación de AR para todas las pruebas, durante el almacenamiento para obtener ajo negro, se realizó con el método DNS el cuál se basa en la reducción endotérmica del DNS, de color amarillo, por AR (que poseen un único extremo reductor), para producir el ácido 3-amino-5-dinitrosalicílico de color rojo pardo, con máxima absorción a una longitud de onda de 540 nm (Carrascal y col., 2013).

Para el caso de ajo fresco, se homogenizaron con el uso de un Ultra-Turrax marca IKA modelo T25 1.0 g de ajo en 25 mL de agua, y para el ajo negro 0.5 g en 50 mL de agua; las muestras se filtraron por separado. En un tubo de ensaye se adicionaron 0.5 mL de extracto y 0.5 mL de reactivo de DNS, y se colocaron en un baño María a ebullición por 5 min. Los tubos se dejaron enfriar a temperatura ambiente y posteriormente se agregaron 5 mL de agua destilada (Figura 13).



Figura 13. Muestras para medición de azúcares reductores (AR) por el método DNS: de extracto de ajo (izquierda) y soluciones empleadas en la curva patrón (derecha).

Finalmente, se realizó la lectura de la absorbancia a 540 nm en un espectrofotómetro UV-Vis marca Dynamica modelo HALO XB-10 para poder determinar el contenido real de AR, los resultados obtenidos se ajustaron utilizando el factor de dilución correspondiente.

El contenido de AR fue calculado como mg de fructosa/g de muestra, usando como base para el cálculo de concentración una curva patrón de fructosa con las siguientes

concentraciones: 0, 0.25, 0.5, 1 y 2 g/L. Se desarrolló la reacción de las soluciones de fructosa con el reactivo DNS como se hizo con los extractos de ajo (Figura 13).

4.2.3.2 Determinación de grados Brix

Los sólidos solubles totales o grados Brix ($^{\circ}\text{Bx}$) representan el porcentaje de sacarosa en solución medido con un refractómetro, donde el fundamento se basa en el hecho de que un rayo de luz al atravesar un líquido transparente es desviado de su trayectoria. Mientras mayor sea la cantidad de sustancias disueltas en el líquido, esta desviación (índice de refracción) será mayor (Pszczólkowski y Ceppi, 2014).

El contenido de sólidos solubles totales se determinó por medio de un refractómetro marca HANNA Instruments modelo HI-96801 y se reportó como $^{\circ}\text{Bx}$ (NMX-F-236-S-1979). Los bulbillos o dientes de ajo se exprimieron usando un exprimidor de ajos y tela de organza y se colocaron las gotas del extracto en el refractómetro previamente calibrado con agua destilada. Para las muestras en las que no fue posible realizar la extracción de forma directa, se tomaron 10 g de muestra y se molieron con 20 mL de agua destilada, posteriormente se filtraron y se determinó el valor de $^{\circ}\text{Bx}$ ajustando al factor de dilución empleado. La medición de los grados $^{\circ}\text{Bx}$ se ilustra en la Figura 14.



Figura 14. Medición de $^{\circ}\text{Bx}$ del extracto de ajo negro.

4.2.3.3 Evaluación de color

Durante la conversión de ajo fresco en ajo negro se propician reacciones de oscurecimiento no enzimático del tipo Maillard, esto ocasiona que con el paso del tiempo el color del ajo sea cada vez más oscuro.

Se midió el color interno y externo de los bulbos de ajo usando un colorímetro marca Konica Minolta modelo CR-400. Se registraron las coordenadas de color a^* y b^* , así como la luminosidad (L^*), el índice de saturación (Hue^*) y el ángulo de matiz (C^*). Los datos registrados se usaron para calcular la diferencia total de color (ΔE) por medio de la siguiente fórmula (Li y col., 2015):

$$\Delta E = \sqrt{\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2}$$

En donde:

$\Delta L = L$ muestra – L ajo crudo

$\Delta a = a$ muestra – a ajo crudo

$\Delta b = b$ muestra – b ajo crudo

4.2.4 Determinación del tiempo de almacenamiento

Una vez determinada la condición óptima de tiempo de sonicación en base al desarrollo de color, contenido de AR y de $^{\circ}Bx$, se aplicó a un nuevo lote de bulbos de ajo y después se procesaron para la producción de ajo negro como se indica en el punto 4.3.1.

Al igual que con la determinación del mejor tiempo de sonicación, se establecieron los mismos 3 parámetros como base (contenido de AR, $^{\circ}Bx$ y color) para establecer el tiempo óptimo de almacenamiento para la producción de ajo negro; estos análisis se realizaron a los 16, 20 y 24 días de almacenamiento.

4.2.5 Comparación de parámetros de calidad entre el producto final y un producto comercial

Una vez que se determinaron los tiempos óptimos de sonicación y de almacenamiento, se procedió a analizar la calidad (a través de análisis fisicoquímicos, bromatológicos, microbiológicos y sensoriales) del ajo negro producido con el uso de esos tiempos (considerado como producto final) y de un ajo negro comercial de la marca “Los Rancheros”; se realizó una comparación de los resultados para observar posibles diferencias.

4.2.5.1 Análisis fisicoquímicos

Las determinaciones de AR, °Bx y color se realizaron como se describió anteriormente en los puntos 4.3.3.1, 4.3.3.2 y 4.3.3.3.

4.2.5.1.1 Determinación de pH

Se midió el valor de pH con un potenciómetro marca Hanna instruments modelo HI-2221, empleando el procedimiento definido por la NMX-F-317-S-1978.

Primero se realizó la calibración del equipo usando las soluciones buffer correspondientes (pH 4.0, 7.0 y 10.0), después se procedió a medir el valor de pH de los extractos obtenidos al exprimir los bulbillos o dientes de ajo usando un exprimidor de ajos y tela de organza. Para muestras en las que la determinación no se pudo realizar de forma directa, se tomaron 10 g de muestra y se molieron con 20 mL de agua destilada, al filtrado se le midió el pH y se ajustó usando el factor de dilución.

4.2.5.1.2 Determinación de acidez titulable

La acidez titulable se midió por el método potenciométrico descrito en la NMX-F-102-S-1978, debido a que las muestras de ajo negro presentaban un color oscuro que no permitió ver el cambio de color ocasionado por el vire de la fenolftaleína.

Se tomaron 10 g de muestra y se molieron con 20 mL de agua destilada, al filtrado obtenido se le midió acidez titulable y el valor resultante fue ajustado con el factor de

dilución. Para la titulación potenciométrica se tomó una alícuota de 10 mL del extracto de las muestras y se procedió a titular con una solución de NaOH 0.1 N hasta el punto en que el pH alcanzara un valor de 8.2 (que es el pH de vire de la fenolftaleína). Con el volumen (en mL) gastado de NaOH 0.1 N en la titulación se determinó el porcentaje de acidez titulable por medio de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ acidez titulable} = \frac{V \text{ NaOH} \times N \text{ NaOH} \times \text{Eq. ácido}}{V \text{ muestra}} \times 100$$

En donde:

V NaOH = volumen de NaOH gastado en la titulación (mL)

N NaOH = normalidad de la solución de NaOH utilizada (eq/mL)

Eq. Ácido = equivalente de ácido cítrico cuyo valor es 64 g/eq

V muestra = volumen de la muestra a titular (10 mL)

4.2.5.1.3 Determinación de actividad de agua

El valor de actividad de agua (A_w) se determinó en los bulbillos usando el equipo marca Aqualab series 3, el equipo usa el método de punto de rocío que se fundamenta en la determinación de la temperatura de condensación del aire en equilibrio con la muestra; para determinar esta temperatura, el equipo cuenta con un espejo con sistema refrigerante. La temperatura del espejo desciende hasta que comienza a condensar el aire que está en contacto con él, de forma que la formación de rocío es detectada por unas células fotoeléctricas. En este momento un sensor registra la temperatura del espejo (temperatura de rocío) y un termómetro determina la temperatura de la cámara en equilibrio. Conocidas ambas temperaturas, se determina la humedad relativa haciendo uso del diagrama de Molieré. El equipo consta de tablas de doble entrada las que al registrarse la temperatura del bulbo seco y la de rocío, dan directamente el valor de la actividad de agua (Giraldo y col., 2010).

Primeramente se encendió el equipo por 30 min y posteriormente se calibró con agua desionizada. Luego se procedió a colocar la muestra en la celda del equipo (evitando

llenarla por encima de $\frac{3}{4}$ partes). Finalmente, se colocó la celda en el portacelda y se cerró girando la perilla para iniciar el análisis de la muestra. Una vez que el equipo indicaba el final del análisis (al emitirse un sonido y con el parpadeo de una luz), se tomaba la lectura final marcada en la pantalla.

4.2.5.1.4 Determinación de textura

La textura en los bulbillos se determinó realizando un Análisis de Perfil de Textura (TPA) que se basa en la imitación de la masticación por medio de un test que realiza una doble compresión de una muestra (Romero, 2015).

El TPA se realizó utilizando un texturómetro de Brookfield modelo CT3, con el uso de una sonda cilíndrica de acero de 36 mm de diámetro, los parámetros de la prueba fueron: 5% de deformación, carga de compresión de 0.06 N, velocidad de cabezal de 1 mm/s y sin tiempo de espera entre las compresiones. De cada bulbo de ajo negro (producto final y muestra comercial) se tomaron 3 dientes (de dimensiones similares) y se pelaron, cada diente se sometió al análisis TPA. Los parámetros que se obtuvieron por medio de este análisis fueron dureza, elasticidad, cohesividad, adhesividad, gomosidad y masticabilidad.

4.2.5.2 Análisis bromatológicos

Los análisis bromatológicos se realizaron siguiendo los procedimientos establecidos por las normas mexicanas: humedad (NOM-116-SSA1-1994), cenizas (NMX-F-066-S-1978), lípidos (NMX-F-089-S-1978) y proteína (NOM-F-68-S-1980). Así mismo se realizaron los análisis complementarios de determinación de la cantidad de sodio (método de Mohr) y de vitamina C (yodometría).

4.2.5.2.1 Humedad

La determinación de humedad en los alimentos es de suma importancia, ya que un elevado contenido de ésta influye en la velocidad de multiplicación de los microorganismos, provocando la descomposición de los alimentos y por lo tanto la

pérdida de la calidad sanitaria (NOM-116-SSA1-1994). Se determinó la humedad en la muestra por el método descrito en la NOM-116-SSA1-1994.

Por triplicado, se pesaron aproximadamente 4 ± 0.5 g de muestra (se registró el peso exacto de la muestra como P_2) en un crisol a peso constante (P_1) y se colocaron los crisoles en una estufa marca Felisa por 2 horas a 110 ± 5 °C, transcurrido este tiempo los crisoles se colocaron en un desecador hasta que alcanzaran la temperatura ambiente. Posteriormente, se pesó cada uno registrando su peso exacto y se regresaron por 30 min más al horno; este procedimiento se repitió hasta tener un peso constante (P_3). Con los 3 pesos registrados (del crisol, del crisol con muestra antes de meter al horno y del crisol con la muestra secada en el horno) se calculó el contenido de humedad según la siguiente fórmula:

$$\% \text{ humedad} = \frac{P_2 - (P_3 - P_1)}{P_2} \times 100$$

En donde:

P_1 = Peso del crisol (g)

P_2 = Peso de la muestra húmeda (g)

P_3 = Peso del crisol más muestra seca (g)

4.2.5.2.2 Cenizas

El contenido de cenizas se refiere al residuo inorgánico (mineral) que queda después de la combustión o de la oxidación completa de la materia orgánica en los alimentos; representa el contenido total de minerales en los alimentos y debido a que ciertos alimentos son ricos en minerales en particular, el contenido de cenizas puede ser importante desde el punto de vista nutricional, toxicológico y de calidad alimentaria (Nielsen, 2017).

Se determinó el contenido de cenizas de acuerdo a la metodología establecida por la NMX-F-066-S-1978, utilizando los crisoles con muestra seca empleados para la determinación de humedad. Se calcinó la muestra con la ayuda de un plato caliente

marca Thermo Scientific, calentando hasta que la muestra se carbonizó (indicado por el fin de la emisión de gases). Luego se colocó el crisol en la mufla marca Felisa e incineró a una temperatura de 500 – 550 °C durante 2 - 3 h. Transcurrido el tiempo, cuidadosamente se sacaron los crisoles y dejaron enfriar hasta que alcanzaran la temperatura ambiente en un desecador. Se pesaron los crisoles que contenían las cenizas y se registró el peso (P_3). Los pesos del crisol vacío (P_1) y de la muestra (P_2) fueron los mismos utilizados para el cálculo de humedad, ya que en ambos análisis se emplearon los mismos crisoles con muestras. Se calculó el porcentaje de cenizas con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ cenizas} = \frac{P_3 - P_1}{P_2} \times 100$$

En donde:

P_1 = Peso del crisol vacío (g)

P_2 = Peso de la muestra húmeda (g)

P_3 = Peso del crisol con cenizas (g)

4.2.5.2.3 Extracto etéreo (grasa cruda)

Para determinar el contenido de grasa cruda se empleó el método establecido en la NMX-F-089-S-1978. El método Soxhlet utiliza un sistema de extracción cíclica de los componentes solubles en éter que se encuentran en el alimento.

Se usaron vasos de precipitados a peso constante (P_1), registrando el peso de manera independiente. En cada cartucho se pesaron aproximadamente 4 ± 0.5 g de muestra seca (P_2). En el vaso de precipitados se colocaron 80 mL de éter de petróleo y se acopló al sistema Soxhlet marca Labconco, Se conectaron las mangueras de recirculación de agua y se comenzó a calentar suavemente hasta observar una velocidad de condensación de 5 o 6 gotas de éter por segundo sobre el cartucho que contenía la muestra. Se mantuvo el agua de recirculación a una temperatura de 4 °C. La extracción terminó después de 6 ciclos de extracción. Se evaporó el solvente que quedó en el vaso calentándolo en plato

caliente y una vez que se enfrió a temperatura ambiente en un desecador, se pesó (P_3). Se calculó el porcentaje de grasa cruda en la muestra utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ grasa cruda} = \frac{P_3 - P_1}{P_2} \times 100$$

En donde:

P_1 = Masa del vaso sin grasa (g)

P_2 = Masa de la muestra (g)

P_3 = Masa del vaso con grasa (g)

4.2.5.2.4 Proteína

Se determinó el contenido de proteína total por el método de Kjeldahl, este método se fundamenta en la hidrólisis ácida de la materia orgánica de la muestra por calentamiento con ácido sulfúrico concentrado y sulfato de potasio que ayuda a incrementar el punto de ebullición del ácido sulfúrico, con lo cual disminuye el tiempo de digestión, en presencia de un catalizador sulfato de cobre. El nitrógeno se reduce en la sal sulfato de amonio, de la cual se libera con hidróxido de sodio concentrado (20%) en la forma de amoníaco; el cual se destila, recibiendo el destilado en una solución de ácido bórico y una mezcla de indicadores. El destilado se valora con una solución patrón de ácido clorhídrico (Skoog y col., 2003).

Se pesaron aproximadamente 0.5 ± 0.05 g de muestra (P), 3.5 g K_2SO_4 y 0.4 g $CuSO_4$ y se colocaron en un tubo Kjeldahl seco junto con 15 mL de ácido sulfúrico. Se colocaron los tubos Kjeldahl en el digestor de proteína marca FOSS tecator y a su vez se conectó la bomba de vacío en el tubo de salida de la trampa de gases de digestión el cual es un contenedor con una solución de bicarbonato de sodio y fenolftaleína como indicador. Se dejó trabajar el equipo a 150 °C por media hora, posteriormente a 250 °C por media hora más, luego a 350 °C por otra media hora y finalmente a 400 °C por una hora. Se verificó que la digestión llegara a su fin levantando la gradilla y observando que los tubos mostraran una coloración verde

claro debida a la presencia de cobre, en caso de que las muestras presentaran una coloración café oscura se dejaron media hora más en el digestor para garantizar la digestión de toda la materia orgánica. Se dejaron enfriar los tubos por 30 minutos aproximadamente y una vez fríos, a cada tubo de Kjeldahl se le agregaron lentamente 100 mL de agua destilada. De manera individual, cada tubo se colocó en el destilador marca FOSS Tecator, acoplado a su vez un matraz de 250 mL con 25 mL de ácido bórico y la mezcla de indicadores para recoger el destilado. Por último, se tituló el destilado con HCl 0.0986N hasta que la coloración verde viró a rojo y se calculó el contenido de nitrógeno mediante la siguiente fórmula:

$$\% N = \frac{V \times N \times 0.014 \times 100}{P}$$

En donde:

V = Volumen de HCl empleado en la titulación de la muestra (mL) – volumen de HCl empleado en la titulación del blanco (mL)

N = Normalidad del HCl (eq/L)

P = peso de la muestra (g)

0.014 = Miliequivalente del nitrógeno

El porcentaje de proteína se obtuvo mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ proteína} = \% N \times 6.25$$

4.2.5.2.5 Sodio

La determinación del contenido de cloruro de sodio constituye uno de los análisis químicos más importantes que se realizan a los alimentos como parte del control de calidad debido a las múltiples funciones que desempeña en los alimentos el cloruro de sodio. Tiene una decisiva influencia sobre el sabor dado que constituye uno de los sabores básicos (el salado) y contribuye además a resaltar el resto de los sabores

en los alimentos mejorando así su palatabilidad. Otra importante función es la relacionada con su capacidad para favorecer la conservación de los alimentos (Zumbado, 2020).

En un matraz Erlenmeyer de 250 mL se pesaron aproximadamente 0.15 ± 0.05 g de cada una de las muestras (P), se añadieron 75 mL de agua caliente ($95\text{ }^{\circ}\text{C}$) a cada matraz. Los matraces se dejaron reposar durante 10 minutos, agitando para disminuir la temperatura. Se añadió 1 mL de indicador cromato de potasio al 5%. Se tituló adicionando gota a gota nitrato de plata 0.093 N (previamente valorado) hasta que se obtuvo la aparición de un color anaranjado permanente. Se calculó el contenido de cloruro de sodio con la siguiente fórmula:

$$\% NaCl = \frac{(0.0585)(N_{AgNO_3})(V_1 - V_2)}{P} \times 100$$

En donde:

N $AgNO_3$ = Normalidad del nitrato de plata (0.093 N)

V_1 = mL gastados de nitrato de plata en la titulación

V_2 = mL gastados de nitrato de plata en el ensayo en blanco

P = Peso en gramos de la muestra empleada

0.0585 = Miliequivalente del cloruro de sodio

4.2.5.2.6 Vitamina C

La determinación de vitamina C se realizó por medio de yodometría. El método para determinar vitamina C se basa en la oxidación de la misma (ácido ascórbico) con yodo en presencia de almidón como indicador. El yodo forma un complejo azul con el almidón al reaccionar con el ácido ascórbico; cuando el yodo se disuelve en una disolución de yoduro de potasio, se forman iones polinucleares I_3^- que se introducen en la hélice de amilosa formando un complejo coloreado (azul-negro). Al reaccionar el complejo yodo-amilosa con ácido ascórbico, la disolución indicadora pierde el color. Esto se debe a que ácido ascórbico (1) es oxidado por un oxidante suave como

la disolución de yodo para dar lugar a ácido dehidroascórbico (2) y a iones yoduro (Figura 15). Cuanto menor es la intensidad del color, significa que mayor será el contenido de vitamina C (Fang, 2017).

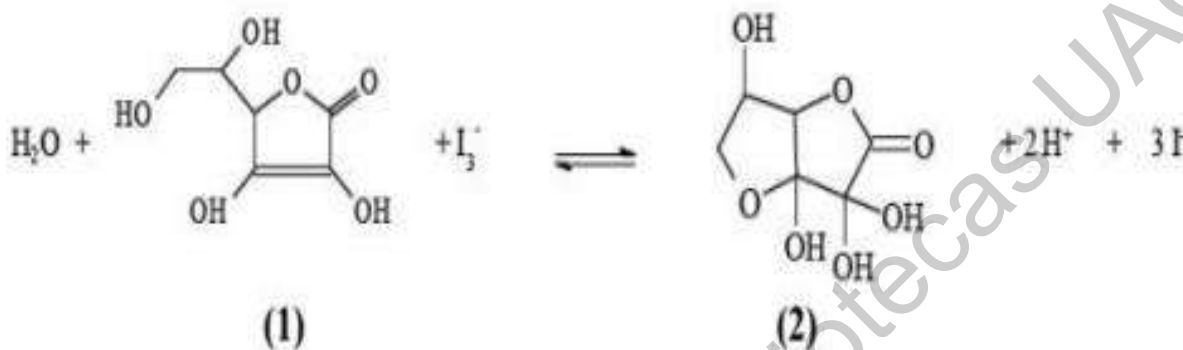


Figura 15. Reacción de oxidación de ácido áscórbico con yodo (I₃⁻) (Fang, 2017).

Se colocaron en un matraz Erlenmeyer de 125 mL: 10 mL de jugo de ajo, 15 mL de agua destilada, 0.25 mL de HCl 15% v/v y 0.5 mL de almidón 1% w/v. Se tituló lentamente y agitando la disolución contenida en el Erlenmeyer, hasta que viró a azul-verde. La cantidad de vitamina C en la muestra se calculó utilizando la siguiente fórmula:

$$\frac{g}{L} = 2.59 \times \frac{V_{\text{yodo consumido}}}{V_{\text{muestra}}}$$

El factor de 2.59 es obtenido mediante un cálculo estequiométrico considerando la concentración de la solución de yodo:

$$14.7 \text{ mM} \left(\frac{1 \text{ M}}{1000 \text{ mM}} \right) = 0.0147 \frac{\text{mol}}{\text{L}}$$

$$\frac{g}{L} = \frac{0.0147 \frac{\text{mol}}{\text{L}} I_2 (X \text{ L}_{I_2}) \left(\frac{1 \text{ mol}_{\text{ácido ascórbico}}}{1 \text{ mol}_{I_2}} \right) \left(\frac{176.12 \text{ g}}{1 \text{ mol}_{\text{ácido ascórbico}}} \right)}{X \text{ L}_{\text{muestra}}}$$

$$\frac{g}{L} = 2.59 \left(\frac{x \text{ L}_{I_2}}{X \text{ L}_{\text{muestra}}} \right)$$

4.2.5.3 Análisis microbiológicos

Los análisis microbiológicos se realizaron para comprobar la calidad microbiana del ajo negro, se basaron en la determinación de *E. Coli*, *Salmonella* y coliformes totales. Para la ejecución de estos análisis se tomó el bulbo de ajo íntegro (bulbillos y cáscara); debido a que el consumidor, a pesar de ingerir únicamente los bulbillos, manipula la cáscara para lograr tener a la parte comestible.

4.2.5.3.1 *E. coli*

La presencia de *Escherichia coli* (*E. coli*) es uno de los indicadores que manifiesta contaminación fecal reciente o condiciones higiénicas inadecuadas (NOM-210-SSA1-2014). La búsqueda de *E. coli* se realiza a partir de los tubos positivos de caldo *Escherichia coli* (EC), los cuales se siembran en medios selectivos y diferenciales: agar Mac Conkey y agar eosina y azul de metileno (EMB) y posteriormente realizando las pruebas bioquímicas básicas a las colonias típicas. Las colonias de *E. coli* en agar Mac Conkey son rojas con halo turbio (Figura 16a) y en agar EMB presentan de 2 a 4 mm de diámetro, un centro grande de color oscuro e incluso negro, y tienen brillo verde metálico cuando se observan con luz refleja (Figura 16b).

La preparación de la muestra y de las siguientes dos diluciones se realizó de acuerdo al método de la NOM-110-SSA1-1994 "Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico". La técnica se llevó a cabo según el procedimiento descrito en la NOM-210-SSA1-2014 "Métodos de prueba microbiológicos. Determinación de microorganismos indicadores. Determinación de microorganismos patógenos".

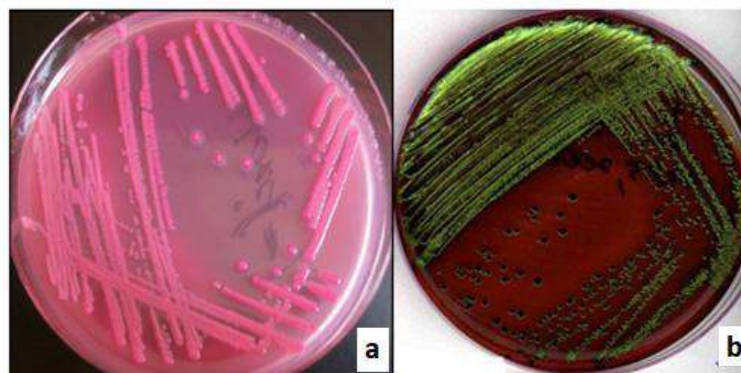


Figura 16. Colonias de *E. coli* desarrolladas en agar Mac Conkey (a) (Soza, 2017) y en agar EMB (b) (Faridullah y col., 2016).

4.2.5.3.2 *Salmonella*

Los miembros del género *Salmonella spp* han sido muy estudiados como patógenos cuando se encuentran presentes en los alimentos. La determinación de la presencia o ausencia de *Salmonella spp*, en cierta cantidad de masa o volumen específico de producto, se lleva a cabo acorde a lo descrito en el presente método, requiriendo 4 etapas sucesivas: etapa de pre-enriquecimiento, enriquecimiento selectivo, aislamiento en medios de cultivos selectivos y diferenciales, e identificación bioquímica y confirmación serológica de los microorganismos (NOM-210-SSA1-2014).

La preparación de la muestra y de las siguientes dos diluciones se realizó de acuerdo al método de la NOM-110-SSA1-1994 "Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico", utilizando como medio de enriquecimiento caldo soya. La técnica se llevó a cabo según el procedimiento descrito en la NOM-210-SSA1-2014 "Métodos de prueba microbiológicos. Determinación de microorganismos indicadores. Determinación de microorganismos patógenos".

4.2.5.3.3 Coliformes totales

El grupo de los microorganismos coliformes totales es el más ampliamente utilizado en la microbiología de los alimentos como indicador de prácticas higiénicas inadecuadas. El método permite determinar el número de microorganismos

coliformes presentes en una muestra, utilizando un medio selectivo (agar bilis y rojo violeta) en el que se desarrollan bacterias a 35 °C en aproximadamente 24 h, dando como resultado la producción de gas y ácidos orgánicos, los cuales viran el indicador de pH y precipitan las sales biliares (NOM-113-SSA1-1994).

La técnica se llevó a cabo según el procedimiento descrito en la NOM-113-SSA1-1994 “Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa” y la preparación de la muestra se realizará acorde al método de la NOM-110-SSA1-1994 “Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico”.

4.2.5.4 Evaluación de la calidad sensorial

Para evaluar la aceptación y preferencia del ajo negro se realizó una prueba sensorial a 50 panelistas no entrenados con dos muestras de ajo negro: el producto final y una muestra comercial. El acomodo de las muestras se hizo como lo expone la Figura 17; a los panelistas se les proporcionaron las 2 muestras, agua para enjuagar la boca entre cada muestra, una servilleta y la hoja de evaluación (Figura 18) con su respectiva pluma para responderla. En las indicaciones se les pidió a los panelistas, previo consentimiento informado, que evaluaran los siguientes atributos: apariencia, sabor, textura y agrado general de ambas muestras y posteriormente indicaran cuál de las dos muestras era la que preferían.



Figura 17. Acomodo de muestras para evaluación sensorial.

EVALUACION SENSORIAL DE AJO NEGRO

Nombre: _____ Edad: _____ Ocupación: _____ Fecha: _____

Frente a usted tiene dos muestras de ajo negro. Evalúe cada una de las muestras y por favor tome agua entre cada muestra. Señale con un cruz (X) su reacción frente al producto para cada atributo según la escala adjunta.

Muestra: _____

	Me disgusta mucho	Me disgusta	Me disgusta levemente	No me gusta ni me disgusta	Me gusta levemente	Me gusta	Me gusta mucho
Apariencia	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sabor	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Textura	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Agrado general	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Muestra: _____

	Me disgusta mucho	Me disgusta	Me disgusta levemente	No me gusta ni me disgusta	Me gusta levemente	Me gusta	Me gusta mucho
Apariencia	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sabor	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Textura	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Agrado general	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

4.- Al terminar la evaluación de las dos muestras indique cuál fue su muestra preferida y ¿porqué?.

MUESTRA PREFERIDA: _____

¿POR QUÉ LA ELIGIÓ?

COMENTARIOS:

Figura 18. Hoja de respuesta para la prueba sensorial de ajo negro.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Estandarización del proceso de obtención de ajo negro

El tratamiento tradicional (TT) evaluado por Ríos-Ríos y col. (2018) para obtener ajo negro consiste en almacenar bulbos de ajo fresco en un ambiente de 95% HR y a 70 °C por 30 días.

En el presente trabajo, en un primer experimento para definir el tiempo de sonicación óptimo, se colocaron en esas condiciones lotes de 10 bulbos; tanto de bulbos de ajo fresco (considerados como control), como aquellos que fueron previamente sonicados a 3, 5, 10, 15 y 20 min con una frecuencia de 40 kHz, esta frecuencia está definida por el equipo. Durante la ejecución del experimento en las condiciones de TT se presentaron inconvenientes con el desarrollo de color esperado en los ajos. La Figura 19 muestra el cambio de color externo que presentaron los bulbos de ajo a los 5 días de almacenamiento en condiciones de TT.

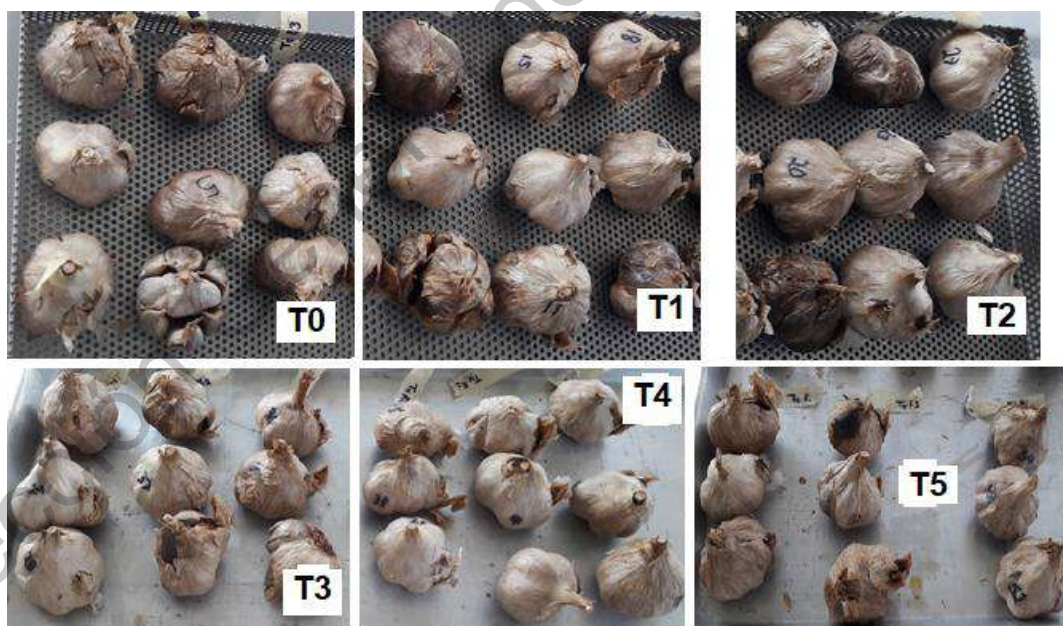


Figura 19. Apariencia de bulbos de ajo almacenado por 5 días a 95% HR y 70 °C. T0 = control, T1 = 3 min, T2 = 5 min, T3 = 10 min, T4 = 15 min, T5 = 20 min.

Se puede observar que el color de la cáscara en todos los tratamientos se apreciaba café claro ligeramente tostado, similar a los bulbos control; pero al observar el color

y la apariencia de los bulbillos o “dientes”, se aprecia que el color desarrollado presentaba una tonalidad café ligeramente oscuro (Figura 20). De la misma manera el sabor desarrollado no era el deseado ya que se percibía aún muy pungente.



Figura 20. Apariencia del bulbillo y bulbo de ajo sonicado por 5 min a 40 kHz y almacenado por 5 días de almacenamiento a 95% HR y 70 °C.

Los cambios en los componentes de color L, a^* y b^* corresponden a los cambios en el color percibido. Las diferencias de color que se perciben como iguales en este espacio de color tridimensional tienen distancias iguales. Para validar la diferencia de color se utiliza una fórmula matemática conocida como Delta E (ΔE o diferencia total de color con respecto a una referencia), que es la distancia entre dos puntos dentro del espacio de color L, a^* y b^* , dicha distancia se puede considerar como la descripción matemática de la distancia entre dos colores (CIE, 2018).

En el caso del ajo negro, es deseable que ΔE externo sea menor y el ΔE interno sea mayor, ya que se requiere que la cáscara se encuentre ligeramente oscurecida y sea mucho más clara que en los bulbillos o dientes, los cuales deben tener un color mucho más oscuro; tal como se muestra en el producto comercial “Los Rancheros” (Figura 21).



Figura 21. a) Apariencia física interna y externa del ajo negro comercial marca “Los Rancheros”, b) bolsa con 2 bulbos de ajo negro.

En la Figura 22 se muestran los resultados de la diferencia total de color externo (ΔE) con respecto al ajo fresco durante el almacenamiento de bulbos de ajo fresco y previamente sonicados y almacenados en condiciones de TT. A la muestra comercial de ajo negro “Los Rancheros” se le midió el color externo e interno y se calculó el valor de ΔE con base a los datos de ajo fresco de este trabajo, encontrando que el valor de ΔE externo fue de 30.44 y el interno de 64.66. Este resultado de color interno es mayor al reportado por Ríos-Ríos (2016) en ajo negro ($\Delta E = 54.50 \pm 1.4$) obtenido después de 30 días en condiciones de almacenamiento de TT, al igual que al valor de $\Delta E = 53.2 \pm 2.9$ que reportó en ajo negro obtenido con pretratamiento de calentamiento óhmico (130 V a 70 °C) y almacenado por 12 días en las mismas condiciones de TT. De manera general se puede notar que, con el transcurso del almacenamiento, la cáscara de los bulbos tratados y el control se oscurecía cada vez más (aumento del ΔE externo) y después de 11 días de almacenamiento los valores de ΔE fueron superiores al valor de ΔE externo de la muestra comercial, este mayor oscurecimiento de la cáscara afectó en su calidad visual. También se observó que a los 5 días de almacenamiento, el ajo control presentó un valor promedio de $\Delta E = 15.93$; algunos de los tratamientos (3, 5 y 20 min de sonicación) presentaron valores mayores de ΔE externo (19.33, 20.28 y 16.46, respectivamente) a los del ajo control;

mientras que otros tratamientos (10 y 15 min de sonicación), presentaron valores menores (15.87 y 13.35, respectivamente).

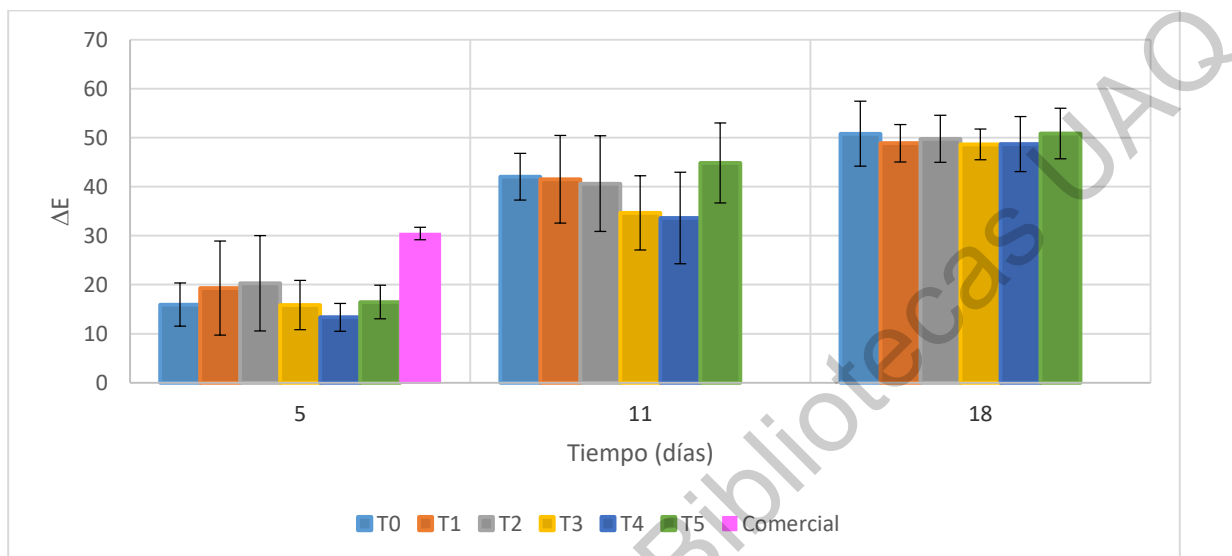


Figura 22. Cambios en el color externo de bulbos de ajo durante su almacenamiento a 95% HR y 70 °C. T0 = control, T1 = 3 min, T2 = 5 min, T3 = 10 min, T4 = 15 min, T5 = 20 min.

A pesar de los valores obtenidos, no se muestra diferencia estadísticamente significativa entre el ΔE externo de los tratamientos y el control al final del almacenamiento (18 días). En el color interno (Figura 23) se puede notar que a los 5 días de almacenamiento, el cambio de color fue significativo con respecto al ajo fresco; el valor de ΔE varió desde 48.05 hasta 54.23, presentando valores de ΔE menores al valor del control los bulbillos de los tratamientos con 3, 10 y 15 min de sonicación, en tanto que los tratamientos con 5 y 20 min presentaron valores ligeramente mayores al control.

Estos resultados sugieren que no hay un claro efecto de la sonicación sobre la hidrólisis de los fructanos que a su vez incrementa el desarrollo de color como se esperaba para este tiempo de almacenamiento (5 días) (Li y col., 2015; Villamiel y col., 2017). Como el color desarrollado en las muestras a 5 días de almacenamiento era menor a la muestra comercial y al reportado por Ríos-Ríos (2016), se continuó el almacenamiento de los bulbos tratados.

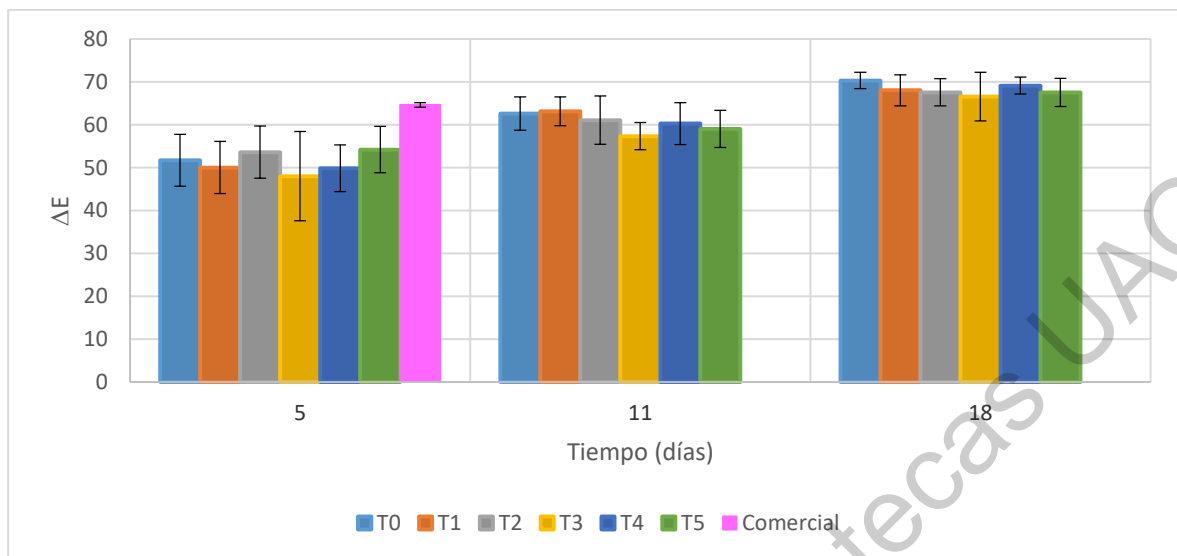


Figura 23. Cambios en el color interno (bulbillos) del ajo durante su almacenamiento a 95% HR y 70 °C. T0 = control, T1 = 3 min, T2 = 5 min, T3 = 10 min, T4 = 15 min, T5 = 20 min.

Después de 11 días de almacenamiento (Figura 24) el color externo de los bulbos de ajo negro era más oscuro (valores de ΔE entre 33.62 y 44.82 de los bulbos con 15 y 20 min de sonicación, respectivamente) que el de la muestra comercial ($\Delta E = 30.44$); mientras que el control registro un valor de $\Delta E = 42.04$. Por su parte, los bulbillos continuaron presentando una coloración café oscura lo que sorprendió debido a que se esperaba que se tornaran negros a medida que transcurrió el almacenamiento. A pesar de estos resultados, se continuó con el almacenamiento y a los 18 días (Figura 25) se puede apreciar que la cáscara de los bulbos de todos los tratamientos y el control se encontraba completamente negra; mientras que los dientes presentaron un color café oscuro pero no negro (Figura 26).

Lo anterior pudo ser resultado de la elevada HR del ambiente (95%) que ocasionó que hubiera absorción de agua por parte de los bulbos de ajo y a su vez, el agua adsorbida disolvió los componentes solubles (en este caso, algunos de los pigmentos formados durante la RM que dan color) ocasionando que salieran de los bulbos de ajo hacia el sistema (lixiviación), lo que se evidencia en la Figura 27 donde se observa un exudado de tonalidad negra en el plato que sostenía los bulbos dentro del frasco. Además de que el ambiente era húmedo, también estaba caliente (70 °C)

lo que tendió a aumentar la solubilidad de los diferentes componentes responsables del color negro (Sarria, 1998; Teunou y Fitzpatrick, 1999).



Figura 24. Bulbos de ajo sonicados y almacenados por 11 días a 95% HR y 70 °C. T0 = control, T1 = 3 min, T2 = 5 min, T3 = 10 min, T4 = 15 min, T5 = 20 min.



Figura 25. Apariencia de los bulbos de ajo sonicados y almacenados por 18 días a 95% HR y 70 °C.



Figura 26. Apariencia visual de cáscara y diente en bulbos de ajo negro almacenado por 18 días a 95% HR y 70 °C; previa sonicación por 10 min.



Figura 27. Lixiviación en el sistema debido a la alta humedad.

Con la intención de obtener un producto con calidad similar a la del producto comercial, se modificaron las condiciones de almacenamiento. Se decidió comenzar el almacenamiento de ajo fresco y sonicado en un ambiente de HR de 95% por 7 días y posteriormente disminuir la HR a 75% utilizando una solución sobresaturada de NaCl (Labuza; 1976). Con esto se pretendía que al cambiar la HR, el desarrollo

de color del ajo fuera más lento permitiendo a su vez que el tiempo fuera el suficiente para el desarrollo del color y el sabor característico.

La Figura 28a muestra la apariencia de los ajos después de 7 días de almacenamiento a 95% HR, se puede apreciar que los bulbos muestran un color café cenizo un poco más oscuro ($\Delta E = 19.68$) que los bulbos de 5 días de almacenamiento del experimento anterior ($\Delta E = 15.93$). Posteriormente, al pasar a la condición de 75% de HR se observó que los bulbos se encontraban más oscuros de lo deseado (Figura 28b) por lo que el desarrollo del color no fue gradual como se esperaba, lo cual indico que la disminución de HR tampoco era adecuada; esta apariencia como “quemado” pudo ser debido a que el ambiente caliente (70 °C) estaba muy seco.



Figura 28. Bulbos de ajo almacenados por 7 días a 95% HR (a) más 7 días a 75% HR (b).

En un tercer ensayo, se procedió a disminuir el periodo de almacenamiento en condiciones de 95% HR, estableciendo un almacenamiento inicial a dicha HR por 4 días y posteriormente cambiar los bulbos a 75% HR; manteniéndolos almacenados en esa condición se monitoreo el tiempo necesario hasta lograr el desarrollo del color esperado en base a los valores de ΔE externo e interno de la muestra comercial (30.44 y 64.66, respectivamente). Con este ajuste, la apariencia visual del ajo fue significativamente mejor (Figura 29).

Los resultados de color externo e interno de los bulbos de ajo, control (fresco) y sonicados, almacenados por 8 días (4 días a 95% HR más 4 días a 75% HR) se muestran en las Figuras 30 y 31, respectivamente. A los 4 días de almacenamiento

a 95% HR se observa que hubo un importante desarrollo de color tanto externo como interno, pero los valores de ΔE aún se encontraban por debajo de los registrados en la muestra comercial. A los 8 días de almacenamiento, los valores de ΔE externo e interno tuvieron comportamientos similares; ya que para ambos los valores de ΔE de los bulbos de ajo control y sonicados fueron en promedio menores (ΔE externo = 18.01 y ΔE interno = 57.14) que los del ajo comercial (30.44 y 64.66, respectivamente) siendo el tratamiento T4 (15 minutos de sonicación) el que presentó los valores de ΔE más cercanos a la muestra comercial (21.77 y 62.62, respectivamente).

A pesar de que a los 8 días de almacenamiento se logró que el color del diente se tornara negro como consecuencia de la RM (Ríos-Ríos., 2016; Yuan y col., 2018), el sabor del producto se percibía aún pungente y con poca dulzura característica del ajo negro (Zhang y col., 2016; Ryu y Kang, 2017; Yuan y col., 2018).



Figura 29. Bulbo de ajo fresco sonicado por 15 min y almacenado 4 días a 95% HR más 4 días a 75% HR y 70 °C.

Esto llevo a proponer que el desarrollo de color no es un parámetro lo suficientemente adecuado para establecer el momento en el que se deben retirar los bulbos de ajo del almacenamiento caliente y húmedo, por ello el experimento se detuvo en ese punto y se procedió a la realización de un nuevo experimento donde se adicionaron

dos análisis a realizar durante los muestreos: la determinación del contenido de azúcares reductores (AR) y del contenido de sólidos solubles totales (°Bx); esto con el fin de asegurar que hubiera una adecuada evaluación del efecto de los diferentes pretratamientos.

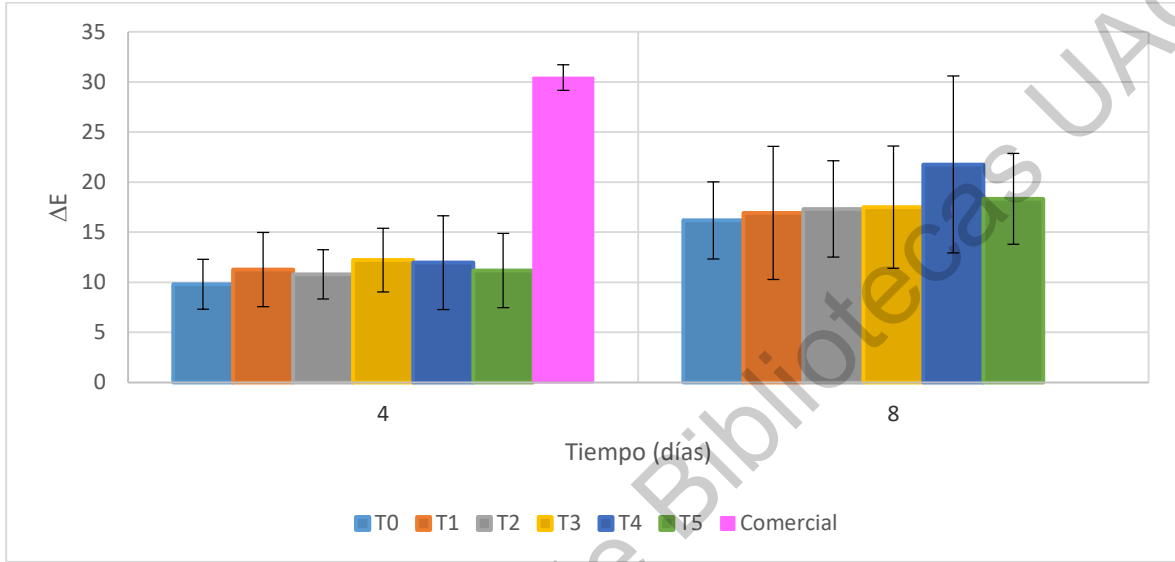


Figura 30. Cambios en el color externo (ΔE) del ajo durante su almacenamiento por 4 días a 95% HR y 70 °C más 4 días a 75% HR y 70 °C. T0 = control, T1 = 3 min, T2 = 5 min, T3 = 10 min, T4 = 15 min, T5 = 20 min.

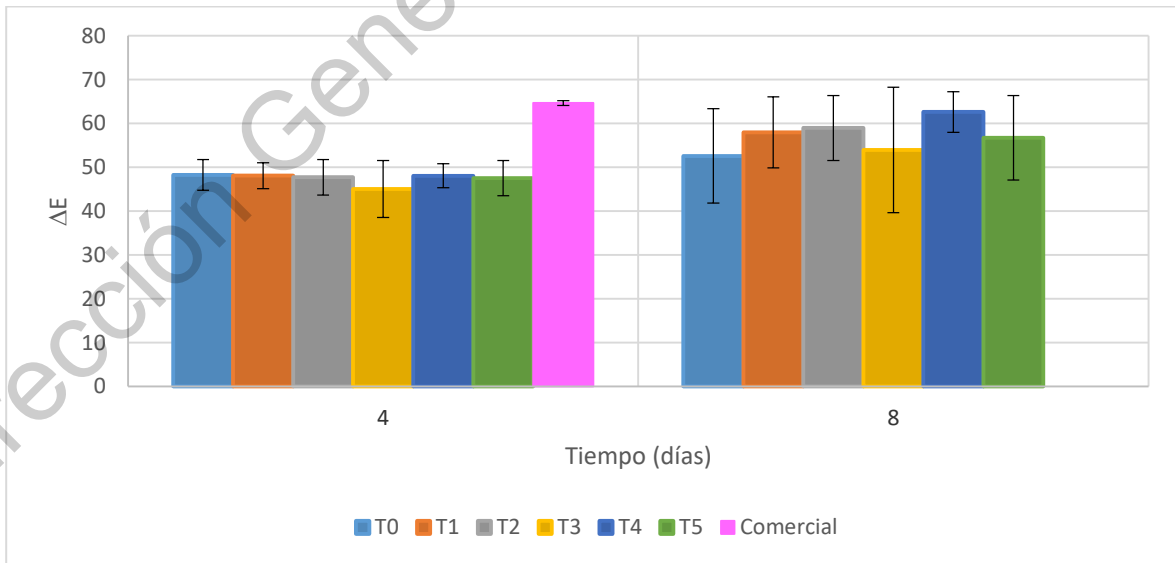


Figura 31. Cambios en el color interno (ΔE) del ajo durante su almacenamiento por 4 días a 95% HR y 70 °C más 4 días a 75% HR y 70 °C. T0 = control, T1 = 3 min, T2 = 5 min, T3 = 10 min, T4 = 15 min, T5 = 20 min.

5.2 Determinación de las mejores condiciones de sonicación

Establecidas las condiciones de almacenamiento de los bulbos de ajo para la producción de ajo negro (4 días a 95% HR y 70 °C más 4 días a 75% HR a la misma temperatura), nuevos bulbos de ajo fresco fueron sometidos a los diferentes tratamientos de sonicación (Cuadro 4). Se establecieron 3 parámetros como base para determinar las mejores condiciones de sonicación: contenido de AR, contenido de sólidos solubles totales (°Bx) y color tanto interno como externo.

5.2.1 Determinación de azúcares reductores

El contenido de AR se considera un factor importante durante el proceso de almacenamiento ya que se requiere de este tipo de azúcares y de los aminoácidos para que se presente la RM, lo que ayuda al correcto desarrollo de las características organolépticas del ajo negro (Kimura y col., 2017).

Durante el procesamiento del ajo negro hay 2 factores que influyen el contenido de AR, la degradación de los polisacáridos (fructanos) a AR y el consumo de estos azúcares libres durante la RM (Zhang y col. 2016). Lu y col. (2018), demostraron que el tratamiento térmico tiene un mayor efecto en la degradación de polisacáridos del ajo que la acción de enzimas presentes en el mismo; estos investigadores inactivaron las enzimas en ajo fresco por medio de escaldado y en los ajos tratados se presentaron cambios de color, lo que indicó que había suficientes AR que participaron en la RM. Además, los ajos a los que se les inactivaron las enzimas presentaron mayor contenido de AR durante el tratamiento térmico que el ajo fresco; esto se debió a que la inactivación de enzimas se hizo por medio de escaldado (inmersión por 5 min en agua hirviendo) lo que pudo destruir la membrana celular dejando más expuestos los polisacáridos, haciéndolos más susceptibles a la hidrólisis y posterior participación en la RM; en otras palabras, los polisacáridos (fructanos) pueden degradarse sin la participación de enzimas, y la inactivación de éstas no afecta en el desarrollo del color ni en la acumulación de AR.

En la Figura 32 se observa el cambio en el contenido de AR del ajo durante el tiempo de almacenamiento; de manera general se aprecia que durante el paso del tiempo el contenido de AR aumentó en todas las muestras evaluadas y al final del almacenamiento se puede observar que los ajos con mayor contenido de AR fueron los de los tratamientos control (T0), con 10 min de sonicación (T3) y con 15 min de sonicación (T4) con valores de 298.54, 297.23 y 321.44 g/L, respectivamente. Los resultados mostrados en la Figura 32 son similares a los reportados por Choi y col. (2014) cuyos resultados mostraron que el contenido de AR aumenta aproximadamente 6 veces en el almacenamiento para la producción de ajo negro, desde los primeros días hasta el final del proceso; este resultado es traducido en un incremento de los AR (principalmente fructosa) en el ajo negro en comparación con el ajo fresco. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de los resultados obtenidos y se encontró que había diferencias estadísticamente significativas (p valor menor a 0.05) en el contenido de AR entre los bulbos control y los pretratados con sonicación.

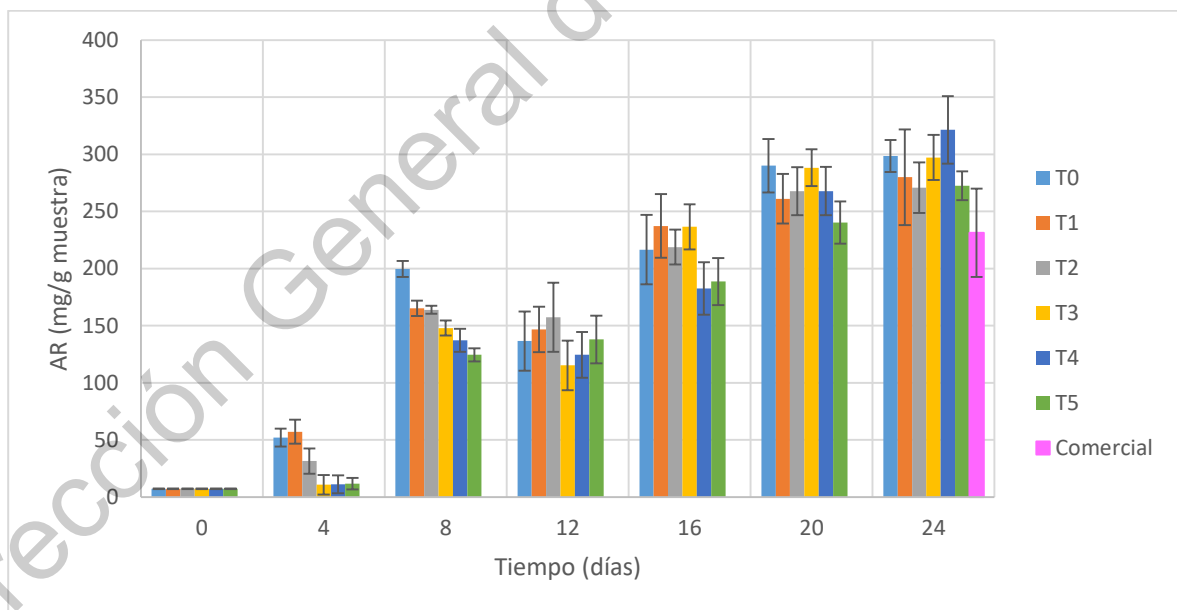


Figura 32. Efecto del tiempo de sonicación en el contenido de azúcares reductores (AR) del ajo durante el almacenamiento para la obtención de ajo negro. T0 = control, T1 = 3 min, T2 = 5 min, T3 = 10 min, T4 = 15 min, T5 = 20 min.

Se esperaba que la sonicación ayudaría a aumentar el contenido de AR en el ajo negro debido a que, como lo explican Li y col. (2015), al aplicar un pretratamiento capaz de destruir la estructura de las células (como es la sonicación) las sustancias intracelulares y los fructanos que contiene el ajo se hidrolizarían en monosacáridos aumentando el contenido de AR que participarían posteriormente en la RM.

Por otro lado, Villamiel y col. (2017) explicaron que la irradiación ultrasónica, ya sea en condiciones de baja o alta energía, es un método adecuado para llevar a cabo la depolimerización de carbohidratos de alto peso molecular por medio de cavitación, en la que se produce una degradación mecánica durante el colapso de las burbujas de aire, lo que provoca un aumento de temperatura en la zona de burbujas y oscilaciones de presión propagadas a través del material. Sin embargo, en base a los resultados obtenidos, se observa en la Figura 32 que al final del almacenamiento únicamente el tratamiento T4 (15 min de sonicación) mostró que el uso de sonicación como pretratamiento tiene efecto en el aumento del contenido de AR, porque fue el único tratamiento donde dicho contenido (321.44 g/L) fue mayor que el de las muestras control (298.54 g/L).

Dado lo anterior, en base a este parámetro no se apreció, como era esperado, el efecto del uso de sonicación para la obtención de ajo negro con sabor más dulce y por ende, menor resabio pungente.

5.2.2 Determinación de grados Brix

Los °Bx son un parámetro de calidad importante, ya que el aumento en el contenido sólidos solubles totales (determinados como °Bx) en los bulbos de ajo son la razón de su dulzura característica (Toledano y col., 2016). En la Figura 33 se observa el aumento en el contenido de °Bx en el ajo durante el almacenamiento. Al finalizar el almacenamiento, se aprecia que los bulbos de ajos con mayor contenido de °Bx fueron a los que se les aplicaron los tratamientos de 15 y 20 min de sonicación (T4 y T5) con valores de 50 y 46.9 °Bx, respectivamente. En diversos estudios (Toledano y col., 2016; Toledano y col., 2019) se ha demostrado que durante el almacenamiento de bulbos de ajo para obtención de ajo negro aumenta el contenido de °Bx; los

resultados obtenidos en los días 16, 20 y 24 de almacenamiento son similares a los obtenidos en los estudios mencionados anteriormente. En la Figura 33 también puede observarse que la sonicación tuvo un efecto en el contenido de °Bx ayudando a que estos incrementaran, dicho efecto fue apreciable particularmente en el tratamiento T4 donde el contenido de °Bx fue mayor que en el T0 a partir de los 12 días de almacenamiento. Los resultados de la prueba ANOVA mostraron que no hubo diferencias estadísticamente significativas (p valor mayor a 0.05) en el contenido de °Bx entre los bulbos de ajo de los distintos tratamientos y el control a los 16, 20 y 24 días de almacenamiento.

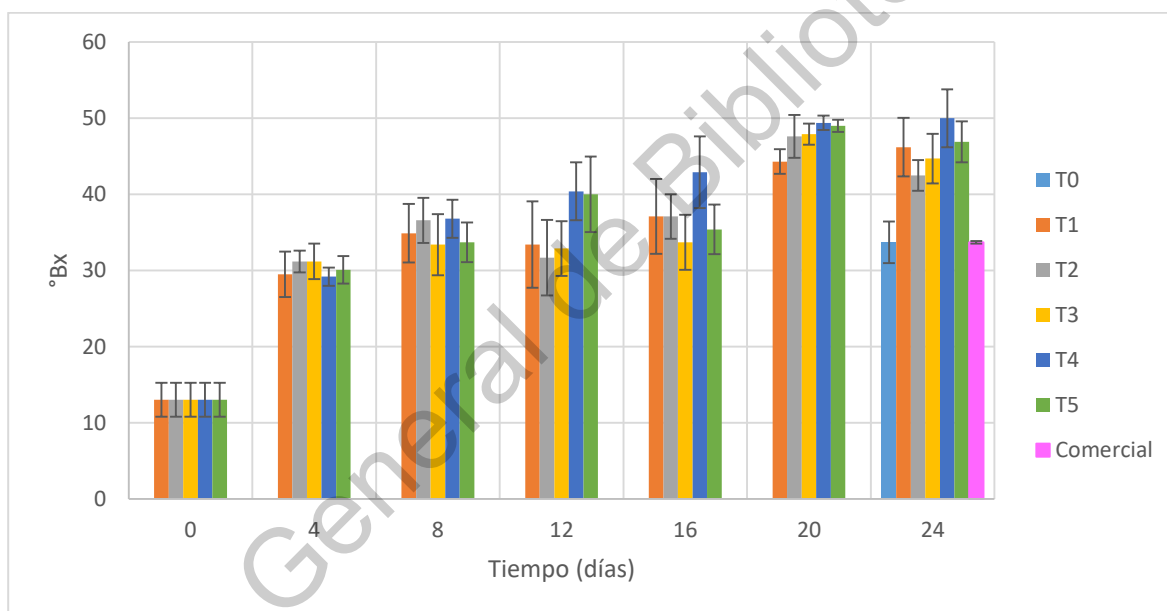


Figura 33. Efecto del tiempo de sonicación en el contenido de sólidos solubles (°Bx) del ajo durante el almacenamiento para la obtención de ajo negro. T0 = control, T1 = 3 min, T2 = 5 min, T3 = 10 min, T4 = 15 min, T5 = 20 min.

El contenido de °Bx mostró de mejor manera, que el contenido de AR, el efecto que tiene el uso de sonicación como pretratamiento. Posiblemente debido a que, como exponen Toledano y col. (2016), el aumento en el contenido de sólidos solubles (°Bx) se debe a la hidrólisis de fructanos y este aumento puede ser la razón del característico dulzor del ajo negro.

5.2.3 Evaluación de color

Durante el almacenamiento del ajo el color de los bulbillos cambió a marrón oscuro y posteriormente a negro, principalmente debido a la formación de numerosos compuestos resultantes de la reacción del pardeamiento no enzimático o Maillard (Zhang y col., 2016).

En la Figura 34 se observa que a los 4 días de almacenamiento a 95% HR los bulbos tratados y el control presentan un valor promedio de ΔE externo alrededor de 15 y este valor incrementó casi al doble a los 8 días de almacenamiento a una HR del 75%; es posible que la menor HR haya acelerado la reacción. A los 16 días de almacenamiento, los bulbos del tratamiento T4 (15 min de sonicación) presentaron los menores valores de ΔE externo (23.45) seguido de los bulbos del T5 (20 min de sonicación) con valores promedio de (25.34) y estos tratamientos fueron estadísticamente diferentes al resto de los tratamientos y el control. A los 20 días de almacenamiento se observa que los bulbos de los tratamientos T0 (control), T1, T2 y T5 presentaron valores similares y por arriba de 40; mientras que el T3 y T4 presentaron menores valores, siendo el T4 el que registró el menor valor (36.96). A 24 días de almacenamiento los bulbos de los tratamientos T1 y T2 presentaron un mayor oscurecimiento externo con valores de 53.65 y 52.90, respectivamente, los cuales fueron estadísticamente diferentes al control (43.65). Por su parte los tratamientos T3, T4 y T5 no presentaron diferencia estadística significativa entre ellos y el control; sin embargo el T4 y T5 presentaron los menores valores (41.93 y 41.99, respectivamente) de ΔE externo. Como se puede apreciar, un menor valor de ΔE externo sugiere una mejor apariencia visual debido a que la cáscara se observa ligeramente tostada, como puede observarse en las Figuras 36 y 37 que muestran que los bulbos de los tratamientos T4 y T5 (presentaron menor desarrollo de color en la cáscara. Por otra parte, en la Figura 35 se observa de manera general, que la sonicación no tuvo el efecto esperado en el desarrollo de color en el diente de ajo, ya que se puede apreciar que después del día 16 de almacenamiento no hubo diferencia significativa en el valor de ΔE interno de todos los tratamientos, de igual manera esto se puede observarse en las Figuras 36, 37 y 38.

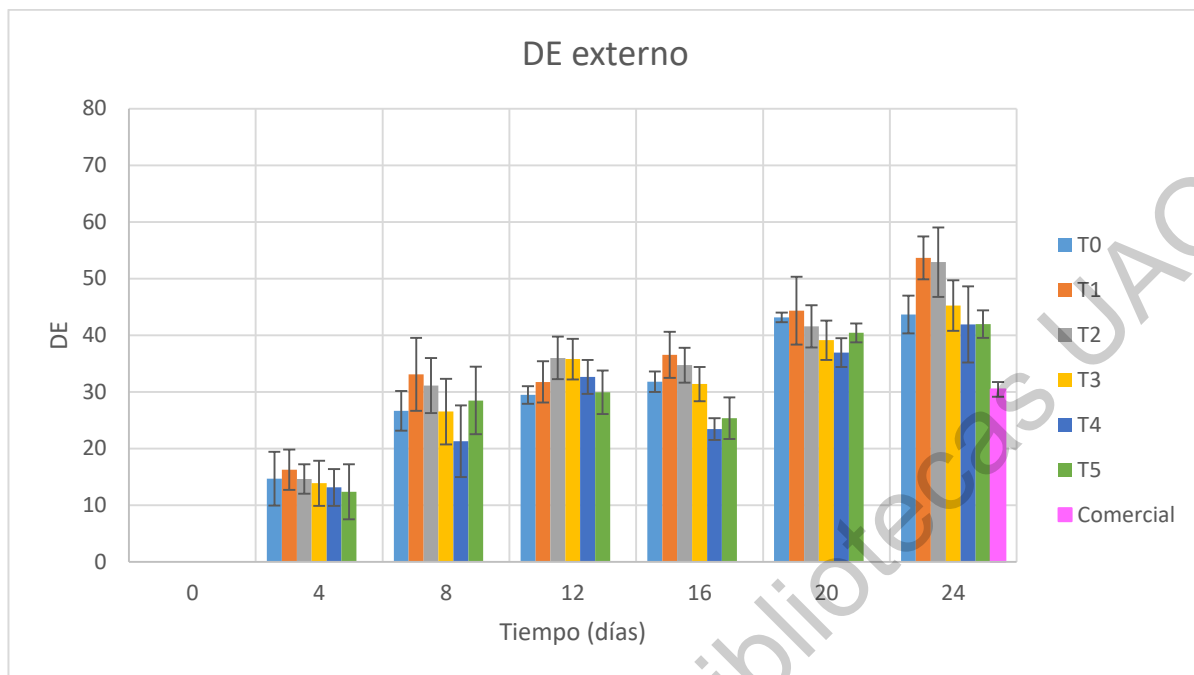


Figura 34. Efecto del tiempo de sonicación en el ΔE externo del ajo durante el almacenamiento para la obtención de ajo negro. T0 = control, T1 = 3 min, T2 = 5 min, T3 = 10 min, T4 = 15 min, T5 = 20 min.

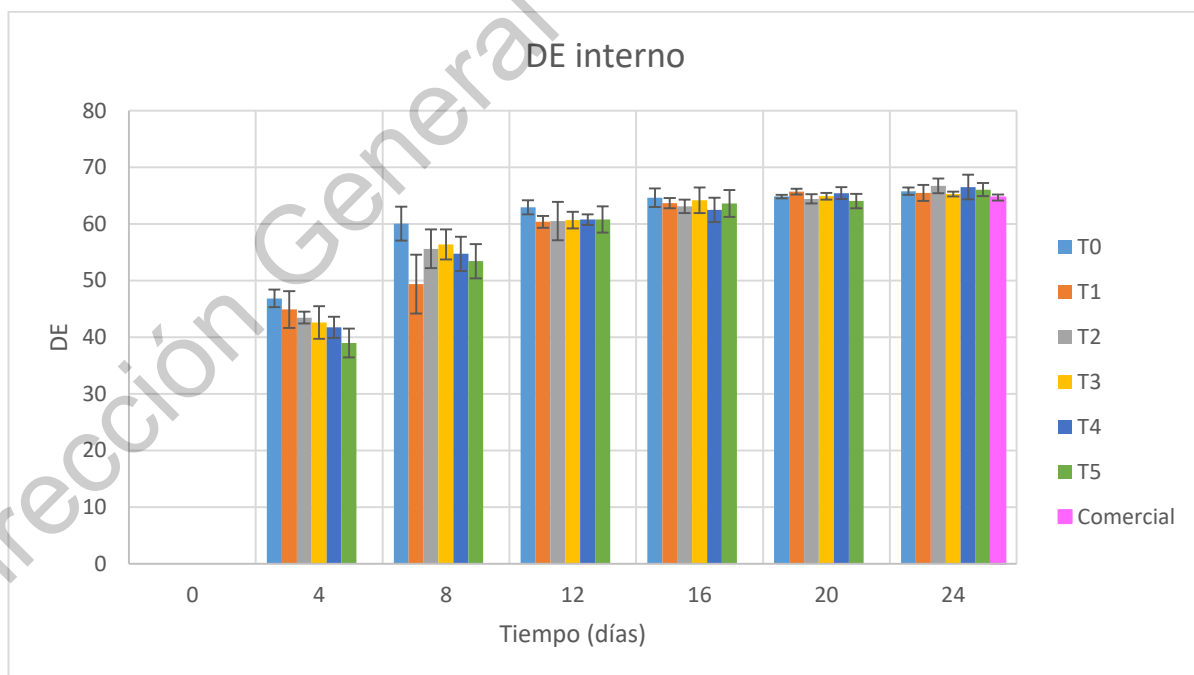


Figura 35. Efecto del tiempo de sonicación en el ΔE interno del ajo durante el almacenamiento para la obtención de ajo negro. T0 = control, T1 = 3 min, T2 = 5 min, T3 = 10 min, T4 = 15 min, T5 = 20 min.



Figura 36. Color interno y externo de ajo almacenado a 16 días con diferentes tiempos de sonicación (de izquierda a derecha: ajo crudo, T0, T1, T2, T3, T4 y T5).
T0 = control, T1 = 3 min, T2 = 5 min, T3 = 10 min, T4 = 15 min, T5 = 20 min.



Figura 37. Color interno y externo de ajo almacenado a 20 días con diferentes tiempos de sonicación (de izquierda a derecha: ajo crudo, T0, T1, T2, T3, T4 y T5).
T0 = control, T1 = 3 min, T2 = 5 min, T3 = 10 min, T4 = 15 min, T5 = 20 min.



Figura 38. Color interno y externo de ajo almacenado a 24 días con diferentes tiempos de sonicación (de izquierda a derecha: ajo crudo, T0, T1, T2, T3, T4 y T5).
T0 = control, T1 = 3 min, T2 = 5 min, T3 = 10 min, T4 = 15 min, T5 = 20 min.

Toledano y col. (2016) reportaron un comportamiento similar en los resultados de ΔE interno en su experimento, donde evaluaron cambios de color en bulbos enteros y dientes de ajo pelados, ellos obtuvieron que al inicio del almacenamiento hubo un mayor oscurecimiento en los dientes pelados debido principalmente a una exposición más prolongada al aire y a la luz; pero de igual manera que en el experimento realizado en este trabajo de tesis, la diferencia se compensó en pocos días con el tratamiento térmico y al final del almacenamiento se alcanzó una intensidad de oscurecimiento similar en todas las muestras.

5.3 Determinación del tiempo de almacenamiento

Conforme a los resultados obtenidos y discutidos en los puntos 5.2.1 a 5.2.3, se determinó que el mejor tratamiento para la producción de ajo negro fue el T4 (15 min de sonicación); en vista de que los ajos obtenidos con este tratamiento tuvieron mayor contenido de °Bx (lo que les permite ser más dulces), un valor de ΔE externo menor (por lo que la cáscara no se oscureció en exceso, sino ligeramente) y mayor en el color interno (dientes negros) y a su vez mayor contenido de AR (lo que muestra un adecuado balance entre la tasa de producción y la de consumo) que los ajos negros obtenidos con los otros tratamientos y el ajo negro comercial.

Establecido el tiempo de sonicación adecuado para la producción de ajo negro, se procesó un nuevo lote de ajos aplicando el tiempo de sonicación del tratamiento T4 (15 min). Se establecieron 4 parámetros como base para determinar cuál sería el mejor tiempo de almacenamiento: contenido de AR, contenido de sólidos solubles totales (°Bx), textura y color interno y externo. Los tiempos en los que se realizaron estos análisis fueron 16, 20 y 24 días de almacenamiento.

5.3.1 Determinación de azúcares reductores

En este lote de ajos, los bulbos que fueron almacenados durante 16 días presentaron un sabor dulce agradable, mientras que los que se almacenaron por 20 y 24 días perdieron parte del dulzor y adquirieron un sabor amargo que se percibió como no agradable. La causa de esto se observa en la Figura 39 donde se aprecia que cuando

los bulbos de ajo son almacenados en un tiempo mayor a 16 días, el contenido de AR comienza a disminuir significativamente (el p valor de la prueba ANOVA fue menor a 0.05) de un valor de 310.23 mg/g (16 días de almacenamiento) a 252.95 mg/g (20 días) y posteriormente a 217.39 mg/g (24 días); por lo que el almacenamiento excesivo de ajo durante la producción de ajo negro provoca una disminución en el contenido de AR lo que a su vez afecta la calidad sensorial debido a la pérdida del sabor dulce característico de este producto.

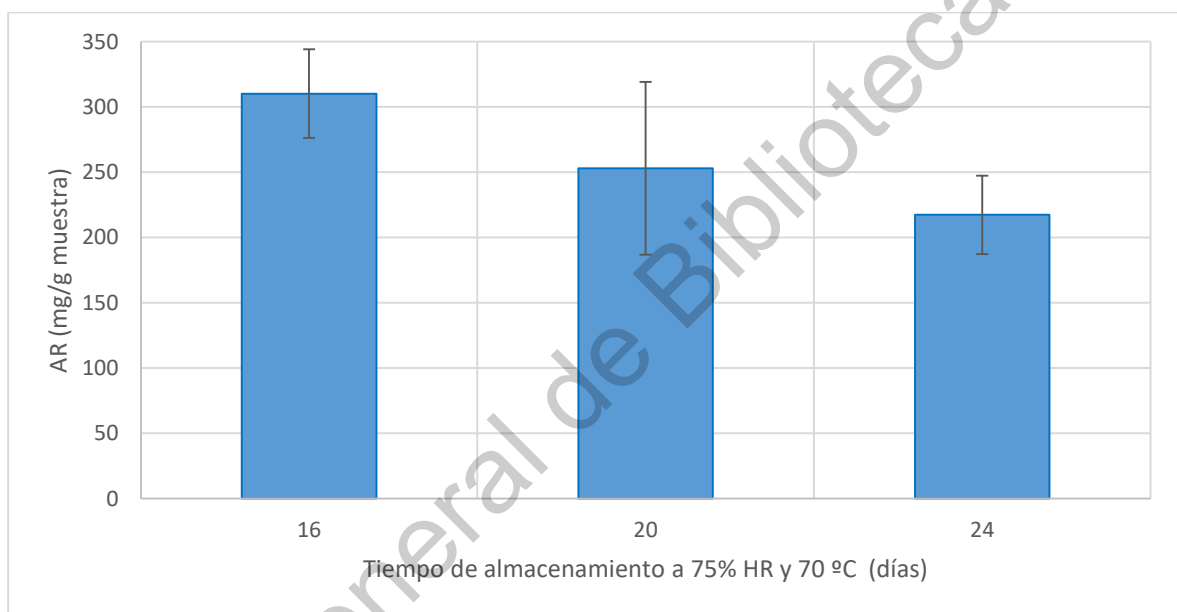


Figura 39. Contenido de azúcares reductores (AR) en ajo negro pretratado con sonicación por 15 min a 16, 20 y 24 días de almacenamiento.

Esta disminución en el contenido de AR es explicada por Zhang y col. (2016) en cuyo estudio almacenaron ajo a diferentes temperaturas (60, 70, 80 y 90 °C) y encontraron que durante todo el proceso el contenido de AR mostró una tendencia ascendente en las muestras que se encontraban a 60 y 70 °C, lo que indica que bajo estas temperaturas la tasa de formación de AR fue más rápida que su tasa de consumo en la RM. Mientras que en las muestras almacenadas a 80 y 90 °C el contenido de AR aumentó notablemente en la etapa inicial (la tasa de acumulación de AR excedió su tasa de consumo) pero estas altas temperaturas también favorecieron la velocidad de la RM, lo que condujo a que la tasa de consumo de AR excediera su tasa de

acumulación. Como resultado, el contenido de AR mostró una tendencia descendente en la etapa posterior del procesamiento. Esto explica que en el almacenamiento se presentará una disminución en el contenido de AR, debido al calentamiento excesivo.

5.3.2 Determinación de grados Brix

A diferencia de los AR, en la Figura 40 se observa que cuando el periodo de almacenamiento supera los 16 días, el contenido de °Bx aumenta, desde 34.74 °Bx, hasta 38.20 °Bx a los 24 días de almacenamiento.

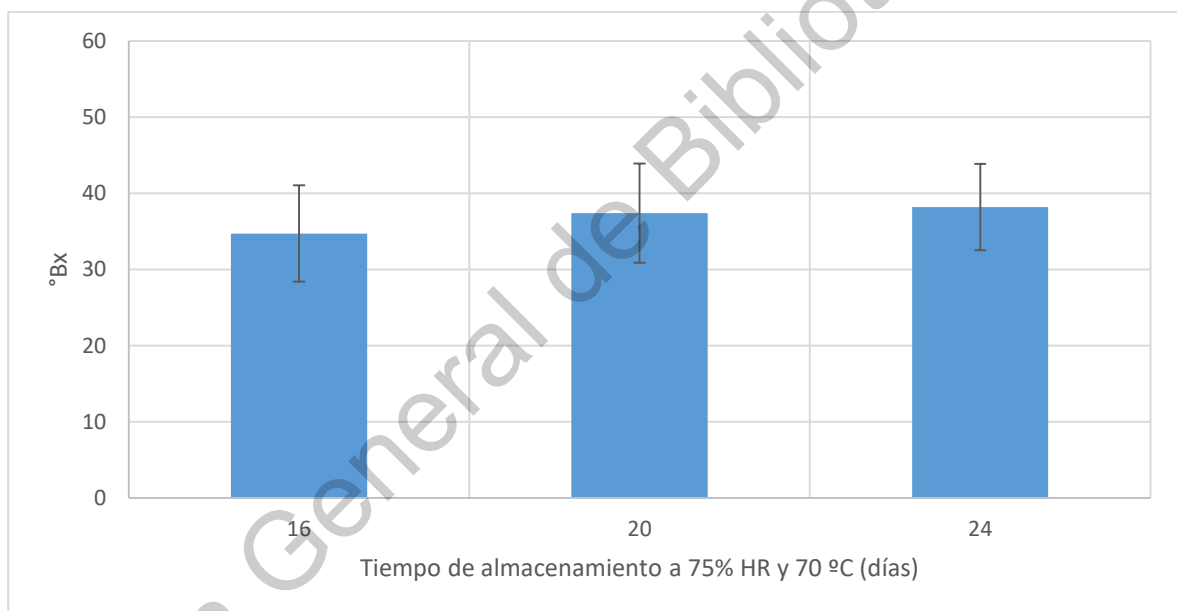


Figura 40. Contenido sólidos solubles (°Bx) en ajo negro pretratado con sonicación por 15 min a 16, 20 y 24 días de almacenamiento.

Sin embargo, ese aumento no es muy grande por lo que al comparar los resultados por medio de la prueba ANOVA se encontró que la diferencia en el contenido de °Bx no es estadísticamente significativa (p valor mayor a 0.05), por lo que podría considerarse que el aumento de °Bx después de los 16 días de almacenamiento es despreciable. Además de que a nivel sensorial, este aumento de °Bx no fue percibido por los panelistas como un incremento en el sabor dulce de los ajos almacenados durante un mayor tiempo; por el contrario, dicho dulzor no fue perceptible.

Los resultados que se muestran en la Figura 40 son ligeramente menores a los reportados por Toledano y col. (2016); esto puede ser debido a que, como se mencionó en dicho estudio, a mayor temperatura de almacenamiento se incrementa el contenido de °Bx, en ese estudio las temperaturas de almacenamiento que se manejaron fueron: 72, 75 y 78 °C; por lo que al utilizar 70 °C como temperatura de almacenamiento, en este experimento, es de esperarse que el contenido de °Bx sea menor al reportado por los autores mencionados anteriormente.

5.3.3 Evaluación de color

En la Figura 41 se muestra que después de 16 días de almacenamiento el valor de ΔE externo aumentó de 28.27 a 35.34 a los 20 días y hasta un valor de 36.10 a los 24 días; por lo que a 20 y 24 días de almacenamiento la apariencia externa del ajo no es la deseada y pierde calidad visual por oscurecimiento excesivo de la cáscara (como puede verse en las figuras 37 y 38 donde la cáscara ya no se ve ligeramente tostada sino pareciera “quemada”). Por otro lado; en la Figura 42 se aprecia que después del día 16 de almacenamiento el valor de ΔE interno disminuye desde 65.43 a 63.84 a los 24 días, debido a que algunos de los componentes que dan el color oscuro son solubles y migran del diente de ajo a la cáscara indicando que con un almacenamiento mayor a 16 días se tendrá una cáscara más oscura de lo deseado y el diente de ajo será más claro, además de que la migración de azúcares a la cáscara produce que disminuya el sabor dulce esperado en el diente de ajo.

Los resultados de la prueba ANOVA determinaron que no había diferencias estadísticamente significativas (p valor mayor a 0.05) en el valor de ΔE interno y externo a los 16, 20 y 24 días de almacenamiento; sin embargo, de acuerdo a lo que se observa en las figuras 36, 37 y 38 el cambio en el valor de ΔE externo después de los 16 días de almacenamiento es visualmente diferente, a pesar de no ser diferente estadísticamente.

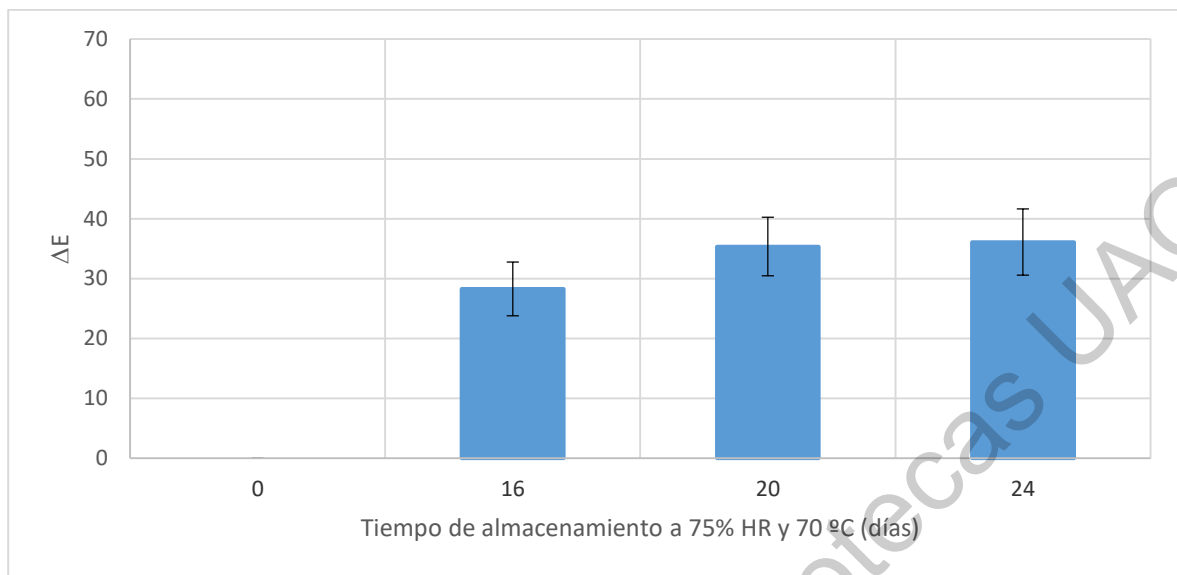


Figura 41. ΔE externo en ajo negro pretratado con sonicación por 15 min a 16, 20 y 24 días de almacenamiento.

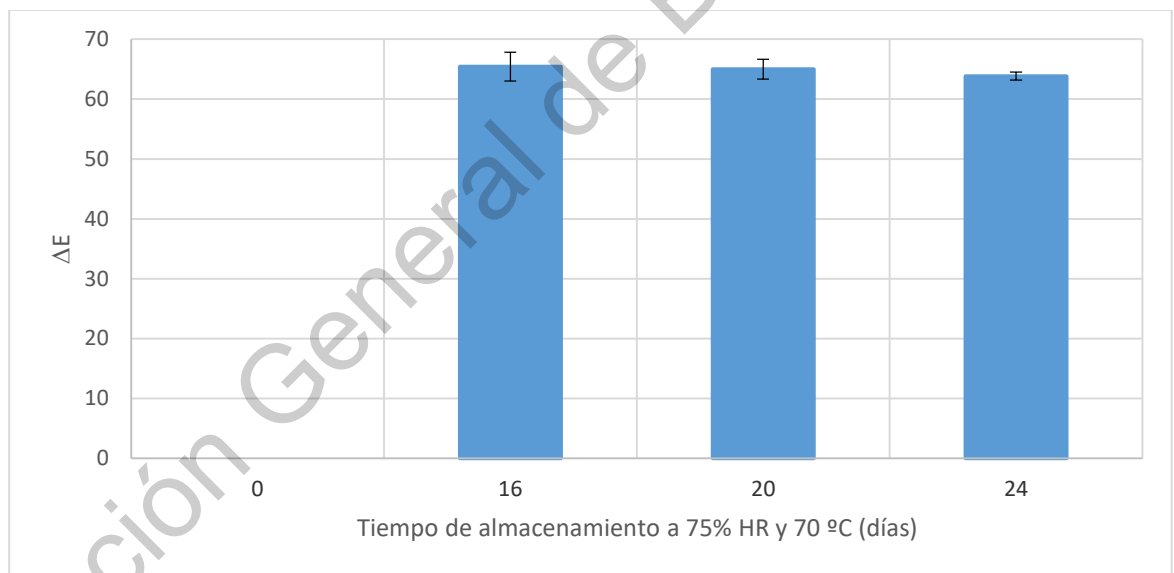


Figura 42. ΔE interno en ajo negro pretratado con sonicación por 15 min a 16, 20 y 24 días de almacenamiento.

5.4 Análisis de calidad del producto final y una muestra comercial

Una vez establecidas las condiciones de producción (pretratamiento de sonicación en los bulbos de ajo fresco por 15 min a 40 kHz, posteriormente almacenamiento a 70 °C con 95% de HR por 4 días y después a 75% HR por 12 días más), se realizaron

los análisis de calidad (físicoquímicos, bromatológicos, microbiológicos y sensoriales) a los bulbos de ajo obtenidos en esas condiciones. Los análisis realizados a los bulbos de ajo considerados como el producto final se realizaron también a un ajo negro comercial de la marca “Los Rancheros” con fines comparativos.

5.4.1 Determinación de textura

La textura del ajo negro se determinó a través de un análisis del perfil de textura (TPA), midiendo la adhesividad, cohesividad, elasticidad, gomosidad, masticabilidad y dureza de la muestra. Solo para este parámetro se decidió analizar las muestras de ajo obtenidas en las condiciones descritas anteriormente en el punto 5.4 pero a 16, 20 y 24 días de almacenamiento, los resultados se muestran en el Cuadro 5.

Cuadro 5. Parámetros de textura del producto final (con 16, 20 y 24 días de almacenamiento a 75% HR y 70 °C) y la muestra comercial.

Parámetro	16 días	20 días	24 días	Muestra Comercial
Adhesividad (mJ)	0.283 ± 0.194 ab	0.267 ± 0.266 ab	0.060 ± 0.055 b	0.525 ± 0.247 a
Cohesividad	0.333 ± 0.490 a	0.632 ± 0.235 a	0.700 ± 0.183 a	1.065 ± 0.332 a
Elasticidad	0.900 ± 0.368 a	0.902 ± 0.154 a	0.680 ± 0.303 a	0.850 ± 0.042 a
Gomosidad (N)	0.335 ± 0.370 ab	0.607 ± 0.375 ab	1.020 ± 0.365 b	0.350 ± 0.212 a
Masticabilidad (mJ)	-0.650 ± 0.370 ab	-0.120 ± 0.471 b	1.100 ± 0.458 c	-0.850 ± 0.071 a
Dureza (N)	0.523 ± 0.215 a	0.747 ± 0.238 ab	1.492 ± 0.695 b	0.645 ± 0.361 ab

Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

La cohesividad es la fuerza de los enlaces internos que mantiene la estructura de una muestra, representa la resistencia de un material a una segunda deformación (Torres y col., 2015). En el experimento, en base a este parámetro no hubo diferencias estadísticamente significativas (p valor mayor a 0.05) entre la muestra comercial y las muestras de los 3 periodos de almacenamiento (16, 20 y 24 días). El valor fue aumentando a mayor tiempo de almacenamiento, esto se debió a que a mayor tiempo de almacenamiento la muestra fue perdiendo humedad por la HR baja (75%) en la que se encontraba; lo que ocasionó que la muestra fuera más seca y a su vez, más resistente a la deformación. Esto concuerda con lo reportado en el estudio de Rahman y Al-Farsi (2005) donde evaluaron el efecto del contenido de humedad en las muestras en diferentes parámetros de textura de los alimentos y sus resultados mostraron que con la disminución del contenido de humedad, aumentaba el valor de cohesividad.

El valor de dureza aumento directamente con el tiempo de almacenamiento, debido a que a mayor tiempo de almacenamiento había más exposición a la atmósfera con HR baja (75%) por lo que se propició la pérdida de humedad del producto haciéndolo más seco y duro; los resultados indican que las muestras con 16 días de almacenamiento son similares a la muestra comercial y a las de 20 días, pero diferente a las muestras de 24 días de almacenamiento; llama la atención que las muestras de 24 días de almacenamiento no presentan diferencia estadística con la muestra comercial, pero esto es debió a la gran dispersión de los datos de la muestra a 24 días de almacenamiento. De manera similar a la cohesividad, estos resultados son similares a los reportados por Rahman y Al-Farsi (2005), quienes reportaron un aumento de la dureza con la disminución del contenido de humedad en la muestra. Del mismo modo que ocurrió con la cohesividad, los valores de dureza en las muestras de los 3 periodos de almacenamiento no presentaron diferencia significativa con respecto al ajo negro comercial.

La gomosidad es la fuerza necesaria para desintegrar una muestra de alimento semisólido a un estado tal que facilite su ingesta y es el producto de la dureza y la cohesividad (Torres y col., 2015) por lo que al haber relación directamente

proporcional entre estos 2 parámetros y el tiempo de almacenamiento, dicha relación también existió con la gomosidad (a mayor tiempo de almacenamiento mayor es el valor de gomosidad). Este parámetro únicamente presentó diferencia estadísticamente significativa (p valor menor a 0.05) en la muestra almacenada por 24 días a comparación de la muestra comercial.

En el Cuadro 5 se observa que a los 24 días de almacenamiento el valor de elasticidad fue menor, esto se debió a la pérdida de humedad que tuvo el ajo por haberse almacenado mayor tiempo a HR más baja (75%); Kimura y col. (2017) de igual manera reportaron que al disminuir el contenido de humedad en el ajo negro disminuye su suavidad y su elasticidad. El análisis estadístico de los datos evidenció que no hubo diferencias estadísticamente significativas entre las muestras de los 3 tiempos de almacenamiento y la muestra comercial (el p valor fue mayor a 0.05) en cuanto a la elasticidad.

En el caso de la adhesividad, se evidenció diferencia estadística (p valor menor a 0.05) entre la muestra de 24 días de almacenamiento y la comercial. Por otra parte, en cuanto a la masticabilidad hubo diferencia significativa en las muestras que fueron almacenadas por 20 y 24 días.

De acuerdo con estos resultados se confirmó que el almacenamiento de ajo por 16 días es mejor para la producción de ajo negro ya que se obtiene un producto con textura similar a la muestra comercial (que se tomó como referencia de calidad) lo que se comprobó al no haber diferencia estadística significativa en ninguno de los 6 parámetros entre la muestra de ajo procesada por 16 días y la muestra comercial. En base a esto, los posteriores análisis de calidad se realizaron únicamente a la muestra que fue almacenada por un total de 16 días; a esta muestra se le denominó producto final.

5.4.2 Análisis fisicoquímicos del producto final

En el cuadro 6 se muestran los parámetros fisicoquímicos del producto final y de la muestra comercial "Los Rancheros". Se puede notar que el contenido de AR y los

°Bx fueron mayores en el ajo negro obtenido con pretratamiento de sonicación por 15 min a 40kHz y almacenado por 16 días (4 días a 95% HR y 12 días a 75% HR y 70 °C) que en el ajo negro comercial. En el caso de los °Bx, la diferencia no fue estadísticamente significativa (el p valor fue mayor a 0.05) mientras que el contenido de AR si lo fue (p valor menor a 0.05) entre las muestras siendo 26% mayor en el producto final que en la comercial; lo cual se pudo evidenciar en la mayor percepción de sabor dulce y agradable del ajo negro obtenido en este trabajo.

Cuadro 6. Comparación de los parámetros fisicoquímicos del producto final y la muestra comercial.

Parámetro	Producto final obtenido	Muestra comercial
AR (mg/g)	310.226 ± 33.845 a	231.342 ± 38.721 b
°Bx	34.735 ± 6.329 a	33.709 ± 0.163 a
ΔE interno	65.427 ± 2.390 a	64.657 ± 1.753 a
ΔE externo	28.270 ± 4.493 a	30.439 ± 1.290 a
pH	3.836 ± 0.101 a	4.081 ± 0.396 a
Acidez titulable (%)	0.913 ± 0.033 b	0.691 ± 0.045 a
Aw	0.925 ± 0.013 a	0.918 ± 0.004 a

Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

En cuanto al color, tanto en el ΔE externo como en el interno, no se encontró diferencia estadísticamente significativa (p valor mayor a 0.05) entre el producto final y la muestra comercial. Por su parte, el ajo negro obtenido de este trabajo (producto final) presentó un valor de pH menor que el de la muestra comercial, lo que explica a su vez la mayor acidez titulable; siendo estadísticamente diferentes (p valor menor a 0.05) los valores de acidez titulable en el producto final y la muestra comercial, pero en los valores de pH no hay diferencia significativa (p valor mayor a 0.05). Durante la RM el pH de los alimentos tiende a disminuir como consecuencia de la generación

de ácidos carboxílicos (Ríos-Ríos, 2016). Choi y col. (2014) reportaron un valor de pH = 3.7 para ajo negro almacenado por 35 días a 90% HR y 70 °C, valor similar al obtenido en el producto final de este trabajo. Por su parte, los valores de Aw para ambas muestras; producto final y muestra comercial, no fueron diferentes estadísticamente.

5.4.3 Análisis bromatológicos del producto final

En el Cuadro 7 se puede observar que el producto final tuvo un porcentaje de humedad menor a la muestra comercial, esto puede deberse a que en este experimento se realizó el cambio de HR a una menor (75%) después de 4 días de almacenamiento a 95% por lo que al ser menor la HR ocasionó que el producto tuviera menor humedad por el equilibrio entre humedades del ambiente (HR) y el mismo producto.

Cuadro 7. Comparación de parámetros bromatológicos del producto final y la muestra comercial (datos obtenidos de la etiqueta).

Parámetro	Producto final	Muestra comercial
Humedad (%)	49.260 ± 2.129	53.100
Cenizas (%)	2.270 ± 0.394	1.660
Grasa (%)	0.000 ± 0.000	0.000
Proteína (%)	7.370 ± 1.981	7.000
Vitamina C (mg/100 g)	4.605 ± 0.585	12.000
Sodio (%)	0.700 ± 0.197	0.020

El contenido de humedad obtenido en el producto final se encuentra dentro del óptimo para este producto; Kimura y col. (2017) reportaron que el ajo negro con porcentaje de humedad entre 40 y 50% es adecuado para comer debido a su suavidad y elasticidad; asimismo, Bae y col. (2014) reportaron un porcentaje de

humedad de aproximadamente 49% en ajo negro almacenado por 45 días a 70 °C y 70% HR, valor consistente con el obtenido en el producto final del presente trabajo. El porcentaje de humedad de la muestra comercial (53.1 %) fue cercano al valor reportado por Botas y col. (2019) de 54%.

Tanto en el producto final como en la muestra comercial, el contenido de grasa es tan bajo que no se pudo cuantificar. Los valores de cenizas y proteína fueron mayores en el producto final que en la muestra comercial, esto pudo ser porque con la pérdida de humedad se concentraron los solutos presentes y por ende los porcentajes aumentaron ligeramente. El porcentaje de proteína del producto final es similar al valor de 7.4% reportado por Botas y col. (2019), mientras que en el mismo estudio se reporta un valor de cenizas de 3.2%, distintivamente mayor a los valores obtenidos en el producto final y el comercial; no obstante, en dicho estudio se menciona que el valor de cenizas reportado es mayor a los reportados por otros autores (Haciseferogullari y col., 2005; Suleria y col., 2012; Khalid y col., 2014).

El contenido de vitamina C fue menor en el producto final que en la muestra comercial, y este valor concuerda con el reportado por Ríos-Ríos (2016), quien reportó que la disminución en el contenido de vitamina C durante la producción de ajo negro es efecto principalmente del procesamiento térmico y la severidad que tendrá en dicha disminución depende de las diferentes condiciones que se empleen para la producción, por lo que el tratamiento térmico empleado en el experimento pudo tener efectos sobre la disminución de vitamina C. Además la vitamina C (ácido ascórbico) también participa en las reacciones de oscurecimiento (Yu y col., 2018), lo cual pudo contribuir a su menor concentración.

5.4.4 Análisis microbiológicos del producto final

En los alimentos, la actividad de agua influye selectivamente tanto sobre la multiplicación de los microorganismos patógenos transmitidos por ellos como sobre la naturaleza de la flora alterante. La mayoría de los microorganismos se desarrollan a valores de A_w comprendidos entre 0.89 y 1.0, y conforme disminuye el valor de A_w dejan de multiplicarse progresivamente, se sabe que por debajo de 0.85 no crecen

las bacterias patógenas, ni casi ningún otro tipo de bacteria, sólo pueden desarrollarse algunos hongos (mohos) y levaduras (García, 2017).

El ajo negro tiene una A_w alta (0.918 - 0.925) por lo que puede soportar la proliferación de microorganismos especialmente bacterias. Según Qiu y col. (2018), las cepas microbianas, especialmente las endófitas, pueden sobrevivir en este alimento gracias a la alta humedad. Además, investigaron el total de bacterias y endófitos durante el procesamiento del ajo negro en las mismas condiciones basadas en enfoques dependientes del cultivo, lo que indica que hubo un cierto número de cepas microbianas durante el procesamiento. En vista de la consideración anterior, dedujeron que la “fermentación” microbiana existía en el procesamiento, aunque podría ser débil y desempeñar un papel menor.

Los resultados obtenidos en este experimento indican que no se presentó o no se evidenció la presencia de microorganismos en el producto final ni en la muestra comercial; estas muestras no presentaron desarrollo de colonias en medios de cultivo como el agar EMB ni en el agar Mac Conkey, por lo que se descarta la presencia de *E. coli* en las muestras. También se descartó la presencia de *Salmonella* ya que no hubo crecimiento de colonias en agar XLD con novobiocina para ninguna de las muestras. Ngan y col. (2017) evaluaron la actividad antimicrobiana en ajo negro y encontraron en todas las muestras analizadas que fueron efectivas contra *Salmonella* gram negativa y *Listeria monocytogenes* gram-positiva; lo que sugiere que si las muestras de ajo negro evaluadas en este trabajo se hubieran contaminado con *Salmonella* el efecto antimicrobiano del ajo negro pudo ser la razón por la que no se evidenció su presencia. Por su parte; Botas y col. (2019) evaluaron la actividad antimicrobiana en ajo negro frente a diversas bacterias patógenas (entre ellas *E. coli*) y obtuvieron que el ajo negro mostró actividad antibacteriana contra todas las bacterias evaluadas, dicha actividad se relacionó con las moléculas bioactivas que contiene como sus compuestos organosulfurados; además de que hubo un aumento del contenido de fenoles y flavonoides en el ajo negro en comparación al ajo fresco (Jang y col., 2017; Kimura y col., 2017).

Por último, se encontró que tampoco hubo presencia de coliformes en el producto final ni en la muestra comercial; lo que explica que no hubiera presencia de *E. coli*, como se mencionó anteriormente. No existe una norma mexicana que establezca especificaciones para el ajo negro por lo que no se tienen límites permisibles microbiológicos, pero en el Cuadro 8 se muestran los valores obtenidos del análisis para *Salmonella*, *E. coli* y coliformes en el producto final y el comercial comparados con los límites permisibles reportados en la norma NOM-210-SSA1-2014; donde no se especifica un límite de coliformes ya que el valor para cada matriz alimentaria es variable.

Cuadro 8. Comparación entre el producto final, comercial y las especificaciones de la NOM-210-SSA1-2014*.

Muestra	<i>Salmonella</i> (UFC/g)	<i>E. coli</i> (UFC/g)	Coliformes (UFC/g)
Producto final	Negativo	Negativo	<10
Ajo negro comercial	Negativo	Negativo	<10
Valor de norma	Negativo*	Negativo*	No aplica

La ausencia de los microorganismos mencionados anteriormente en el ajo negro puede deberse también a la temperatura de almacenamiento a la que se exponen los bulbos de ajo fresco durante la producción de ajo negro (70 °C). Buzrul y Alpas (2007) reportaron la inactivación de 4 patógenos transmitidos por los alimentos (*L. monocytogenes*, *Salmonella*, *E. coli* y *S. aureus*) a temperatura moderada (60 °C); mientras que Cota y Ponce (2008) reportaron que los coliformes mueren al encontrarse en temperaturas mayores a 50 °C; por su parte Tchobanoglous y col. (2003) reportaron que tanto *Salmonella* como los coliformes (donde se incluye a *E. coli*) mueren al estar expuestos a temperatura de 55 °C por una hora o entre 15 y 20 min a 60 °C. Por su parte, Dos Santos (2007) reporto que *E. coli* puede sobrevivir hasta en un pH mínimo de 3.6; mientras que *Salmonella* puede desarrollar a un pH

mínimo de 3.8. Es por ello que a pesar de que los valores de pH (3.8 en el producto final y 4.1 en el comercial) y de Aw (0.93 y 0.92, respectivamente) pudieran propiciar el crecimiento de microorganismos, no se pudo evidenciar la presencia debido a su eliminación por la exposición a la alta temperatura empleada durante el proceso de producción (70 °C).

5.4.5 Análisis sensorial del producto final

Se realizó la evaluación sensorial del producto final comparándolo con la muestra comercial de ajo negro; los panelistas debían evaluar las muestras en diferentes atributos (apariciencia, sabor, textura y agrado general) usando una escala hedónica de siete puntos e indicar cuál de las dos muestras preferían. Los resultados de la evaluación de atributos del producto final y del comercial se muestran en las Figuras 43 y 44.

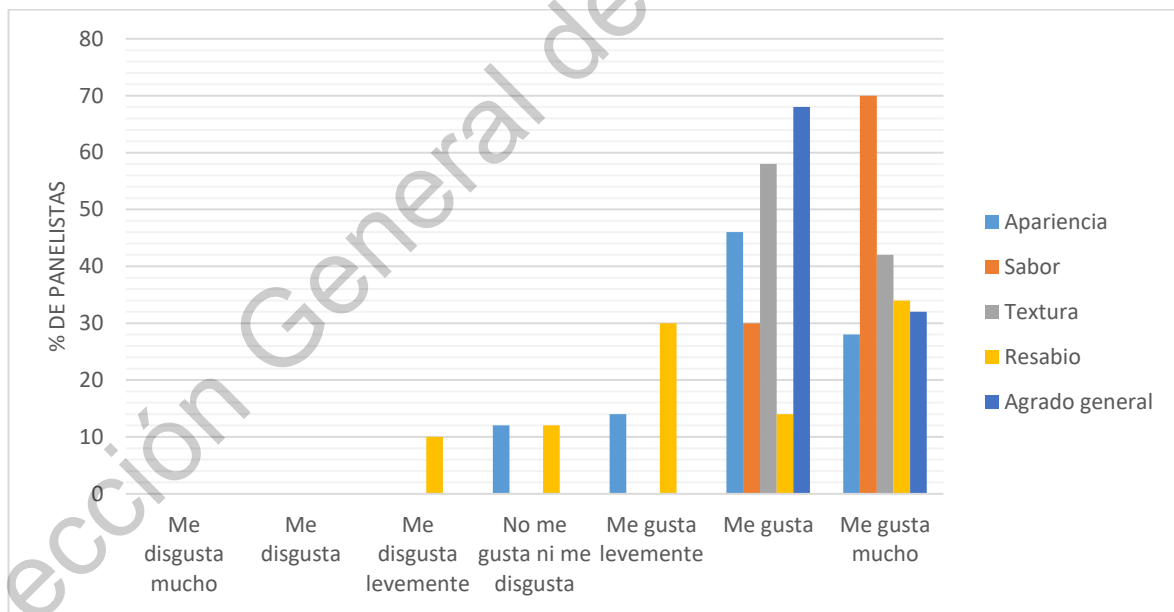


Figura 43. Calificación de los panelistas en la evaluación de atributos del ajo negro producido experimentalmente (producto final).

En la figura 43 se observa que las calificaciones otorgadas por los panelistas al ajo negro producido experimentalmente (producto final) a los atributos evaluados fueron

en la escala hedónica de “me gusta mucho” para el sabor (seleccionada por el 70% de los panelistas) y el resabio (34%); de “me gusta” para la apariencia (46%), textura (58%) y agrado general (68%). Para el atributo de resabio, no hubo una tendencia del todo clara, ya que las 2 calificaciones más elegidas fueron “me gusta mucho” (34%) y “me gusta levemente” (30%). De manera general, la tendencia en las evaluaciones de los panelistas para el producto final fue en las calificaciones “me gusta” y “me gusta mucho” es decir hacia el agrado de la muestra.

Por su parte, en la Figura 44 se puede notar que las calificaciones asignadas por los panelistas a los atributos evaluados en el producto comercial fueron de “me gusta mucho” para la textura (58%) y “me gusta” para la apariencia (60%), sabor (74%), resabio (44%) y agrado general (72%). Al igual que en el producto final (ajo negro de este trabajo), la mayor concentración en las evaluaciones de los panelistas para el ajo negro comercial fue en las calificaciones de “me gusta” y “me gusta mucho”.

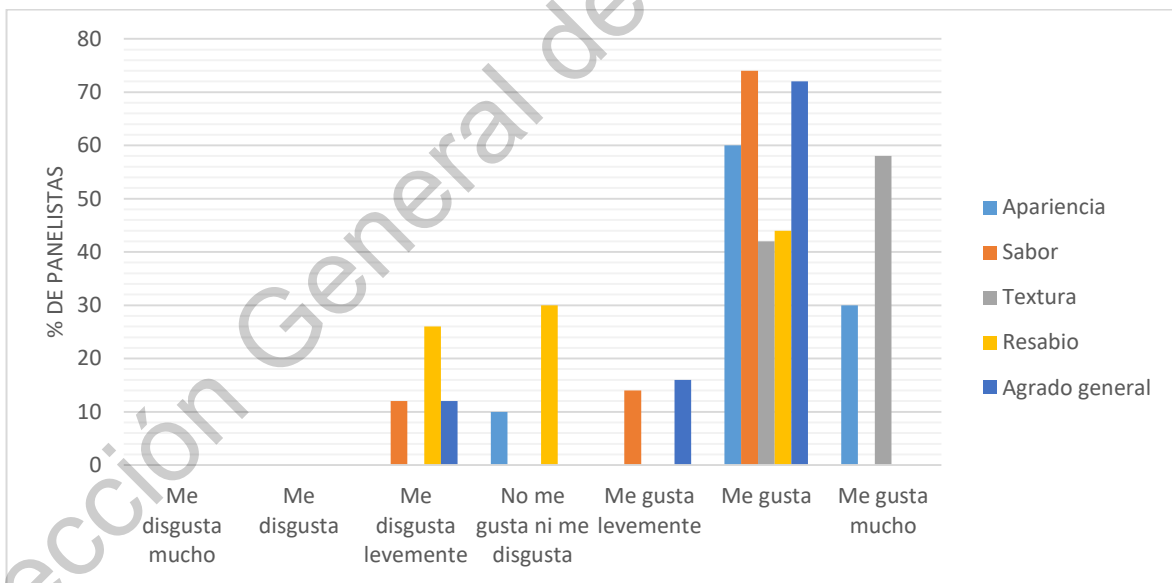


Figura 44. Calificación de los panelistas en la evaluación de atributos del ajo negro comercial.

En cuanto a la preferencia por los panelistas, la mayoría (70%) escogió la muestra de ajo obtenido con pretratamiento de sonicación. Esta mayor preferencia de los panelistas por el producto final concuerda con lo mostrado en las Figuras 43 y 44; se

puede ver que el producto comercial tuvo mayor dispersión en las calificaciones ya que un mayor porcentaje de panelistas (hasta 26%) otorgo calificaciones bajas como “me disgusta levemente” en los atributos de agrado general, resabio y sabor; esta calificación también fue otorgada al ajo negro producido experimentalmente pero en una menor proporción (10%) y únicamente para el atributo de resabio, además de que este ajo tuvo una tendencia más clara hacia las calificaciones “me gusta” y “me gusta mucho”. Es por ello que el producto final fue escogido por los panelistas por encima del comercial; esta mayor preferencia puede deberse a que, como se muestra en el Cuadro 6, en el ajo negro obtenido experimentalmente el contenido de AR era mayor y el sabor dulce era más agradable (más °Bx). El hecho de que el pH fuera menor y la acidez mayor en el producto final a comparación del comercial no influenció en la aceptación por parte de los consumidores, ya que se esperaría que al tener menor pH y mayor acidez ocasionaría que el producto tuviera un sabor más ácido y fuera menos dulce lo que es indeseable por el consumidor y por lo tanto podría haber rechazo del producto.

6. CONCLUSIONES

- En este trabajo no fue posible reproducir las condiciones reportadas en literatura (95% HR y 70 °C por un periodo de 30 días) y esto origino hacer un ajuste en el tratamiento.
- Se logró obtener un ajo negro de buena calidad después de 16 días de almacenamiento a 70 °C; 4 días a 95% HR más 12 días a 75% HR.
- El uso de sonicación por 15 min a 40 kHz como pretratamiento en la elaboración de ajo negro tiene efecto positivo en el contenido de azúcares reductores (AR), sólidos solubles totales (°Bx) y en el color de los bulbos tratados, lo cual permite tener ajo negro de mejor calidad que el control sin sonicación e incluso que una muestra comercial.
- La calidad microbiológica del ajo negro, tanto obtenido en este trabajo como la muestra comercial, no representa ningún riesgo a su consumo.
- El mayor contenido de AR y °Bx en el ajo negro producido con pretratamiento de sonicación que en el comercial, ocasionó que los panelistas percibieran un sabor más dulce y que fuera preferido por el consumidor.

7. REFERENCIAS

Acosta GF, Lujan M, Parra RA. Crecimiento y rendimiento de cultivares de ajo en Delicias, Chihuahua, México. *Agricultura técnica en México*. **2008**; 34:177-188.

Ajandouz EH, Tchiakpe LS, Ore FD, Benajiba A, Puigserver A. Effects of pH on Caramelization and Maillard Reaction Kinetics in Fructose-Lysine Model Systems. *Journal of Food Science*. **2001**; 66(7):926–931.

Aminuddin M, Partadiredja G, Sari D. The effects of black garlic (*Allium sativum* L.) ethanol extract on the estimated total number of purkinje cells and motor coordination of male adolescent wistar rats treated with monosodium glutamate. *Anatomical Science International*. **2015**; 90:75-81.

Apolinário AC, de Lima BPG, de Macêdo NE, Pessoa A, Converti A, da Silva JA. Inulin-type fructans: A review on different aspects of biochemical and pharmaceutical technology. *Carbohydrate Polymers*. **2014**; 101:368-378.

Bae SE, Cho SY, Won YD, Lee SH, Park HJ. Changes in S-allyl cysteine contents and physicochemical properties of black garlic during heat treatment. *Food Science and Technology*. **2014**; 55(1):397-402.

Banerjee S, Mukherjee PK, Maulik S. Garlic as an antioxidant: The good, the bad and the ugly. *Phytotherapy Research*. **2003**; 17:97-106.

Baumgartner S, Dax TG, Praznik W, Falk H. Characterization of the high-molecular weight fructan isolated from garlic (*Allium sativum* L.). *Carbohydrate research*. **2000**; 328(2):177-183.

Barreiro JA, Sandoval AJ. Aspectos bioquímicos. En: Operaciones de conservación de alimentos por bajas temperaturas. Caracas: Editorial Equinoccio, **2006**: 35-36.

Bera S, Mondal D, Martin JT, Singh M. Potential effect of ultrasound on carbohydrates. *Carbohydrate Research*. **2015**; 410:15-35.

Botas J, Fernandes Â, Barros L, Alves MJ, Carvalho AM, Ferreira ICFR. A Comparative Study of Black and White *Allium sativum* L.: Nutritional Composition and Bioactive Properties. *Molecules*. **2019**; 24(11):2194.

Burba JL. Los grupos varietales del ajo (*Allium sativum* L.): Contribución para su entendimiento. *Horticultura Argentina*. **2008**; 27:20-27.

Buzrul S, Alpas H. Modeling inactivation kinetics of food borne pathogens at a constant temperature. *Food Science and Technology*. **2007**; 40(4):632-637.

Carrascal FA, Pachón Z, Molina D. Desarrollo y aplicación de una nueva metodología para cuantificar la eficiencia de los rompedores de fluidos de fractura base agua. *Revista Fuentes*. **2013**; 11:65-69.

Carrillo-Navarrete, F. Extracción y caracterización de fructanos de ajo no diferenciado (*Allium Sativum* L.) y su potencial efecto prebiótico. **2015**. Tesis de Maestría en Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Universidad Autónoma de Querétaro: Querétaro, México.

Cha J, Lee S, Shin J, Sung N. Antioxidant and inhibition of nitrosodimethylamine formation in marketing black garlics. *Journal of Agriculture & Life Science*. **2012**; 46:151-162.

Choi A. Physicochemical and Antioxidant Properties of Black Garlic. *Molecules*. **2014**; 19:16811-16823.

Choi DJ, Lee SJ, Kang MJ, Cho HS, Sung NJ, Shin JH. Physicochemical characteristics of black garlic (*Allium sativum* L.). *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*. **2008**; 37:465-471.

Choudhary A, Kumar V, Kumar S, Majid I, Aggarwal P, Suri S. 5-Hydroxymethylfurfural (HMF) formation, occurrence and potential health concerns: recent developments. *Toxin reviews*. **2020**.

CIE. Colorimetry 15 (Fourth ed.). **2018**. [ISBN](#) 978-3-902842-13-8.

Colin AL, Santana RA, Silva CA, Chanez ME, Santamaria A, Maldonad PD. The antioxidant mechanisms underlying the aged garlic extract- and S-allylcystein-induced protection. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. **2012**; 2012:1-16.

Cota AD, Ponce C. Eliminación de bacterias patógenas en lodos residuales durante el secado solar. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. **2008**; 24(4):161-170.

Das UN. Pyruvate is an endogenous anti-inflammatory and anti-oxidant molecule. *Medical Science Monitor*. **2006**; 12:RA79-RA84.

Denre M, Ghanti S, Sarkar K. Effect of humic acid application on accumulation of mineral nutrition and pungency in garlic (*Allium sativum* L.). International Journal for Biotechnology and Molecular Biology Research. **2014**; 5:7-12.

Dong M, Yang G, Liu H, Liu X, Lin S, Sun D, Wang Y. Aged black garlic extract inhibits ht29 colon cancer cell growth via the pi3k/akt signaling pathway. Biomedical Reports. **2014**; 2:250-254.

Dos Santos AJ. Estudio del comportamiento cinético de microorganismos de interés en seguridad alimentaria con modelos matemáticos. Barcelona: Universidad Autónoma de Barcelona, **2007**.

Edris AE, Murkovic M, Siegmund B. Application of headspace-solid-phase microextraction and HPLC for the analysis of the aroma volatile components of treacle and determination of its content of 5-hydroxymethylfurfural (HMF). Food Chemistry. **2007**; 104:1310-1314.

Fang Z. Métodos analíticos para la determinación de vitamina C en alimentos. Madrid: Universidad Complutense, **2017**.

FAOSTAT. Cultivos: Ajo (Producción – Cantidad). FAO, **2018** [Consultado 2019 febrero 3]. Disponible en: <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC>

FAOSTAT. Cultivos: Ajo (Producción – Cantidad). FAO, **2019** [Consultado 2021 enero 8]. Disponible en: <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC>

Faridulla M, Roy VC, Lithi UJ. Prevalence of *Salmonella* and *Escherichia coli* contamination in shrimp (*Penaeus monodon*) farms, depots and processing plants in different areas of Bangladesh. Asian Journal of Medical and Biological Research. **2016**; 2: 171-176.

Florencia M. Estudio de procesos de deshidratación industrial de ajo con la finalidad de preservar alicina como principio bioactivo. **2011**. Tesis de Licenciatura en Bromatología. Universidad Nacional de Cuyo: Mendoza, Argentina.

Ford TG, Bogash SM, Orzolek MD, Kime LF, Harper JK. Alternativas agrícolas. Penn State, **2015** [consultado 2021 enero 8]. Disponible en: https://extension.psu.edu/downloadable/download/sample/sample_id/539/

Galanakis CM. Carbohydrates. En: Nutraceutical and functional food components. Londres: Academic Press, **2017**: 65.

García A. Extremadura: Alimentos de calidad. En: Las denominaciones de origen protegidas de alimentos como vectores del desarrollo turístico y rural en Extremadura. Madrid: Visión Libros, **2017**: 232.

García A, Amor S, Monge L, Fernández N, Prodanov M, Muñoz M, Inarejos A, Granado M. In vitro studies of an aged black garlic extract enriched in S-allylcysteine and polyphenols with cardioprotective effects. *Journal of Functional Foods*. **2016**; 27:189-200.

García JR. Procedimiento de secado. En: Elaboración de semiconservas, salazones, secados, ahumados y escabeches. IC Editorial, **2017**.

Garzón JF. Uso del ajo y/o sus compuestos activos como agente antimicrobiano en la industria de alimentos. Universidad Nacional Abierta y a Distancia, **2018**.

Giraldo GA, Chamorro NL, Mejía CM. Laboratorio de bioquímica. Quindío: Ediciones Elizcom, **2010**: 58.

Gupta D, Du Y, Piluek J, Jakub AM, Buela KA, Abbott A, Schuman JS, SundarRaj N. Ethyl pyruvate ameliorates endotoxin-induced corneal inflammation. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. **2012**; 53:6589-6599.

Haciseferogulları H, Özcan M, Demir F, Çalışır S. Some nutritional and technological properties of garlic (*Allium sativum* L.). *Journal of Food Engineering*. **2005**; 68:463-469.

Heldman DR, Moraru CI. Ultrasound: Food Processing. En: Encyclopedia of Agricultural, Food, and Biological Engineering. Boca Ratón: CRC Press, **2014**; vol. 2: 1770.

Hernández-Corona J.G. Tesis publicada (Maestría en Ciencia y Tecnología de los Alimentos). Extracción, cuantificación, caracterización funcional de los fructanos de ajo (*Allium sativum* L.) y el estudio de sus aplicaciones en la industria alimentaria. Querétaro: Universidad Autónoma de Querétaro, **2018**.

Hermawati E, Sari DCR, Partadiredja G. The effects of black garlic ethanol extract on the spatial memory and estimated total number of pyramidal cells of the hippocampus of monosodium glutamate-exposed adolescent male wistar rats. *Anatomical Science International*. **2015**; 90:275-286.

Hossain MA, Kumar V, Burritt DJ, Fujita M, Mäkelä P. Fructan Metabolism in Plant Growth and Development and Stress Tolerance. En: Osmoprotectant-Mediated Abiotic Stress Tolerance in Plants: Recent Advances and Future Perspectives. Cham: Springer, **2019**: 321.

Iannone E. Biochemical Assays and Sequencing Techniques. En: Labs on chip. Principles, Design, and Technology. Boca Ratón: CRC Press, **2018**: 187.

Ichikawa M, Ryu K, Yoshida J, Ide N, Yoshida S, Sasaoka T, Sumi SI. Antioxidant effects of tetrahydro- β -carboline derivatives identified in aged garlic extract. BioFactors. **2002**; 16:57-72.

Ichikawa M, Yoshida J, Ide N, Sasaoka T, Yamaguchi H, Ono K. Tetrahydro- β -carboline derivatives in aged garlic extract show antioxidant properties. Journal of Nutrition. **2006**; 136:726S-731S.

Imai J, Ide N, Nagae S, Moriguchi T, Matsuura H, Itakura Y. Antioxidant and radical scavenging effects of aged garlic extract and its constituents. Planta Medica. **1994**; 60:417-420.

Jang HJ, Lee HJ, Yoon DK, Ji DS, Kim JH, Lee CH. Antioxidant and antimicrobial activities of fresh garlic and aged garlic by-products extracted with different solvents. Food Science and Biotechnology. **2017**; 27(1):219-225.

Jeong YY, Ryu JH, Shin JH, Kang MJ, Kang JR, Han J, Kang D. Comparison of antioxidant and anti-inflammatory effects between fresh and aged black garlic extracts. Molecules. **2016**; 21:430.

Jing H. Black Garlic: Processing, Composition Change, and Bioactivity. eFood. **2020**; 1(3):242-246.

Jung ES, Park SH, Choi EK, Ryu BH, Park BH, Kim DS, Kim YG, Chae SW. Reduction of blood lipid parameters by a 12-wk supplementation of aged black garlic: A randomized controlled trial. Nutrition. **2014**; 30:1034-1039.

Jung I, Sohn H. Antioxidation, antimicrobial and antithrombosis activities of aged black garlic (*Allium sativum* L.). Korean Journal of Microbiology and Biotechnology. **2014**.

Kang MJ, Lee SJ, Sung NJ, Shin JH. The effect of extract powder from fresh and black garlic on main components in serum and organs of streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Life Sciences*. **2013**; 23:432-442.

Khalid N, Ahmed I, Latif MSZ, Rafique T, Fawad SA. Comparison of antimicrobial activity, phytochemical profile and minerals composition of garlic *Allium sativum* and *Allium tuberosum*. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*. **2014**; 57:311-317.

Kim DG, Kang MJ, Hong SS, Choi YH, Shin JH. Antiinflammatory effects of functionally active compounds isolated from aged black garlic. *Phytotherapy Research*. **2017**; 31:53-61.

Kim HK, Choi YW, Lee EN, Park JK, Kim SG, Park DJ, Kim BS, Lim YT, Yoon S. 5-hydroxymethylfurfural from black garlic extract prevents tnfa-induced monocytic cell adhesion to huvecs by suppression of vascular cell adhesion molecule-1 expression, reactive oxygen species generation and nf-kb activation. *Phytotherapy Research*. **2011a**; 25:965-974.

Kim I, Kim JY, Hwang YJ, Hwang KA, Om AS, Kim JH, Cho KJ. The beneficial effects of aged black garlic extract on obesity and hyperlipidemia in rats fed a high-fat diet. *Journal of Medicinal Plants Research*. **2011b**; 5:3159-3168.

Kim J, Kang O, Gweon O. Comparison of phenolic acids and flavonoids in black garlic at different thermal processing steps. *Journal of Functional Foods*. **2013**; 5:80-86.

Kim JH, Nam SH, Rico CW, Kang MY. A comparative study on the antioxidative and anti-allergic activities of fresh and aged black garlic extracts. *International Journal of Food Science & Technology*. **2012**; 47:1176-1182.

Kim MH, Kim MJ, Lee JH, Han LJ, Kim JH, Sok DE, Kim MR. Hepatoprotective effect of aged black garlic on chronic alcohol-induced liver injury in rats. *Journal of Medicinal Food*. **2011c**; 14:732-738.

Kimura S, Tung Y, Pan M, Su N, Lai Y, Cheng K. Black garlic: A critical review of its production, bioactivity, and application. *Journal of Food and Drug Analysis*. **2017**; 25:62-70.

Labuza TP. Kinetics of lipid oxidation in foods. *Critical Reviews in Food Technology*. **1971**; 2(3):355-405.

Lara M, Julián MC, Pérez A, Benítez I, Lara P. Avances en la producción de inulina. *Tecnología química.* **2017**; 37:220-238.

Lee C-H, Chen Y-T, Hsieh H-J, Chen K-T, Chen Y-A, Wu J-T, Tsai M-S, Lin J-A, Hsieh C-W. Exploring epigallocatechin gallate impregnation to inhibit 5-hydroxymethylfurfural formation and the effect on antioxidant ability of black garlic. *Food Science and Technology.* **2020**; 117.

Lee EN, Cho YW, Kim HK, Park JK, Kim HJ, Kim MJ, Lee HW, Kim KH, Bae SS, Kim BS, Yoon S. Chloroform extract of aged black garlic attenuates TNF- α -induced ROS generation, VCAM-1 expression, NF- κ B activation and adhesiveness for monocytes in human umbilical vein endothelial cells. *Phytotherapy Research.* **2011**; 25:92-100.

Lee SJ, Shin JH, Kang MJ, Jung WJ, Ryu JH, Kim RJ, Sung NJ. Antioxidants activity of aged red garlic. *Journal of Life Science.* **2010**; 20:775-781.

Lee YM, Gweon OC, Seo YJ, Im J, Kang MJ, Kim MJ, Kim JI. Antioxidant effect of garlic and aged black garlic in animal model of type 2 diabetes mellitus. *Nutrition Research and Practice.* **2009**; 3:156-161.

Li F, Cao J, Liu Q, Hu X, Liao X, Zhang Y. Acceleration of the Maillard reaction and achievement of product quality by high pressure pretreatment during black garlic processing. *Food Chemistry.* **2020**; 318:126517.

Li N, Lu X, Pei H, Qiao X. Effect of freezing pretreatment on the processing time and quality of black garlic. *Journal of Food Process Engineering.* **2015**; 38(4):329-335.

Lingyun W, Jianhua W, Xiaodong Z, Da T, Yalin Y, Chenggang C, Tianhua F, Fan Z. Studies on the extracting technical conditions of inulin from Jerusalem artichoke tubers. *Journal of Food Engineering.* **2007**; 79:1087-1093.

López AF. Aspectos higiénicos y sanitarios. En: Manual para la preparación y venta de frutas y hortalizas. Barcarce: FAO, **2003**.

Lu X, Li N, Qiao X, Qiu Z, Liu P. Effects of thermal treatment on polysaccharide degradation during black garlic processing. *Food Science and Technology.* **2018**; 95:223-229.

Lund MN, Ray CA. Control of Maillard Reactions in Foods: Strategies and Chemical Mechanisms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* **2017**; 65:4537-4552.

Ma L, Chen Q, Yan P, Wang G. CHN. Patent No. CN104905188A. Shandong: CHN. **2015**.

Macías LM, Maciel LH, Silos H. Diamante: Variedad de ajo blanco tipo California generada por selección individual. AGROFAZ. **2014**; 14:51-59.

Maldonado RM. Tesis publicada (Ingeniero Agrónomo Fitotecnista). El cultivo del ajo (*Allium sativum* L.). Producción y comercialización en Guanajuato. Coahuila: Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro", **1999**.

Medina J, García HS. Garlic: Post-harvest Operations [monografía en internet]. Veracruz: FAO, **2007** [Consultado 2019 febrero 3]. Disponible en: <http://www.fao.org/3/av002e/av002e.pdf>

Milani E, Koocheki A, Golimovahhed QA. Extraction of inulin from Burdock root (*Arctium lappa*) using high intensity ultrasound. International Journal of Food Science & Technology. **2011**; 46:1699-1704.

Moreno SA. Tesis publicada (Ingeniería Química en Alimentos). Efecto del almacenamiento a -20°C como pretratamiento en la calidad de ajo negro. Querétaro: Universidad Autónoma de Querétaro, **2020**.

Narváez M, Sánchez MA, Quintero A, Paredes MA, González RF, Ruiz MG, Pinón HA, Meléndez CO. Ultrasound assisted extraction modeling of fructans from agave (*Agave tequilana* Weber var. Azul) at different temperatures and ultrasound powers. Food and Bioproducts Processing. **2015**; 96:232-239.

Ngan N, Giang M, Tu N. Biological Activities of Black Garlic Fermented with *Lactobacillus plantarum* PN05 and Some Kinds of Black Garlic Presenting Inside Vietnam. Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research. **2017**; 51:672-678.

Nielsen S. Ash Analysis. En: Food Analysis. Cham: Springer, **2017**: 288.

Nieves M, Garrido J, Barandiaran X, Mansilla F, Sánchez MJ, Martín J. Introducción. En: Primeros resultados de un programa de liberación de virus del banco de germoplasma de ajo de Córdoba. Córdoba: Junta de Andalucía, **2004**: 10.

NMX-F-066-S-1978. Determinación de cenizas en alimentos. Foodstuff. Determination of ashes. Normas mexicanas. México: Dirección general de normas,

1978 [Consultado 2021 enero 14]. Disponible en:

<https://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-066-S-1978.PDF>

NMX-F-089-S-1978. Determinación de extracto etéreo (método Soxhlet) en alimentos. Foodstuff. Determination of ether extract (Soxhlet). Normas mexicanas. México: Dirección general de normas, 1978 [Consultado 2021 enero 14]. Disponible en: <https://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-089-S-1978.PDF>

NMX-F-102-S-1978. Determinación de la acidez titulable en productos elaborados a partir de frutas y hortalizas. Norma mexicana. México: Dirección general de normas, 1978 [Consultado 2021 enero 14]. Disponible en: <https://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-102-S-1978.PDF>

NMX-F-236-S-1979. Determinación de sólidos totales por el índice de refracción en salsa de tomate catsup. Determination of solids for the refractive index in tomato sauce catsup. Normas mexicanas. México: Dirección general de normas, 1979 [Consultado 2021 enero 14]. Disponible en: <https://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-236-S-1979.PDF>

NMX-F-317-S-1978. Determinación de pH en alimentos. Determination of pH in foods. Normas mexicanas. México: Dirección general de normas, 1978 [Consultado 2021 enero 14]. Disponible en: <http://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-317-S-1978.PDF>

Norma Oficial Mexicana **NOM-092-SSA1-1994.** Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. México: Secretaría de Salud, 1994 [Consultado 2019 febrero 16]. Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/092ssa14.html>

Norma Oficial Mexicana **NOM-111-SSA1-1994.** Bienes y servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos. México: Secretaría de Salud, 1995 [Consultado 2019 febrero 16]. Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/111ssa14.html>

Norma Oficial Mexicana **NOM-113-SSA1-1994.** Bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa. México: Secretaría de Salud, 1995 [Consultado 2019 febrero 16]. Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/113ssa14.html>

Norma Oficial Mexicana **NOM-116-SSA1-1994**. Bienes y servicios. Determinación de humedad en alimentos por tratamiento térmico. Método por arena o gasa. México: Secretaría de Salud, 1995 [Consultado 2021 enero 14]. Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/116ssa14.html>

Norma Oficial Mexicana **NOM-210-SSA1-2014**. Productos y servicios. Métodos de prueba microbiológicos. Determinación de microorganismos indicadores. Determinación de microorganismos patógenos. México: Secretaría de Salud, 2015 [Consultado 2019 febrero 16]. Disponible en: http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5398468&fecha=26/06/2015

Norma Oficial Mexicana **NOM-F-68-S-1980**. Alimentos - Determinación de Proteínas (esta Norma cancela la NOM-F-68-1977). México: Secretaría de Salud, 1980 [Consultado 2021 enero 14]. Disponible en: http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4858024&fecha=04/08/1980#:~:text=NO M%2DF%2D68%2DS%2D1980%20%22,ALIMENTOS%2DDETERMINACION%20DE%20PROTEINAS%22.&text=Esta%20Norma%20Oficial%20Mexicana%20establece,determinar%20prote%C3%ADnas%20en%20productos%20alimenticios.

Park J, Park C, Han MH, Kim BW, Chung YH, Choi YH. Inhibition of adipocyte differentiation and adipogenesis by aged black garlic extracts in 3t3-l1 preadipocytes. *Journal of Life Science*. **2011**; 21:720-728.

Poggio T. Utilización de equipos y utillaje en la elaboración y tratamiento de productos alimentarios. 2ª edición. Málaga: ICB Editores, **2018**.

Pourfarzad A, Habibi MB, Haddad MH, Khayyat MH. Characterization of fructan extracted from *Eremurus spectabilis* tubers: a comparative study on different technical conditions. *Journal of Food Science and Technology*. **2015**; 52:2657-2667.

Pszczółkowski P, Ceppi C. Determinación de la evolución de madurez en las bayas y/o de su madurez de cosecha. En: Manual de vinificación. Guía práctica para la elaboración de vinos. Santiago: Ediciones UC, **2014**: 23.

Qiao X, Li N, An D, Pei H. CHN. Patent No. CN103284091A. Shandong: CHN. **2013**.

Qiu Z, Li N, Lu X, Zheng Z, Zhang M, Qiao X. Characterization of microbial community structure and metabolic potential using Illumina MiSeq platform during the black garlic processing. *Food Research International*. **2018**; 106:428-438.

Rahman K, Lowe GM. Garlic and cardiovascular disease: A critical review. Journal of Nutrition. **2006**; 136:736S-740S.

Rahman MS, Al-Farsi SA. Instrumental texture profile analysis (TPA) of date flesh as a function of moisture content. Journal of Food Engineering. **2005**; 66(4):505-511.

Ravindran PN. Garlic: *Allium sativum*. En: The Encyclopedia of Herbs and Spices. Oxford: CABI, **2017**: 383.

Ríos KL. Tesis publicada (Maestría en Ciencia y Tecnología de los Alimentos). Efecto de la aplicación de pretratamientos tecnológicos en la calidad del ajo negro. Querétaro: Universidad Autónoma de Querétaro, **2016**.

Ríos KL, Montilla A, Olano A, Villamiel M. Physicochemical changes and sensorial properties during black garlic elaboration: A review. Trends in Food Science & Technology. **2019**; 88:459-467.

Ríos KL, Vázquez ME, Gaytán M, Olano A, Montilla A, Villamiel M. 2-Furoylmethyl amino acids as indicators of Maillard reaction during the elaboration of black garlic. Food Chemistry. **2018**; 240:1106-1112.

Romero MP. El análisis sensorial de los alimentos en hostelería. En: Cata de los alimentos en hostelería. España: Editorial Elearning, **2015**: 219.

Romero R, Mestres J. Los tratamientos térmicos y su influencia sobre la composición de la leche. En: Productos lácteos. Tecnología. Barcelona: Universidad Politécnica de Catalunya, **2004**: 77.

Ryu JH, Kang D. Physicochemical Properties, Biological Activity, Health Benefits, and General Limitations of Aged Black Garlic: A Review. Molecules. **2017**; 22:1-14.

Ryu K, Ide N, Matsuura H, Itakura Y. N α -(1-deoxy-D-fructos-1-yl)-L-arginine, an antioxidant compound identified in aged garlic extract. Journal of Nutrition. **2001**; 131:972S-976S.

Sarria B. Efectos del tratamiento térmico de fórmulas infantiles y leche de vaca sobre la biodisponibilidad mineral y proteica. Madrid: Universidad Complutense de Madrid, **1998**.

Sato E, Kohno M, Hamano H, Niwano Y. Increased anti-oxidative potency of garlic by spontaneous short-term fermentation. Plant Foods for Human Nutrition. **2006a**; 61:157-160.

Sato E, Kohno M, Niwano Y. Increased level of tetrahydro- β -carboline derivatives in short-term fermented garlic. *Plant Foods for Human Nutrition*. **2006b**; 61:175-178.

Schaafsma G, Slavin JL. Significance of Inulin Fructans in the Human Diet. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. **2015**; 14:37-47.

Seo YJ, Gweon OC, Lee Y, Kang M, Kim J. Effect of garlic and aged black garlic on hyperglycemia and dyslipidemia in animal model of type 2 diabetes mellitus. *Journal of Food Science & Nutrition*. **2009**; 14:1-7.

Shin DY, Yoon MK, Choi YW, Gweon OC, Kim JI, Choi TH, Choi YH. Effects of aged black garlic extracts on the tight junction permeability and cell invasion in human gastric cancer cells. *Journal of Life Sciences*. **2010**; 20:528-534.

Shin JH, Choi DJ, Lee SJ, Cha JY, Kim JG, Sung NJ. Changes of physicochemical components and antioxidant activity of garlic during its processing. *Journal of Life Science*. **2008a**; 18:1123-1131.

Shin JH, Choi DJ, Lee SJ, Cha JY, Sung NJ. Antioxidant activity of black garlic (*Allium sativum* L.). *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*. **2008b**; 37:965-971.

Shin JH, Lee CW, Oh SJ, Yun J, Kang MR, Han SB, Park H, Jung JC, Chung YH, Kang JS. Hepatoprotective effect of aged black garlic extract in rodents. *Toxicological Research*. **2014**; 30:49-54.

SIAP. Anuario estadístico de la producción agrícola. Gobierno de México, 2020 [Consultado 2021 abril 26]. Disponible en: <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>

Simon PW, Jenderek MM. Flowering, Seed Production, and the Genesis of Garlic Breeding. *Plant Breeding Reviews*. **2010**: 211-244.

Skoog D. A., West D. M., Holler F. J. En: *Fundamentos de química analítica* (Cuarta ed.). Barcelona: Reverté, **2003**: 273.

Sook I, Sam H, Soon Y. Physicochemical and Antioxidant Properties of Black Garlic. *Molecules*. **2014**; 19:16811-16823.

Sosa MG, Delgado, VA. Propiedades funcionales y aplicaciones tecnológicas de fructanos. En: *Alimentos funcionales de hoy*. Barcelona: OmniaScience, **2016**: 101-102.

Soza B. Prevalence and antimicrobial susceptibility pattern of extended spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* isolated from urinary tract infection among infants and young children in Erbil City. ResearchGate, **2017** [Consultado 2020 febrero 10]. Disponible en: https://www.researchgate.net/figure/E-coli-colony-morphology-on-MacConkey-agar-plate-Presumptive-identification-of-E-coli_fig2_319130632

Stick RV, Williams SJ. Disaccharides, Oligosaccharides and Polysaccharides. En: Carbohydrates: The Essential Molecules of Life. Elsevier, **2009**: 333.

Suleria HA, Sadiq M, Muhammad F, Saeed F, Batool R, Nisar A. Aqueous garlic extract and its phytochemical profile; special reference to antioxidant status. International Journal of Food Science & Nutrition. **2012**; 63:431-439.

Sun Y, Wang W. Changes in nutritional and bio-functional compounds and antioxidant capacity during black garlic processing. Journal of Food Science and Technology. **2017**; 55:479-488.

Tchobanoglous G, Burton FL, Stensel HD. Wastewater engineering: Treatment and reuse. Nueva York: McGraw-Hill Education, **2003**.

Teunou E, Fitzpatrick JJ. Effect of relative humidity and temperature on food powder flowability. Journal of Food Engineering. **1999**; 42:109-116.

Toledano MA, Pérez J, Moreno A, Moreno R. Influence of Variety and Storage Time of Fresh Garlic on the Physicochemical and Antioxidant Properties of Black Garlic. Foods. **2019**; 8:314.

Toledano MA, Pérez J, Moreno R, Merinas T. Evolution of some physicochemical and antioxidant properties of black garlic whole bulbs and peeled cloves. Food Chemistry. **2016**; 199:135-139.

Torres JD, González KJ, Acevedo D. Análisis del perfil de textura en frutas, productos cárnicos y quesos. Revisiones de la Ciencia, Tecnología e Ingeniería de los Alimentos. **2015**; 14:64-75.

Tungland B. Nondigestible Fructans as Prebiotics. En: Human Microbiota in Health and Disease: Pathogenesis to Therapy. Academic Press, **2018**: 349.

USDA. National Nutrient Database for Standard Reference Legacy Release. Basic Report: 11215, Garlic, raw. **2018**. [Consultado 2019 febrero 4]. Disponible en: <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/11215>

Van den W. Multifunctional fructans and raffinose family oligosaccharides. *Frontiers in Plant Science*. **2013**; 4:1-11.

Villamiel M, García JV, Montilla A, Cárcel JA, Benedito J. Ultrasound effects on processes and reactions involving carbohydrates. En: *Ultrasound in Food Processing*. Chichester: John Wiley & Sons, **2017**: 439-440.

Virgili G. Plantas medicinales de uso popular y tradicional. En: *Guía medicinal y espiritual de plantas tropicales*. Samaná: Angels Fortune editions, **2017**: 684.

Wang X, Jiao F, Wang QW, Wang J, Yang K, Hu RR, Liu HC, Wang HY, Wang YS. Aged black garlic extract induces inhibition of gastric cancer cell growth in vitro and in vivo. *Molecular Medicine Reports*. **2012**; 5:66-72.

Watson RR, Preedy VR, Zibadi S. Inflammation and polyphenols. En: *Polyphenols in human health and disease*. London: Academic Press, **2014**: 612.

Welbaum GE. Family Amaryllidaceae, Subfamily Allioideae. En: *Vegetable production and practices*. Croydon: CABI, **2015**: 267.

Yang ST. Antioxidative activity of extracts of aged black garlic on oxidation of human low density lipoprotein. *Journal of Life Science*. **2007**; 17:1330-1335.

Yoo JM, Sok DE, Kim MR. Anti-allergic action of aged black garlic extract in rbl-2h3 cells and passive cutaneous anaphylaxis reaction in mice. *Journal of Medicinal Food*. **2014**; 17:92-102.

Yu AN, Li Y, Yang Y, Yu K. The browning kinetics of the non-enzymatic browning reaction in L-ascorbic acid/basic amino acid systems. *Food Science and Technology*. **2018**; 38(3):537-542.

Yuan H, Sun L, Chen M, Wang J. An analysis of the changes on intermediate products during the thermal processing of black garlic. *Food Chemistry*. **2018**; 239:56-61.

Zeng T, Zhang C, Zhao X, Xie K. The Roles of Garlic on the Lipid Parameters: A Systematic Review of the Literature. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. **2013**; 53:215-230.

Zhang X, Li N, Lu X, Liu P, Qiao X. Effects of temperature on the quality of black garlic. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. **2016**; 96:2366-2372.

Zumbado H. Aplicaciones experimentales de los métodos clásicos en el análisis de los alimentos. En: *Análisis químico de los alimentos: métodos clásicos*. La Habana: Editorial Universitaria, **2020**: 226.

Dirección General de Bibliotecas UAQ