



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**“ELABORACIÓN DE UN ANÁLOGO DE QUESO  
TIPO UNTABLE A PARTIR DE UN SUBPRODUCTO DE  
PULPA DE AGUACATE (*Persea americana* Mill.) Y  
PROTEÍNA DE CHÍCHARO (*Pisum sativum* L.)”**

**TESIS**

QUE COMO PARTE DE LOS REQUISITOS PARA OBTENER EL  
GRADO DE

**MAESTRO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

PRESENTA

QFB. RODRIGO ADRIÁN GONZÁLEZ LUGO

DIRIGIDA POR

Dra. MA. GUADALUPE FLAVIA LOARCA PIÑA

QUERÉTARO, QRO. 2021.



Universidad Autónoma de Querétaro  
Facultad de Química  
Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos

“ELABORACIÓN DE UN ANÁLOGO DE QUESO TIPO UNTABLE A PARTIR DE UN SUBPRODUCTO DE PULPA DE AGUACATE (*Persea americana* Mill.) Y PROTEÍNA DE CHÍCHARO (*Pisum sativum* L.)”

**Tesis**

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de Maestro en Ciencia y Tecnología de Alimentos

**Presenta:**

QFB. Rodrigo Adrián González Lugo

Dirigido por:

Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña

Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña  
Presidente

Dra. Marcela Gaytán Martínez  
Secretario

Dra. María de la Luz Reyes Vega  
Vocal

Dra. Rocio Campos Vega  
Suplente

Dra. Silvia Lorena Amaya Llano  
Suplente

Centro Universitario, Querétaro, Qro.  
2021  
México

**DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD DE ESTUDIANTE:**

*Declaro que los datos propios obtenidos en esta investigación fueron generados durante el desarrollo de mi trabajo de tesis de forma ética y que incluí los detalles metodológicos necesarios para que los resultados de esta tesis sean reproducibles en eventuales investigaciones futuras.*

*Este manuscrito de tesis es un trabajo original en el cual se declaró y dio reconocimiento a cualquier colaboración o cita textual presentadas en el documento.*



---

QFB. Rodrigo Adrián González Lugo

## **Agradecimientos**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada para la realización de mis estudios de maestría.

A la Universidad Autónoma de Querétaro (UAQ) que ha sido mi segundo hogar durante 10 años, en especial a la Facultad de Química y al PROPAC que me han dado todas las facilidades para crecer académicamente.

A la Dra. Ma Guadalupe Flavia Loarca Piña por aceptarme dentro de su grupo de trabajo, por su confianza y guía en el desarrollo de la presente investigación y sobre todo por sus grandes cualidades humanas presentadas conmigo y el resto de sus alumnos.

A la Dra. Marcela Gaytán Martínez por su guía y enseñanza en el desarrollo de nuevos productos, su accesibilidad y amabilidad inmensa.

A la Dra. Rocio Campos Vega por su guía en el desarrollo de productos nutracéuticos y funcionales y por pasión a la labor en academia.

Al personal docente y administrativo del PROPAC por su compromiso en el desarrollo académico y humanos de los alumnos.

A la química Saby por sus consejos y cariño durante todos estos años en la facultad.

A mi familia, mis padres y mis hermanas que siempre me han apoyado a través de la adversidad y han creído en mí.

A mi tía Chela que siempre me ha apoyado y querido como un hijo.

A mis amigos y compañeros de laboratorio: Adriana, Vanessa, Elisa, Diego, Fernanda, Abril, Liceth, Iván, Amanda, Ángel y todos los demás. Agradezco su ayuda, conocimientos y sobre todo su compañía durante mi estancia en el laboratorio de bioquímica toxicológica.

Agradezco mi hermana académica, Norma, por su apoyo y compañía durante esta increíble aventura.

Agradezco a mi generación de maestría, en especial a Joskua, Nayely y Lizbeth por su amistad al inicio y en los momentos más complicados.

Agradezco a todos mis amigos de licenciatura y de preparatoria. Joana, Gisela, Alejandro, Julio, Isaac, Ady, Lety, Arely, Gaby, Monse, Roxana, Charly, Chuy, Karina, Elena, Roberto, Belem, Cristell, Jordana, Daniela, Paulina, la Dra. Daniella, Amelia y todas las personas que gustosamente he podido tener como amigos en este viaje que es la vida.

Por último, quisiera agradecer especialmente a Selene, su presencia y posterior partida ha hecho de mí una persona totalmente diferente. Por cambiar mi vida en tantas maneras y ayudarme en mi búsqueda de propósito, por ser mi mejor amiga, por estar cuando ni yo quería estar, por enseñarme a valorar y por saber convertir en días buenos a los días malos. Porque no hay un día que no agradezca el conocerla. Porque espero que a pesar del tiempo y las circunstancias pueda volver a coincidir de alguna manera con tan hermoso ser humano que tendrá por siempre un pedacito de mi corazón.

## TABLA DE CONTENIDOS

1. INTRODUCCIÓN .....	9
2. ANTECEDENTES .....	10
2.1. Aguacate ( <i>Persea americana</i> Mill.) .....	10
2.2. Aprovechamiento de subproductos de la industria alimentaria y subproductos de aguacate.....	11
2.2.1. Subproductos en la industria alimentaria .....	11
2.2.2. Subproductos de aguacate .....	14
2.3. Compuestos bioactivos encontrados en los subproductos de aguacate ..	14
2.3.1. Compuestos bioactivos en semilla.....	14
2.3.1. Compuestos bioactivos en cáscara .....	15
2.3.2. Compuestos bioactivos en pulpa .....	15
2.4. Actividad biológica de los compuestos fenólicos y la fibra .....	20
2.4.1. Actividad biológica de los compuestos fenólicos .....	20
2.4.2. Actividad biológica de la fibra.....	21
2.5. Usos y propiedades de la proteína de chícharo ( <i>Pisum sativum</i> ) .....	22
2.6. Análogos de queso .....	23
3. JUSTIFICACIÓN.....	27
4. OBJETIVOS .....	28
4.1. GENERAL.....	28
4.2. ESPECÍFICOS.....	28
5. METODOLOGÍA.....	29
5.1. MATERIALES .....	29
5.1.1. Compuestos Químicos.....	29
5.1.2. Materia Prima.....	29
5.2. MÉTODOS.....	30
5.2.1. Obtención del subproducto de la pulpa desgrasada de aguacate .....	30
5.2.2. Caracterización química .....	30
5.2.3. Caracterización nutracéutica .....	34

5.2.4.	Formulación del análogo de queso.....	40
5.2.5.	Análisis fisicoquímico.....	40
5.2.6.	Análisis estadístico .....	41
6.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	42
6.1.	Obtención del SUPA.....	42
6.2.	Pruebas preliminares.....	43
6.3.	Formulación y elaboración del análogo de queso.....	43
6.4.	Composición química.....	44
6.4.1.	Digestibilidad de proteínas <i>In vitro</i> .....	45
6.4.2.	Contenido de calcio .....	47
6.5.	Composición nutracéutica del Análogo de queso.....	48
6.5.1.	Fibra dietaria y almidón.....	48
6.5.2.	Contenido de compuestos fenólicos totales.....	50
6.5.3.	Perfil de compuestos fenólicos por HPLC-DAD.....	51
6.6.	Propiedades fisicoquímicas del SUPA.....	53
6.7.	Análisis reológico del análogo de queso tipo untable .....	54
7.	CONCLUSIONES.....	58
8.	REFERENCIAS.....	58

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Origen de diversos residuos alimenticios y compuestos bioactivos de interés para su recuperación.....	13
Tabla 2. Composición nutricional y fisicoquímica de la pulpa aguacate ( <i>Persea americana</i> ) por cada 100 g de peso en fresco.....	16
Tabla 3. Compuestos polares encontrados en pulpa de aguacate por medio del uso de HPLC-DAD-qTOF-MS.....	19
Tabla 4. Resultados preliminares de formulación.....	43
Tabla 5. Comparación de la composición química del aguacate Hass, el SUPA y el análogo de queso tipo untable.....	45
Tabla 6. Contenido de fibra dietaria total, soluble e insoluble en pulpa de aguacate Hass, SUPA, APC y el análogo de queso.....	49
Tabla 7. Contenido de almidón total, disponible y resistente el análogo de queso. ....	50
Tabla 8. Perfil de compuestos fenólicos del SUPA y el análogo de queso. ....	52
Tabla 9. Propiedades físico química del SUPA.....	54

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Proporción de las partes del fruto de <i>Persea americana</i> Mill.....	10
Figura 2. Porcentajes de pérdidas y desperdicios de alimentos anualmente .....	12
Figura 3. Diagrama de flujo para la obtención de aceite de aguacate extravirgen de la pulpa de aguacate y una pasta baja en calorías .....	18
Figura 4. Propiedades funcionales requeridas en análogos de queso.....	26
Figura 5. a) aceite de aguacate obtenido por tratamiento en microondas y posteriormente centrifugación, b) subproducto de la pasta de aguacate (pasta sin aceite), c) análogo de queso elaborado con subproducto de aguacate y proteína de chícharo. ....	42
Figura 6. Formulación del análogo de queso.....	44
Figura 7. Digestibilidad de proteínas <i>In vitro</i> . ....	47
Figura 8. Contenido de compuestos fenólicos de aguacate Hass, SUPA, APC y el análogo de queso. ....	51
Figura 9. Región viscoelástica lineal para un queso tipo untable comercial, tofu y el análogo de queso tipo untable. ....	56
Figura 10. Barrido de frecuencia para un queso tipo untable comercial, tofu y el análogo de queso tipo untable a) modulo elástico (G') y b) modulo viscoso (G'')..	57

## RESUMEN

México es el principal productor de aguacate (*Persea americana* Mill.) a nivel mundial, con exportaciones de cerca de un millón de toneladas cada año. Uno de los principales usos industriales para el aguacate es la producción de aceite, el cual posee un alto valor agregado para la industria farmacéutica y la alimenticia. Sin embargo, durante el proceso de extracción del aceite, entre el 21-30% del fruto entero es descartado como un residuo sin valor, donde la pulpa desgrasada del aguacate representa del 14-19% de tales residuos. Esta pulpa es considerada un subproducto rico en compuestos tales como fibra dietaria total, compuestos fenólicos, carbohidratos y proteínas. El potencial nutracéutico de la pulpa desgrasada de aguacate podría ser considerado para la elaboración de productos alimenticios de valor agregado que puedan sustituir a productos de origen animal, tales como los análogos de productos lácteos. Además, este tipo de análogos podrían enriquecer la disponibilidad comercial de productos orientados a las dietas basadas en plantas. El objetivo de este trabajo fue desarrollar un análogo de queso tipo untable formulado con pulpa desgrasada de aguacate y aislado proteico de chícharo (*Pisum sativum* L.), entre otros ingredientes. Las evaluaciones químicas y nutracéuticas del producto obtenido fueron realizadas. Como resultado, hasta donde se ha revisado en la literatura, es la primera vez que es elaborado un análogo de queso tipo untable usando pulpa desgrasada de aguacate y aislado proteico de chícharo como principales componentes. El contenido energético del producto (102 kcal/100 g), proteína (13.0%), carbohidratos disponibles (7.5%) y fibra dietaria total (21.5%) junto con la alta digestibilidad *In vitro* de las proteínas (83.9%), así como sus propiedades reológicas, sugieren que este análogo de queso puede considerarse una alternativa nutracéutica para el mercado de análogos de queso y las dietas basadas en plantas.

**Palabras clave:** aguacate (*Persea americana* Mill.), análogo de queso tipo untable, proteína de chícharo (*Pisum sativum* L.).

## ABSTRACT

Mexico is the main avocado (*Persea americana* Mill.) producer worldwide, exporting around one million tons every year. One of the main industrial uses for avocado is oil production, which has a high value for pharmaceutical and food industries. However, during the oil extraction process, about 21-30% of the whole fruit is discarded as a non-value residue, whereas defatted avocado pulp represents 14–19% of such residues. This pulp is considered a byproduct rich in compounds such as total dietary fiber, phenolic compounds, carbohydrates, and proteins. The nutraceutical potential of the defatted avocado pulp might be considered for the manufacturing of added-value food products to substitute those traditionally made from animal sources such as dairy products. In addition, this kind of analogs might enrich the commercial availability of products oriented to plant-based diets. The objective of this work was to develop a cheese spread analogue using a defatted avocado pulp added with pea (*Pisum sativum* L.) protein isolate, among other ingredients. The chemical and nutraceutical characterization of this product was evaluated. For first time, it was developed a cheese spread analogue made with defatted avocado pulp and pea protein as principal components. The product contents of energy (102 kcal/100 g), protein (13.0%), available carbohydrates (7.5%), and total dietary fiber (21.5%) joined to the high *In vitro* protein digestibility (83.9%), and its rheologic properties suggest to this cheese analogue as a nutraceutical alternative for both plant-based diets and the cheese analogue market.

**Key words:** avocado (*Persea americana* Mill.), cheese spread analogue, pea (*Pisum sativum* L.) protein.

## 1. INTRODUCCIÓN

México es el principal productor de aguacate (*Persea americana* Mill.) a nivel mundial. Siendo este fruto el 2° lugar en exportación agroalimentaria en el país. Debido a su contenido nutricional, el aguacate es usado como ingrediente en la preparación de una amplia variedad de alimentos. Entre los componentes más importantes de la parte comestible del fruto (pulpa) se encuentran la fibra, compuestos fenólicos, carotenoides, ácidos grasos poliinsaturados y vitaminas, entre otros (Dreher & Davenport, 2013). El aceite, es extraído y usado por la industria cosmética y farmacéutica, sin embargo, durante el proceso de obtención del aceite, se desecha del 21 al 30% del total del fruto que podría ser utilizado para generar productos con un valor agregado con potencial nutrimental y/o nutracéutico, así como ofrecer una alternativa a los veganos (Wang *et al.*, 2010; Rodríguez-Carpena *et al.*, 2011). Incluso, la Organización de Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO/2017, por sus siglas en inglés), ha manifestado su preocupación por la alta cantidad de residuos o subproductos generados por la industria alimentaria. Por lo cual, ha propuesto estrategias para la reducción de éstos, como lo son el uso de procesos industriales más efectivos y el aprovechamiento de los subproductos.

Así mismo, recientemente existe una tendencia en el consumo de productos libres de ingredientes derivados de origen animal. Entre éstos, los más buscados y consumidos son los sustitutos de productos cárnicos y lácteos. Por esta razón, se propone elaborar un análogo de queso tipo untable a partir del subproducto de aguacate rico en ácidos grasos poliinsaturados (SARAGP) y del aislado proteico de chícharo (*Pisum sativum* L.). Así pues, el SARAGAP recibe un valor agregado y se obtiene un producto rico en nutrientes que puede satisfacer a un sector creciente de la población.

Como parte del desarrollo de este producto se evaluarán las propiedades químicas, nutracéuticas y sensoriales.

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1. Aguacate (*Persea americana* Mill.)

En México, el aguacate ocupa el 2° lugar en exportación agroalimentaria. Este país es el principal proveedor del mercado internacional, con una aportación de 45.95% del valor de las exportaciones mundiales. En cuanto a cultivo, en México se cuenta con una superficie de 94,904 hectáreas. Siendo el estado de Michoacán el productor del 82.7% del fruto en el país. El 54.1% del aguacate producido se destina al mercado nacional; mientras su exportación hacia los mercados como el de Estados Unidos es promovido, logrando un consumo de hasta 100,000 toneladas en el evento del súper tazón (Herrera-Basurto *et al*, 2008; SAGARPA, 2017).

El fruto es la baya de una semilla oval, de superficie lisa o rugosa, con un peso que varía de los 120 a los 150 g. Es de color verdoso y piel fina o gruesa. Cuando está maduro, la pulpa tiene una consistencia como de mantequilla dura y su sabor recuerda levemente al de la nuez. La semilla y la piel de aguacate representan aproximadamente el 33% del peso total de la fruta entera, mientras que la semilla representa del 15 al 16% del peso total del fruto, como se muestra en la Figura 1 (Ceballos & Montoya, 2013; Dreher & Davenport, 2013; SAGARPA, 2017).

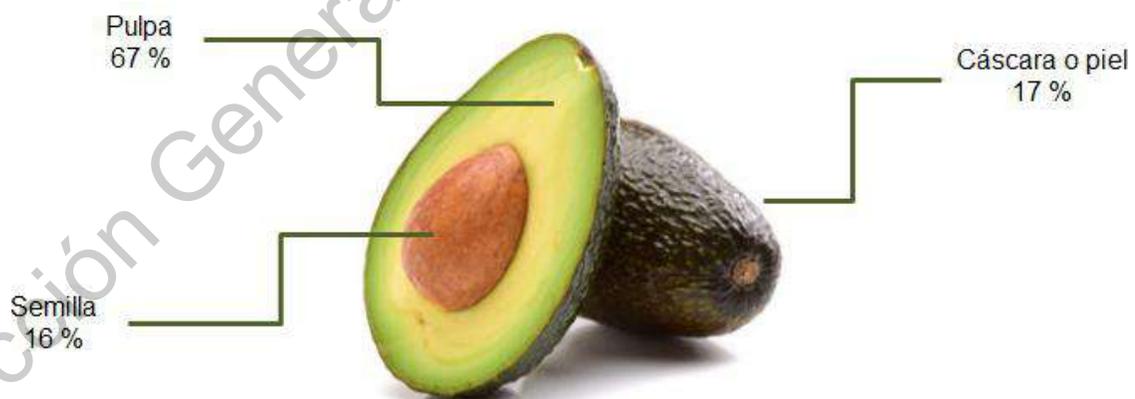


Figura 1. Proporción de las partes del fruto de *Persea americana* Mill. (Dreher & Davenport, 2013; SAGARPA, 2017).

Este fruto posee del 1 al 3% en peso de proteínas y del 12 al 24% de lípidos con un contenido en aceite de 10 a 20%. Debido a su contenido nutricional, se utiliza como complemento de todo tipo de comidas. Además, de él pueden extraerse aceites que, una vez procesados, son utilizados en la nutrición humana y en las industrias cosmética y farmacéutica. Asimismo, de dicho proceso se obtienen subproductos como la pulpa reducida en ácidos grasos, la cáscara y la semilla (Santana *et al*, 2015; SAGARPA, 2017).

## 2.2. Aprovechamiento de subproductos de la industria alimentaria y subproductos de aguacate

### 2.2.1. Subproductos en la industria alimentaria

Alrededor de 4,000 millones de toneladas de alimento para consumo humano son producidas anualmente en el mundo, de éstas, se pierde o desperdicia un tercio aproximadamente. Las tasas más altas de desperdicio se concentran en los grupos de frutas y hortalizas y en el de raíces y tubérculos (Figura 2). La pérdida económica generada por el desperdicio de alimentos asciende aproximadamente a 680,000 millones de dólares en los países industrializados y a 310,000 millones de dólares en los países en desarrollo (FAO, 2017a).

Por otro lado, el desperdicio de alimentos, puede proporcionar condiciones de cultivo para los organismos causantes de enfermedades. Lo cual plantea serios problemas ambientales difíciles de enfrentar. Si bien, se pueden tomar medidas preventivas para reducir la generación de desperdicio de alimentos, es importante aprovechar los existentes. Otro factor a considerar es que la población mundial aumenta de manera exponencial cada año. Según estimaciones de la Organización de Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO, por sus siglas en inglés), la demanda de alimentos crecerá en un 70 % para el año 2050 (Ravindran & Jaiswal, 2016; FAO, 2017b; FAO, 2017c).

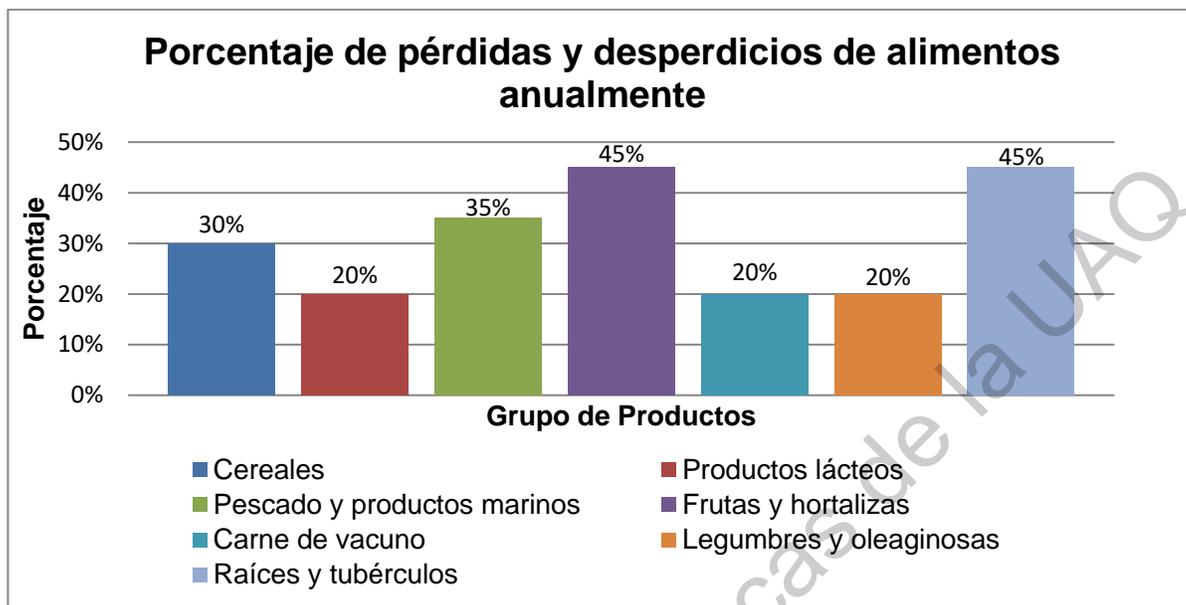


Figura 2. Porcentajes de pérdidas y desperdicios de alimentos anualmente (FAO, 2017a).

Los desperdicios o subproductos se generan durante las etapas de recolección de materia prima y preparación de productos alimenticios derivados. Miles de toneladas de subproductos constituidos por: pieles, cáscaras, semillas, hojas, huesos o fracciones no comestibles son desechadas debido a sus características sensoriales no deseables (Pérez-Jiménez & Viuda-Martos, 2015). Durante mucho tiempo, estos residuos se han utilizado para actividades de bajo valor agregado. Sin embargo, durante los últimos años, se han propuesto nuevas alternativas para su uso, atribuido a que son un reservorio de: carbohidratos complejos, proteínas, lípidos y otros agentes con propiedades biológicas. Además, pueden formar parte de materias primas para metabolitos comercialmente importantes (Pérez-Jiménez & Viuda-Martos, 2015; Ravindran & Jaiswal, 2016).

En los últimos años, un número creciente de artículos describen el perfil de compuestos bioactivos en muchos de estos subproductos (Tabla 1). Sin embargo, para usarlos de manera efectiva en el desarrollo de nuevos alimentos funcionales es necesario evaluar si su perfil de compuestos bioactivos tiene efectos benéficos

tanto *in vitro* como *in vivo*. Después, se debe determinar si realmente éstos pueden ser incorporados en diferentes matrices alimentarias, resolviendo así, aspectos tecnológicos y sensoriales (Pérez-Jiménez & Viuda-Martos, 2015; Ravindran & Jaiswal, 2016).

Tabla 1. Origen de diversos residuos alimenticios y compuestos bioactivos de interés para su recuperación.

Origen del residuo	Fuente	Compuestos bioactivos de interés
<b>Cereales</b>	Arroz integral	Fibra dietética insoluble
	Cáscara de sésamo	Fibra dietética insoluble
	Trigo integral	Fructanos
	Avena molida	Antioxidantes
	Grano gastado cervecero	Ácido ferúlico
<b>Cultivo de oleaginosas</b>	Residuos de aceite de oliva	Pectina y fenoles
	Residuos de canola de invierno	Fitoesterol
	Semillas de melón Kalahari	Fitoesterol
	Residuo de suero de soya	Isoflavona aglicona
<b>Frutas y vegetales</b>	Cáscara de naranja	Apocarotenoides y limoneno
	Hueso de albaricoque	Aislado de proteínas
	Pulpa de manzana	Polifenoles
	Pulpa de tomate	Licopeno
	Cáscara de tomate	Carotenoides
<b>Cárnicos</b>	Subproductos de pollo	Proteínas
	Subproductos de matadero	Colágeno
<b>Pescado y productos marinos</b>	Sobras de pescado	Hidrolizados de proteína de pescado
	Caparazones de camarón y cangrejo	Quitina y pigmentos carotenoides
<b>Productos lácteos</b>	Suero de queso	Lactoalbúmina

(Ravindran & Jaiswal, 2016).

### 2.2.2. Subproductos de aguacate

Cuando la pulpa de aguacate es procesada por la industria del aceite, los aceites esenciales, las semillas, la cáscara y el residuo de pulpa son desechados. Esto resulta en una gran cantidad de residuos sólidos que representan del 21 al 30% del total de la fruta, de los cuales del 14 al 19% corresponden a la pulpa del aguacate (Wang *et al.*, 2010; Rodríguez-Carpena *et al.*, 2011). Por lo tanto, resulta interesante el reutilizar estos subproductos tanto para reducir su impacto negativo en el medio ambiente como para darles un valor agregado, ya que son fuentes de compuestos con propiedades biológicas (Araújo *et al.*, 2018). Entre los constituyentes más importantes del residuo de la pulpa de aguacate se encuentra la fibra total (43.4 g/100 g) (Naveh *et al.*, 2002). Cabe mencionar que la composición química de los residuos de aguacate varía entre cultivos, e incluso, a veces dentro de un mismo cultivo. Este fenómeno es normal debido a la influencia de varios factores que ocurren durante la producción de la fruta como lo son el clima, la latitud, la precipitación, el tipo de suelo, la genética, etc. (Araújo *et al.*, 2018; Tremocoldi *et al.*, 2018).

### 2.3. Compuestos bioactivos encontrados en los subproductos de aguacate

#### 2.3.1. Compuestos bioactivos en semilla

La mayoría de las propiedades biológicas del aguacate están asociadas a las semillas. No obstante, se ha reportado que los extractos etanólicos de semilla de aguacate generan toxicidad aguda en ratones a concentraciones iguales o mayores a 500 mg/kg, teniendo una tasa de mortalidad del 20% y de hasta 80% para dosis de 2000 mg/kg, la dosis letal 50 (DL<sub>50</sub>) calculada en ratones para este extracto resultó en un valor de 1200.75 mg/kg. Aunque, este tipo de extracto no provoca genotoxicidad en ratones cuando se les administraron dosis de 250 mg/kg (Padilla-Camberos *et al.*, 2013).

Por otro lado, se ha reportado que las semillas de aguacate contienen una gran cantidad de compuestos fenólicos como lo son los polifenoles, taninos, catequinas,

ácidos hidroxibenzoicos, ácidos hidroxicinámicos, flavonoles y procianidinas. Estas últimas son las más abundantes. En el caso de la semilla, en la fruta inmadura, se le atribuyen propiedades antioxidantes y antibacteriales debido a los compuestos fenólicos (Chia & Dykes, 2010; Figueroa *et al.*, 2018). Otros componentes importantes encontrados en la semilla son el almidón (usado en la industria de alimentos y en producción de biocombustibles) y la fibra (dietética y cruda) (Kosińska *et al.*, 2012; Araújo *et al.*, 2018; Tremocoldi *et al.*, 2018).

### 2.3.1. Compuestos bioactivos en cáscara

Al igual que la semilla, la cáscara de aguacate posee propiedades antioxidantes. Un estudio reciente demostró que la cantidad de polifenoles en la cáscara es mayor que en la semilla, lo cual significa que la cáscara podría tener un mayor poder antioxidante y antibacterial (Melgar *et al.*, 2018). Los grupos principales de compuestos encontrados son las procianidinas, los flavonoles y los ácidos hidroxibenzoicos. Igualmente, se ha encontrado una cantidad considerable de carotenoides en la cáscara fresca (Ayala-Zavala *et al.*, 2011; Kosińska *et al.*, 2012).

### 2.3.2. Compuestos bioactivos en pulpa

La pulpa de aguacate contiene cantidades mayores de fibras solubles e insolubles (30 y 70 %, respectivamente) y proteínas que muchos otros frutos, así como azúcares, incluyendo a la sucrosa y carbohidratos de 7 carbonos como: D-manoheptulosa; pigmentos, taninos, polifenoles, vitamina A, vitamina B, vitamina C, vitamina E, fitoestrógenos y perseitol (López-Cobo *et al.*, 2016; Hurtado-Fernández, *et al.*, 2018). Se ha reportado que la composición nutricional de la pulpa intacta de aguacate tiene un contenido de humedad de 67 a 78%, lípidos de 12 a 24%, carbohidratos de 0.8 a 4.8%, proteínas de 1.0 a 3.0% (superior al de la mayoría de las frutas que suelen tener alrededor de 1%), contenido de cenizas de 0.8 a 1.5%, fibra de 1.4 a 3.0% (Fonseca-Duarte *et al.*, 2016; Araújo *et al.*, 2018). Cabe destacar que es la fruta con el contenido en fibra más alto de las cuales se encuentran fibras insolubles (celulosa, y lignina) y solubles (hemicelulosa y pectina) y con un contenido energético de 140 a 228 kcal por aguacate (Naveh *et al.*, 2002; Araújo *et*

al., 2018). En la Tabla 2 se muestra la composición nutricional y fisicoquímica de la pulpa de aguacate.

Tabla 2. Composición nutricional y fisicoquímica de la pulpa aguacate (*Persea americana*) por cada 100 g de peso en fresco.

Nutriente/Parámetro fisicoquímico		Valor
<b>Proximales</b>	Agua (g)	72.3
	Energía (kcal)	167
	Energía (kcal) (fibra insoluble ajustada)	148
	Proteína (g)	1.96
	Lípidos totales (g)	15.4
	Ceniza (g)	1.66
	Carbohidratos, por diferencia (g)	8.64
	Fibra dietética total (g)	6.80
	Azúcares totales (g)	0.30
	Almidón (g)	0.11
<b>Minerales</b>	Calcio (mg)	13.0
	Hierro (mg)	0.61
	Magnesio (mg)	29.0
	Fósforo (mg)	54.0
	Potasio (mg)	507
	Sodio (mg)	8.0
	Zinc (mg)	0.68
	Cobre (mg)	0.17
	Manganeso (mg)	0.15
Selenio (µg)	0.40	
<b>Lípidos</b>	Total de ácidos grasos saturados (g)	2.13
	16:0 (g)	2.08
	Total de ácidos grasos monoinsaturados (g)	9.80
	18:1 (g)	9.07
	Total de ácidos grasos poliinsaturados (g)	1.82
	18:2 (g)	1.67
	18:3 (g)	0.13
	Colesterol (mg)	0
	Estigmasterol (mg)	2.0
Campesterol (mg)	5.0	
Beta-sitosterol (mg)	76.0	

(Continúa)

Tabla 2 (Continuación). Composición nutricional y fisicoquímica de la pulpa aguacate (*Persea americana*) por cada 100 g de peso en fresco.

Nutriente/Parámetro fisicoquímico		Valor
<b>Vitaminas y Compuestos fitoquímicos</b>	Vitamina C (mg)	8.80
	Tiamina (mg)	0.08
	Riboflavina (mg)	0.14
	Niacina (mg)	1.91
	Ácido pantoténico (mg)	1.46
	Vitamina B-6 (mg)	0.29
	Folato alimenticio (µg)	89.0
	Total de colina (mg)	14.2
	Betaína (mg)	0.7
	Vitamina B-12 (µg)	0.0
	Vitamina A (µg equivalentes a ác. retinoico)	7.0
	Beta caroteno (µg)	63.0
	Alfa caroteno (µg)	24.0
	Beta criptoxantina (µg)	27.0
	Luteína + zeaxantina (µg)	271
	Vitamina E o alfa tocoferol (mg)	1.97
	Beta tocoferol (mg)	0.04
	Gamma tocofenol	0.32
	Delta tocoferol	0.02
	Vitamina K <sub>1</sub> (filoquinona) (µg)	21.0

(Dreher & Davenport, 2013).

En 2006, Dorantes-Álvarez & Ortiz-Moreno patentaron un método para la obtención de aceite extravirgen de la pulpa de aguacate que no requiere del uso de solventes y/o reactivos químicos, evita la producción de aguas residuales con alta demanda de oxígeno y optimiza el gasto de energía. En la Figura 3 se muestra el diagrama de flujo para la obtención de aceite de aguacate extravirgen de la pulpa de aguacate y una pasta baja en calorías. La metodología consiste en la sanitización de los aguacates, la separación de la pulpa, de las cáscaras y semillas, el tratamiento de la pulpa con microondas, la expresión de la pulpa tratada en una unidad prensadora tipo tornillo, el enfriamiento del fluido resultante, la centrifugación del fluido y la deshidratación de la pasta residual con microondas. En el proceso de extracción de aceite de aguacate se recupera del 21.0 al 30.0% del fruto como semilla, cáscara y

pulpa reducida en lípidos. La pasta residual o residuo de pulpa obtenido por esta metodología es de grado alimenticio y presenta una baja humedad, no requiere refrigeración y es estable al calor. Además, posee un enorme potencial como materia prima en la industria de los alimentos entre otras posibles aplicaciones, esto debido a que se compone de un 12.0 a 15.0% de humedad, 5.0 a 17.4% de aceite, 5.3 a 4.8% de cenizas, 2.6 a 2.5% de fibra dietética, de 65.9 a 55.9% de carbohidratos y es una fuente de compuestos antioxidantes como lo son los compuestos fenólicos (Dorantes-Álvarez & Ortiz-Moreno, 2006; Santos & Pagno, 2016; Araújo *et al.*, 2018).

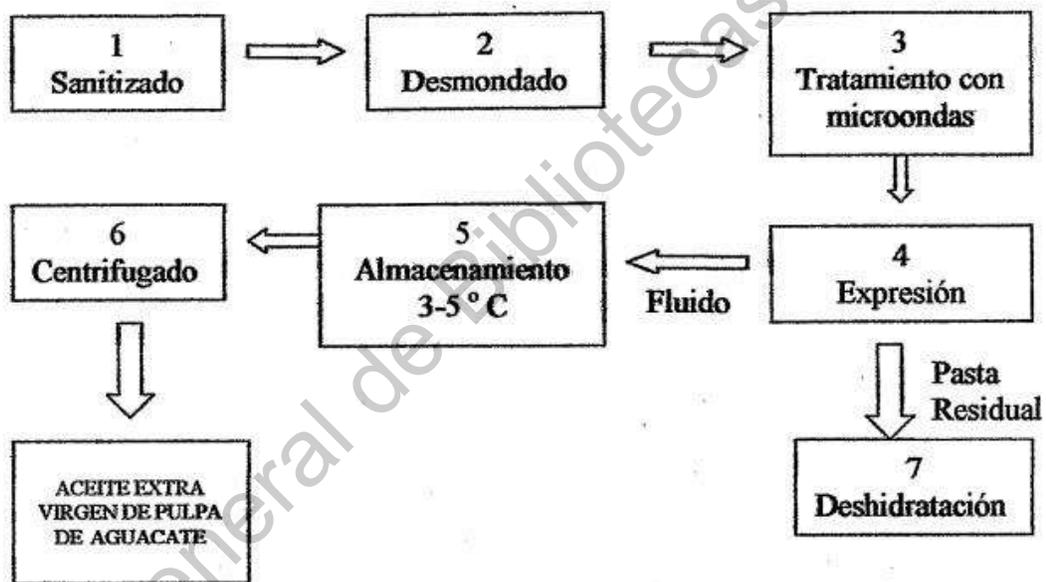


Figura 3. Diagrama de flujo para la obtención de aceite de aguacate extravirgen de la pulpa de aguacate y una pasta baja en calorías (Dorantes-Álvarez & Ortiz-Moreno, 2006).

En un estudio realizado por López-Cobo *et al.* (2016), se extrajeron y determinaron los compuestos fenólicos y otros compuestos polares de subproductos de aguacate mediante el uso de HPLC-DAD-qTOF-MS, en dicho estudio, un total de 23 compuestos provenientes de la pulpa fueron tentativamente identificados, los

compuestos se muestran en la Tabla 3. Estos pertenecen a varios tipos de metabolitos que incluyeron ácidos orgánicos, aminoácidos, azúcares, nucleósidos, ácidos fenólicos, alcoholes fenólicos e iridoides (López-Cobo *et al.*, 2016).

Tabla 3. Compuestos polares encontrados en pulpa de aguacate por medio del uso de HPLC-DAD-qTOF-MS.

Compuesto	Fórmula molecular	Compuesto	Fórmula molecular
Perseitol	C <sub>7</sub> H <sub>16</sub> O <sub>7</sub>	Glucósido de ácido <i>p</i> -cumárico isómero I	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> O <sub>8</sub>
Ácido quínico	C <sub>7</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	Glucósido de ácido ferúlico	C <sub>16</sub> H <sub>20</sub> O <sub>9</sub>
Ácido cítrico	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub>	Rutinósido de ácido <i>p</i> -cumárico	C <sub>21</sub> H <sub>28</sub> O <sub>12</sub>
Ácido succínico	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub>	Glucósido de ácido ferúlico isómero I	C <sub>16</sub> H <sub>20</sub> O <sub>9</sub>
Uridina	C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O	Galato de octilo	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> O <sub>5</sub>
Ácido 4-glucósido protocatecuico	C <sub>13</sub> H <sub>16</sub> O <sub>9</sub>	Ácido 3-ferulonil-quínico	C <sub>17</sub> H <sub>20</sub> O <sub>9</sub>
Penstemida	C <sub>21</sub> H <sub>32</sub> O <sub>10</sub>	Ácido cumárico	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>
Ácido sinápico -C-hexosido	C <sub>17</sub> H <sub>22</sub> O <sub>10</sub>	Ácido 4-ferulonil-quínico	C <sub>17</sub> H <sub>20</sub> O <sub>9</sub>
Glucósidos de ácido cafeico	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	Ácido 5-ferulonil-quínico	C <sub>17</sub> H <sub>20</sub> O <sub>9</sub>
Penstemida isómero I	C <sub>21</sub> H <sub>32</sub> O <sub>10</sub>	Agoniadina	C <sub>21</sub> H <sub>26</sub> O <sub>12</sub>
Pentósido-hexosido-tirosol	C <sub>19</sub> H <sub>28</sub> O <sub>11</sub>	Glucósido de ácido <i>p</i> -cumárico	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> O <sub>8</sub>
Hexósido-pentósido de ácido <i>p</i> -cumárico	C <sub>20</sub> H <sub>26</sub> O <sub>12</sub>	—	

(López-Cobo *et al.*, 2016).

## 2.4. Actividad biológica de los compuestos fenólicos y la fibra

### 2.4.1. Actividad biológica de los compuestos fenólicos

El estrés oxidativo es causado en células y tejidos por una alta concentración de radicales libres. Éstos pueden ser inducidos por varios factores negativos, tales como: estrés psico-emocional, alimentos contaminados, condiciones ambientales adversas, esfuerzo físico intensivo; adicción al tabaco, alcohol y drogas, además de radiaciones gamma, rayos UV y rayos X (Yashin *et al*, 2017). La existencia de radicales libres, tales como el superóxido ( $O_2^-$ ), hidroxilo ( $OH^*$ ) y peroxilo ( $ROO^*$ ); en grandes cantidades son un problema para la salud humana debido a que los electrones no apareados de éstos son especies altamente reactivas que causan daño celular (Phaniendra *et al.*, 2015). Éstas pueden causar severas enfermedades crónicas degenerativas no transmisibles como: dislipidemias, sobre peso, obesidad, cáncer, enfermedades cardiovasculares y enfermedades neurodegenerativas. La manera más efectiva de neutralizar y/o reducir los radicales libres es a través de antioxidantes (Antasionasti *et al*, 2017).

Las propiedades farmacológicas, medicinales y bioquímicas de los compuestos fenólicos han sido revisadas extenuantemente. Se ha reportado que éstos tienen actividad antioxidante, vasodilatadora, anticarcinogénica, antiinflamatoria, inmunestimulante, antialérgica, antiviral y poseen efectos estrogénicos. Además, pueden actuar como inhibidores de fosfolipasa  $A_2$ , ciclooxigenasa, lipoxigenasa, glutatión reductasa y de las enzimas del grupo xantina oxidasa (Leopoldini *et al*, 2011). La propiedad mejor descrita de los compuestos fenólicos es la capacidad antioxidante, con la que juegan un papel importante en el mantenimiento del balance oxidativo del cuerpo. Estos compuestos dotan de una protección adicional contra los oxidantes, reacciones oxidativas y especies reactivas de oxígeno. Asimismo, son capaces de fortalecer el potencial de otros compuestos, bloquear efectos de algunos constituyentes y promover la adquisición de otras propiedades biológicas (Kala *et al*, 2016; Shahidi & Yeo, 2018).

Los polifenoles secuestran los radicales libres y reaccionan con las especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés), para inactivarlas. Los flavonoides, además, inhiben a la sintasa de óxido nítrico que es la responsable de generar óxido nítrico. El cual, es un radical que puede reaccionar con otros radicales libres para generar especies muy reactivas de peroxinitrito (Shahidi & Yeo, 2018).

#### 2.4.2. Actividad biológica de la fibra

La ingesta de fibra dietética provee muchos beneficios a la salud como: reducir el riesgo de desarrollar enfermedad coronaria, infartos, hipertensión, diabetes, obesidad y ciertos desórdenes gastrointestinales (Prasad & Bondy, 2018). Además, el incremento en el consumo de fibra dietética mejora las concentraciones lipídicas en suero y mejora el control de glucosa en diabéticos (Anderson *et al.*, 2009).

El consumo de aguacate puede ayudar a alcanzar la ingesta recomendada de 14 g de fibra dietética por cada 1000 kcal consumidas, ya que aproximadamente un tercio de esta cantidad de fibra puede alcanzarse consumiendo la mitad de un aguacate, la cual aporta aproximadamente 4.60 g (Dreher & Davenport, 2013).

Debido a sus propiedades fisicoquímicas y características indigestibles, la fibra dietética afecta directamente el tracto digestivo con otras consecuencias indirectas sistemáticas y fisiológicas. La fibra dietética impone modificaciones positivas en la viscosidad, movilidad, absorción de nutrientes, contenido, tiempo de tránsito, vaciamiento y las propiedades probióticas de todo el tracto digestivo. Estas modificaciones pueden aliviar el estreñimiento, reducir la absorción de grasas, disminuir el índice glucémico y los niveles de insulina en plasma; altera la fermentación en colon y la proliferación microbiana (Naveh *et al.*, 2002).

Sin embargo, según una revisión de Palafox-Carlos (2011), la biodisponibilidad limitada de los antioxidantes presentes en alimentos provenientes de matrices de frutas y vegetales está determinada por su baja bioaccesibilidad en el intestino

delgado debido a las interacciones físicas y químicas de los antioxidantes con los polisacáridos indigeribles de las paredes celulares del alimento. Incluso, si son liberados durante el procesamiento y la digestión, los antioxidantes pueden interactuar con otros componentes alimenticios en el intestino por el enlazamiento a macromoléculas tales como la fibra y por la formación de complejos químicos y estructuras coloidales que reducen o mejoran su biodisponibilidad.

Por otro lado, la revisión de Saura-Calixto, (2011) menciona que se ha demostrado tanto *in vitro* como *in vivo* que los polifenoles asociados a la fibra dietética son biodisponibles en el intestino grueso como metabolitos de la fermentación colónica y como polifenoles libres no fermentados. Además, la asociación de polifenoles a la fibra dietética corresponde a aproximadamente el 50% del total de antioxidantes de la dieta. El transporte de éstos a través del tracto gastrointestinal y la producción de metabolitos antioxidantes en el colón parecen ser funciones fisiológicas esenciales de la fibra dietética.

#### 2.5. Usos y propiedades de la proteína de chícharo (*Pisum sativum*)

El chícharo (*Pisum sativum*) es una leguminosa altamente consumida en diferentes partes del mundo debido a sus compuestos nutricionales (Muneer *et al.*, 2018). Las semillas de chícharo están compuestas por 20%: de proteínas, 35% de carbohidratos, 27% de fibra dietética y una baja cantidad de lípidos (Boulter, 1983). El chícharo puede ser un sustituto importante de la proteína de la carne (Sun & Arntfield, 2011). Se ha reportado que las proteínas de las leguminosas tienen alto contenido de lisina el cual es un aminoácido esencial por lo que las leguminosas son consideradas nutricionalmente aptas (Duranti, 2006).

La digestibilidad de proteínas puede usarse como indicador de la disponibilidad de las proteínas, es decir, cuan eficientemente el cuerpo utiliza las proteínas consumidas en la dieta. Esencialmente la digestibilidad es una medida de la proteólisis. De este modo, una proteína con una digestibilidad alta es potencialmente de mejor valor nutricional que una de digestibilidad baja porque

provee de más aminoácidos esenciales que pueden ser absorbidos (Hoffman & Falvo, 2004). En el caso del aislado proteico de chícharo presenta una digestibilidad *in vitro* del 93%.

Por otra parte, en años recientes se han realizado investigaciones relacionadas con la proteína de esta leguminosa, tales como el uso de la técnica de electrohilado para producir fibras de grado alimenticio a partir de proteína de chícharo y polulano, las cuales muestran ser prometedoras para preparar películas comestibles con compuestos bioactivos y para el desarrollo de fibras con mejores propiedades mecánicas para la producción de empaques alimenticios (Aguilar- Vázquez *et al*, 2018). De igual forma, se ha investigado el efecto de las interacciones proteína-proteína a una alta humedad en el proceso de cocción por extrusión en donde no se encontró efecto en el grado de hidrólisis de la composición de aminoácidos, formación de enlaces peptídicos ni degradación de aminoácidos por la reacción de Maillard (Osen *et al.*, 2015;).

Referente a su potencial benéfico a en la salud, se ha demostrado que la proteína hidrolizada de chícharo tiene efecto sobre la disminución de la presión sanguínea en ratas y en humanos hipertensos (Li *et al.*, 2011).

Además, esta proteína se usa como ingrediente en la elaboración de productos tales como hojas de pasta a partir de fibra y proteína de chícharo y una galleta tipo cracker a partir de aislado de proteína de chícharo y avena sin cáscara, la cual mostró mejores propiedades al compararse con galletas comerciales y un potencial benéfico a la salud humana (Morales-Polanco *et al.*, 2017; Muneer *et al.*, 2018).

## 2.6. Análogos de queso

En México, de acuerdo a la NOM-243-SSA1-2010, los quesos se definen como productos elaborados de la cuajada de leche de vaca o de otras especies animales, estandarizada y pasteurizada, con o sin adición de crema. Se obtienen de la

coagulación de la caseína con cuajo, gérmenes lácticos, enzimas apropiadas, ácidos orgánicos y con o sin tratamiento ulterior (calentamiento), drenada, prensada o no, con o sin adición de fermentos de maduración, mohos especiales, sales fundentes e ingredientes comestibles opcionales, dando lugar a las diferentes variedades de quesos, pudiendo clasificarse de acuerdo a su proceso como fresco, madurado o procesado (Secretaría de Salud, 2010). Según la definición dada por la norma, cualquier producto elaborado sin cuajada de leche animal no debe ser considerado un queso. Cabe mencionar que no existe normatividad clara y suficiente para poder definir a los análogos de queso (Villegas-De Gante & De la Huerta-Benítez, 2015).

Los análogos de queso, en términos generales, son productos obtenidos de la mezcla de ingredientes en una matriz homogénea parecida al queso (Masotti *et al.*, 2018). Los análogos de queso son agrupados sistemáticamente en productos lácteos, parcialmente lácteos o no lácteos, dependiendo de los ingredientes usados en su formulación (Badem & Uçar, 2016). Estos productos se usan con la intención de sustituir o imitar parcial o totalmente al queso. En éstos, la grasa y/o la proteína son parcial o totalmente remplazadas por productos alternos no basadas en leche, principalmente de origen vegetal (Guinee, 2011). Debido al bajo costo de los aceites vegetales, en comparación con la grasa de la mantequilla y al reemplazo parcial de la proteína por el almidón, estos productos son más baratos que los quesos naturales o productos de queso pasteurizados y procesados (Fox *et al.*, 2016).

En años recientes, se ha establecido que una de las muchas preocupaciones ambientales se debe a la producción de carne y productos lácteos, por su impacto negativo en el ambiente y el cambio climático; especialmente porque los animales de granja y sus requerimientos nutrimentales aumentarán con el crecimiento de la población (Hedenus *et al.*, 2014; Bäckström *et al.*, 2018). Por esta razón, sustituir esta clase de productos por productos basados en plantas puede traer beneficios a la salud pública (Sadler, 2004).

La funcionalidad de los análogos de queso está influenciada por su micro y macroestructura, las cuales son afectadas por factores tales como las condiciones de procesamiento y composición de los análogos (Figura 3). Los tipos de ingredientes, tales como grasa, caseína, proteínas de suero y sales emulsionantes; así como las propiedades fisicoquímicas, entre las que se pueden citar grado de agregación proteica o hidratación, distribución del tamaño de las gotas de aceite emulsionado, las cuales son responsables de las interrelaciones entre componentes, como son la relación proteína-grasa y la relación calcio-caseína, que son las mayores determinantes de la reología y la funcionalidad del producto terminado (Masotti *et al.*, 2018). Los análogos del queso sin calentar, cuando se consumen solos o como ingredientes, pueden requerir uno o más atributos funcionales, como el caso de la extensibilidad, desmoronamiento, capacidad de corte y capacidad de trituración (Guinee, 2016). Además, deben poseer propiedades organolépticas, especialmente como sabor y textura. Las propiedades de cocción deben incluir diferentes propiedades funcionales, incluyendo suavidad, fluidez, tendencia al oscurecimiento, engrasado y/o extensibilidad (Guinee, 2016). Estas propiedades funcionales, tanto con o sin calentamiento, están directamente relacionadas con las propiedades físicas (dureza, elasticidad, adhesividad, fragilidad o capacidad de desmoronamiento) de los análogos de queso (Fox *et al.*, 2016; Masotti *et al.*, 2018). En la Figura 4 se muestran las propiedades funcionales requeridas en análogos de queso.

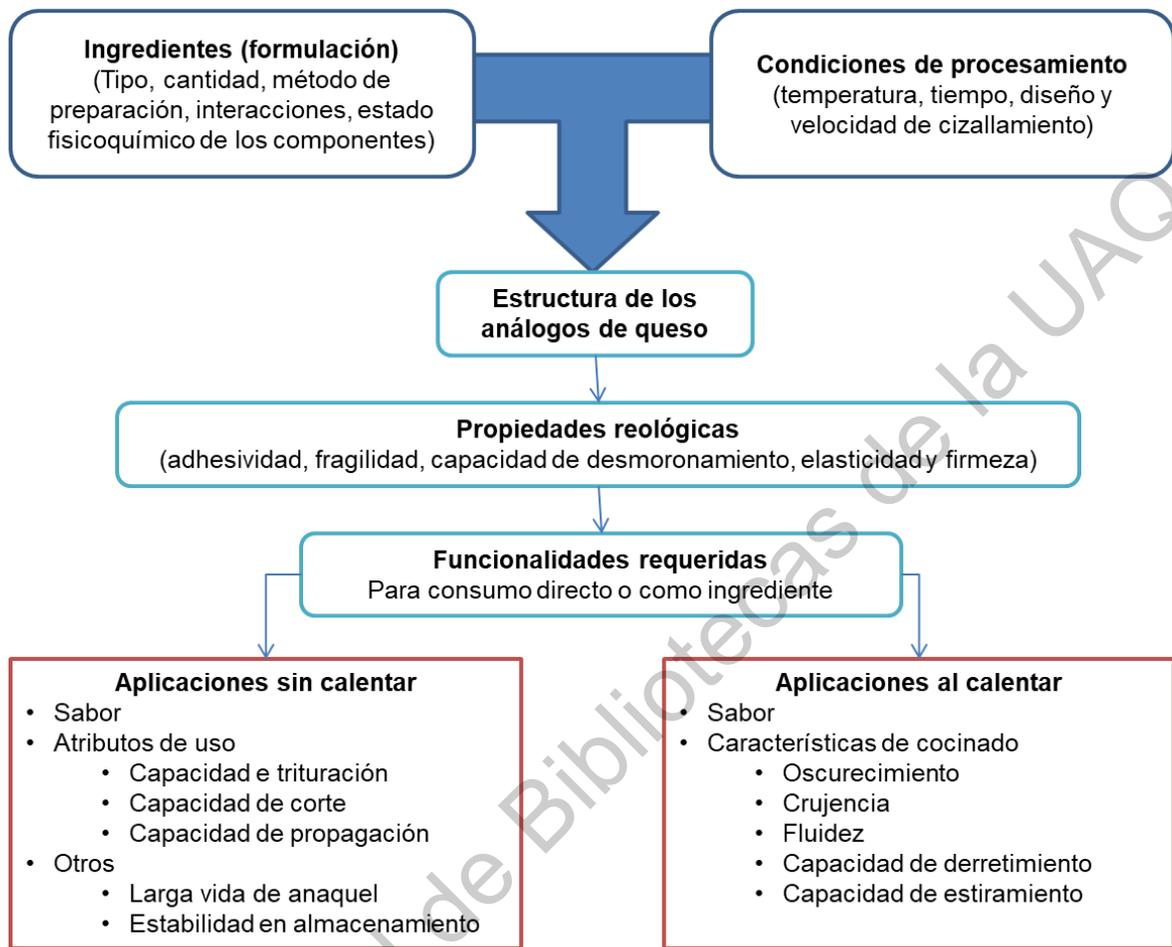


Figura 4. Propiedades funcionales requeridas en análogos de queso (Masotti et al., 2018).

Los beneficios sobre la salud y el impacto ambiental son algunos de los principales factores considerados en el estudio y desarrollo de estos productos que son relativamente nuevos en el mercado.

### **3. JUSTIFICACIÓN**

La exportación de aceite de aguacate entre 2016 y 2018 fue de 17,000 toneladas al año. Mientras la demanda por este aceite crece en las industrias farmacéuticas y alimenticias, también, crece la cantidad de residuos descartados que representan del 21-30% del fruto entero, donde la pulpa desgrasada del aguacate representa del 14-19% de tales residuos. Destacando que el mal manejo de estos residuos genera un problema ambiental.

La pulpa de aguacate, además de los ácidos grasos insaturados, es rica en carbohidratos, fibra y proteína, comparada con otros frutos. Por lo que es de suponer que la pulpa desgrasada de este fruto aún conserva gran parte de estos componentes después de la extracción de su aceite.

Este subproducto de la pulpa de aguacate podría recibir un valor agregado al ser utilizado en la formulación de productos alimenticios. Un mercado en auge de la industria alimenticia en donde pudiera ser usado este subproducto es el mercado de los análogos de queso, los cuales suelen ser nutrimentalmente inferiores a los quesos en el contenido de proteína y calcio.

Así, en el presente trabajo se propone usar un subproducto de bajo valor agregado como lo es la pulpa desgrasada de aguacate para obtener un análogo de queso tipo untable que sea adicionado en proteínas y calcio.

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1. GENERAL**

Obtener un análogo de queso con propiedades nutraceuticas a partir de un subproducto de aguacate (*Persea americana* Mill.) y proteína de chícharo (*Pisum sativum* L.).

### **4.2. ESPECÍFICOS**

- 4.2.1 Formular y elaborar un producto análogo al queso a partir de un subproducto de la pulpa de aguacate (*Persea americana* Mill.) y la proteína de chícharo (*Pisum sativum* L.) como base.
- 4.2.2 Realizar la caracterización química, física y nutraceutica de la pulpa de aguacate (*Persea americana* Mill.), el subproducto de ésta y el análogo de queso.

## 5. METODOLOGÍA

### 5.1. MATERIALES

#### 5.1.1. Compuestos Químicos

Los reactivos de uso general fueron adquiridos en Sigma-Aldrich o en JT Baker: acetonitrilo, ácido acético, cloruro de acetilo, ácido clorhídrico (HCl), ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), ácido bórico (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>) anaranjado de metilo, 2,2-azinobis 3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico (ABTS), 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH), etanol, éter de petróleo, Folin-Ciocalteu, fosfato dibásico de potasio (K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>), fosfato monobásico de potasio (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>), hidróxido de potasio (KOH), hidróxido de sodio (NaOH), metanol, persulfato de potasio (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>), proteasa, verde de bromocresol, sulfato de cobre (CuSO<sub>4</sub>), agua destilada, agua grado HPLC, acetonitrilo grado HPLC, agar nutritivo, agar papa/dextrosa, agar verde brillante y agar sal-manitol, solución metanólica de vainillina al 1%, HCl en metanol al 8%, HCl en metanol al 4%, (±)-catequina, Kit de ensayo para fibra dietaria total, kit de ensayo para almidón.

Estándares comerciales de Sigma-Aldrich: ácido ascórbico, ácido cafeico, catequina, ácido clorogénico, ácido p-cumárico, ácido elágico, epicatequina, epicatequina galato, ácido ferúlico, ácido gálico, ácido 4-hidroxifenilacético, ácido 4-hidroxibenzoico, quercetina, rutina y ácido sinápico.

#### 5.1.2. Materia Prima

Se trabajó con un subproducto de pulpa de aguacate (*Persea americana* Mill.) (SUPA) obtenido a partir de la extracción de aceite extravirgen de aguacate mediante el método reportado por Dorantes-Álvarez & Ortiz-Moreno (2006).

Se usó aislado de proteína de chícharo amarillo (*Pisum sativum* L.) adquirido de Roquette México S.A de C.V.

## 5.2. MÉTODOS

### 5.2.1. Obtención del subproducto de la pulpa desgrasada de aguacate

Se obtuvo la pulpa de aguacates maduros separándola manualmente de semillas y cáscaras. Posteriormente, se troceó la pulpa y se sometió a un tratamiento en microondas aplicando una energía de 0.32 – 0.52 kWh por cada kg de pulpa durante un tiempo de 1 a 15 minutos, hasta que se obtuvo una pasta suave y cremosa. Una vez terminado el tratamiento en microondas se dejó reposar la pulpa hasta alcanzar la temperatura ambiente. El aceite fue separado de la pulpa mediante métodos de separación basados en el proceso de expresión. La pulpa de aguacate obtenida tras la extracción de aceite fue sometida a un tratamiento con microondas para disminuir la humedad a menos del 12%. Este subproducto se conservó en congelación (Dorantes-Álvarez & Ortiz-Moreno, 2006).

### 5.2.2. Caracterización química

#### 5.2.2.1. Determinación de humedad

La humedad se determinó por el método 925.23 descrito en la AOAC (2002). En un crisol a peso constante, se pesaron 3 gramos de muestra. El crisol se introdujo a una estufa con una temperatura de 130 °C por 3 horas. Transcurrido este tiempo se colocó en un desecador por 40 minutos para que se alcanzara la temperatura ambiente. Posteriormente, se pesó y se calculó la humedad mediante la fórmula siguiente:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{(W_1 + W_2) - W_3}{W_2} \times 100$$

Dónde:

$W_1$  = Peso inicial del crisol a peso constante (g)

$W_2$  = Peso de la muestra (g)

$W_3$  = Peso final del crisol con la muestra seca (g)

#### 5.2.2.2. Determinación de cenizas

El contenido de cenizas se determinó por el método 945.46 descrito en la AOAC (2002). En un crisol a peso constante se pesaron 3 gramos de muestra. El crisol se introdujo en una mufla con una temperatura de 550 – 600 °C durante 4 horas (hasta obtener cenizas blancas). Posteriormente, se dejó enfriar el crisol en un desecador hasta que este alcance la temperatura ambiente, se pesó el crisol con las cenizas y se calculó el porcentaje de cenizas mediante la fórmula siguiente:

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{(W_1 + W_2) - W_3}{W_2} \times 100$$

Dónde:

$W_1$  = Peso inicial del crisol a peso constante (g)

$W_2$  = Peso de la muestra (g)

$W_3$  = Peso final del crisol con las cenizas (g)

#### 5.2.2.3. Determinación de lípidos

Los lípidos totales se determinaron por el método 920.39 descrito en la AOAC (2002). En un cartucho de celulosa se colocó 3 gramos de muestra y se cubrirá con algodón para colocarlo en el compartimento de extracción de Soxhlet, en el cual se encontró un matraz a peso constante. Se adicionó éter de petróleo al matraz hasta cubrir 2/3 partes de éste, de tal manera que el solvente cubriera la muestra y se pueda observar el efecto sifón. Posteriormente, se mantuvo la extracción a un flujo de 10 reflujos por hora durante un lapso de 4 horas. Transcurrido este tiempo la extracción se detuvo y el matraz se secó en la estufa a 100 °C con la finalidad de

retirar la humedad y los residuos del solvente. Finalmente, el matraz se dejó atemperar en un desecador, se registró su peso y se calculó el porcentaje de lípidos totales:

$$\% \text{ Lípidos} = \frac{(W_1 + W_2) - W_3}{W_2} \times 100$$

Dónde:

$W_1$  = Peso inicial del matraz a peso constante (g)

$W_2$  = Peso de la muestra (g)

$W_3$  = Peso final del matraz con los lípidos (g)

#### 5.2.2.4. Determinación de proteína

La determinación de proteína se realizó empleando el método 920.15 descrito en la AOAC (2002). En un tubo Kjeldhal se colocaron 0.5 g de muestra, 3.5 g de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , 0.4 g de  $\text{CuSO}_4$  y 15 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado. Se preparó otro tubo igual que el anterior, pero sin muestra (blanco). El tubo se colocó en la plancha del digestor, calentando suavemente hasta alcanzar una temperatura de 400 °C. Se calentó hasta obtener una solución de azul verde turquesa. Posteriormente, el tubo se dejó atemperar y se le adicionó con cuidado 100 mL de agua destilada.

Para la destilación los tubos Kjeldhal se colocó en el destilador, al cual se le adicionó 50 mL de NaOH al 40%. Se dejó destilar hasta obtener un volumen aproximado de 150 mL, el cual se recibió en un matraz Erlenmeyer de 250 mL, 25 mL de  $\text{H}_3\text{BO}_3$  al 0.2 N con rojo de metilo y verde de bromocresol como indicador. Después, se tituló con HCl 0.1 N valorado previamente. Finalmente, se determinó el nitrógeno total y se multiplicó por 5.7, factor de conversión equivalente al porcentaje de proteína presente en el alimento, los cálculos para la determinación de nitrógeno total y la conversión a proteína se realizaron con las siguientes fórmulas:

$$\% \text{ Nitrógeno} = \frac{(A - B)C}{D} \times 1.401$$

$$\% \text{ Proteína} = \% \text{ Nitrógeno} \times 6.25$$

Dónde:

A = Volumen de HCl gastado para titular la muestra (mL)

B = Volumen de HCl gastado para titular la solución blanco (mL)

C = Concentración del HCl (N)

D = Peso de la muestra (g)

#### 5.2.2.5. Determinación de carbohidratos

La cantidad de carbohidratos fue calculada como la diferencia del porcentaje de los demás macronutrientes, así como humedad y cenizas mediante la fórmula siguiente:

$$\% \text{ Carbohidratos} = 100 - \% \text{ Humedad} - \% \text{ Cenizas} - \% \text{ Grasa} - \% \text{ Proteína}$$

#### 5.2.2.6. Determinación de calcio

El método usado fue una modificación del método descrito por McCrudden (1911), dada la facilidad del ensayo. En un crisol se pesaron 30 g de muestra, los cuales fueron calcinados según la metodología descrita en el punto 6.2.2.2. Las cenizas obtenidas fueron transferidas a un matraz Erlenmeyer de 250 mL y solubilizadas en 25 mL de HCL 1:1 y 75 mL de agua destilada. Se añadieron 5 gotas del indicador rojo de metilo y posteriormente 25 mL de una solución de oxalacetato de amonio al 4%. Después, se adicionó hidróxido de amonio 1:1 hasta que la solución viró a un color amarillo. La solución fue calentada a 90 °C durante 40 min cuidando siempre que el pH se conservara. Pasado este tiempo, la solución se dejó enfriar a temperatura ambiente para luego someterse a un baño de hielo durante 15 min. Posteriormente, la solución fue filtrada al vacío usando un papel filtro previamente

pesado. El papel filtro se dejó secar durante 2 horas a 110 °C. El peso obtenido fue correspondiente a oxalato de calcio monohidratado.

*mg de calcio en la muestra*

$$= (\text{Peso final del papel} - \text{Peso inicial del papel})(315.4)$$

### 5.2.3. Caracterización nutracéutica

#### 5.2.3.1. Determinación de fibra dietética

La fibra dietética total se determinó mediante la suma de las cantidades de fibra insoluble y de fibra soluble.

$$\% \text{ Fibra dietética total} = \% \text{ Fibra insoluble} + \% \text{ Fibra soluble}$$

#### 6.2.3.1.1. Determinación de fibra insoluble

La fibra dietética insoluble se cuantificó de acuerdo a la metodología establecida por Shiga *et al.*, (2003). Se pesó 1 g de muestra previamente desgrasada. La muestra se colocó en un matraz Erlenmeyer y se le agregarán 50 mL de Buffer de fosfatos 0.08 M a pH de 6. Posteriormente, se le agregó 100 µL de α-amilasa al matraz y se protegió de la luz. El matraz fue incubado en baño María a 95 °C durante 30 minutos, agitando éste cada 5 minutos. Después de sacar el matraz del baño María se dejó enfriar a temperatura ambiente y se ajustó el pH a 7.5 con una solución de NaOH 0.275 N. Una vez que se ajustó el pH se adicionó 100 µL de la enzima proteasa de concentración 5 mg/mL y se incubó en baño María a 60 °C durante 30 minutos con agitación continua. Transcurrido este lapso, se dejó atemperar el matraz y se ajustó el pH a 4 con HCl 0.275 N. A continuación, se adicionó 300 µL de amilogucosidasa y se incubó por 30 minutos a 60 °C con agitación continua. Finalizada la incubación se filtró en un papel Whatman no. 4 (previamente pesado). Se realizaron 2 lavados con 15 mL de agua calentada a 60 °C y 2 lavados con 15 mL de etanol al 80%. El

papel filtro con el sólido filtrado se secó a 60 °C por 24 horas y por último se registró su peso. La fibra insoluble fue considerada como lo que permanezca en el filtro tras el tratamiento enzimático y se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Fibra insoluble} = \frac{W_2 - W_1}{W_3} \times 100$$

$W_1$  = Peso del papel filtro (g)

$W_2$  = Peso final del papel con el sólido filtrado (g)

$W_3$  = Peso de la muestra (g)

#### 6.2.3.1.2. Determinación de fibra soluble

De la metodología de fibra insoluble, se conservó la solución filtrada y se adicionó un volumen igual de etanol al 80%, la solución se mantuvo en reposo durante 12 horas. Pasado el tiempo de reposo, la solución fue filtrada en papel Whatman no.4 (previamente pesado). Se hicieron 2 lavados con 15 mL de etanol al 80% y 2 lavados con 15 mL de acetona. Por último, se dejó secar el papel filtro por 24 horas a 60 °C y se registró su peso. El porcentaje de fibra soluble se calculó con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Fibra soluble} = \frac{W_2 - W_1}{W_3} \times 100$$

$W_1$  = Peso del papel filtro (g)

$W_2$  = Peso final del papel con el sólido filtrado (g)

$W_3$  = Peso de la muestra (g)

#### 6.2.3.2. Extracción metanólica de compuestos fenólicos

Se realizó la extracción según el protocolo descrito por Cardador-Martínez *et al.*, (2002), fue pesado 1 g de la muestra. Esta se colocó en un matraz Erlenmeyer protegido de la luz junto con 10 mL de metanol-agua (80/20 v/v) y una barra magnética. El matraz fue sometido a agitación magnética durante 24 horas a una temperatura de 20 °C. El contenido del matraz fue centrifugado a 2166 G. El sobrenadante fue recuperado y almacenado a 4 °C y protegiéndolo de la luz hasta su análisis.

#### 6.2.3.3. Cuantificación de compuestos fenólicos

##### 6.2.3.3.1. Cuantificación de fenoles totales

La cuantificación de fenoles totales se llevó a cabo por la técnica propuesta por Singleton & Rossi (1965). En viales ámbar se colocó 50 µL de muestra, a la cual se le adicionó 250 µL de agua grado HPLC y después 125 µL del reactivo de Folin-Ciocalteu (1:10). Se agitó en el vórtex por 5 minutos. Posteriormente, se agregó 625 µL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (70 g/L) y se incubó por 2 horas en la oscuridad. La reacción se leyó a una longitud de 760 nm. Se preparó un blanco con 50 µL del solvente usado en la muestra. Los resultados fueron comparados con una curva de calibración usando el ácido gálico (0-500 µg/mL) como estándar. El contenido de fenoles totales se expresó como mg equivalentes de ácido gálico por gramo de muestra.

##### 6.2.3.3.2. Cuantificación de compuestos fenólicos por HPLC

Estas determinaciones se llevaron a cabo con modificaciones a la metodología descrita por López-Cobo *et al.*, (2016) a partir del extracto metanólico obtenido anteriormente de la muestra. El extracto fue filtrado a través de un filtro para jeringa de 0.45 µm e inyectado en el HPLC bajo las siguientes condiciones. Se empleó la cromatografía líquida de alta resolución con detector de arreglo de diodos (HPLC-DAD) el análisis se llevó a cabo en un sistema HPLC Agilent Serie 1200 (Agilent

Technologies, Palo Alto, CA, EE.UU.), utilizando una columna Zorbax Eclipse XDB-C18 (Agilent Technologies, 4.6 x 250 mm, 5.0 micras). La temperatura de la columna fue controlada con ayuda de un termostato a 25 °C y la velocidad de flujo se ajustó a 0.750 mL / min. La fase móvil consistió de dos disolventes: agua con ácido fórmico al 1% (sistema A) y acetonitrilo con ácido fórmico al 1% (sistema B). El orden de elución fue el siguiente: 0.0 min, 0.0% de B; 3.0 min, 5.0% de B; 4.0 min, 11.6% de B; 6.0 min, 12.0% de B; 7.0 min, 19.5% de B; 12.4 min, 22.3% de B; 13.5 min, 24.4% de B; 16.0 min, 24.8% de B; 17.0 min, 26.0% de B; 19.0 min, 26.8% de B; 20.0 min, 28.3% de B; 22.0 min, 29.7% de B; 25.0 min, 50.0% de B; 26.0 min, 85.0% de B; 27.0 min, 100% de B; y 28.0 min, 5.0% de B. El volumen de muestra a inyectar fue de 20.0 µL. La detección se realizó a los 240, 280, 330 y 360 nm. La cuantificación se llevó a cabo utilizando el método de estándar externo con los estándares comerciales de: ácido cafeico, catequina, ácido clorogénico, ácido p-cumárico, ácido elágico, epicatequina, epicatequina galato, ácido ferúlico, ácido gálico, ácido 4-hidroxifenilacético, ácido 4-hidroxibenzoico, quercetina, rutina y ácido sinápico.

#### 6.2.3.4. Digestibilidad de proteína *in vitro*

La digestibilidad de proteínas se realizó por un método multienzimático propuesto por Hsu *et al.* (1977). En un tubo Falcon de 50 mL, se pesó la muestra de porcentaje de proteína conocido de tal forma que, el peso de la muestra contuviera 63.8 mg de proteína. Al tubo se adicionaron 10 mL de agua destilada para tener una suspensión de 6.38 mg de proteína por mL. Se ajustó el pH a 8 con HCl o NaOH al 0.1 N. Posteriormente, se agregó 1 mL de una solución multienzimática (1.58 mg de tripsina, 3.56 mg de quimiotripsina y 0.45 mg de pepsidasa por mL de solución) los tubos fueron colocados en un baño maría a 37 °C durante 10 min con agitación constante. Concluido el tiempo, se adicionó 1 mL de proteasa (1.48 mg/ mL) y los tubos se llevaron a baño maría a 55 °C durante 10 min con agitación constante. Los tubos se dejaron atemperar y se midió el pH de las soluciones. El pH registrado se sustituyó en la siguiente ecuación para la obtención del porcentaje de digestibilidad:

$$\% \text{ de digestibilidad} = 234.84 - 22.5pH$$

#### 6.2.3.5. Digestibilidad de carbohidratos *In vitro*

La digestibilidad de carbohidratos *in vitro* se realizó mediante las técnicas de almidón resistente, almidón total y almidón disponible.

##### 6.2.3.5.1. Almidón resistente

El método empleado fue el descrito por Saura-Calixto et al. (1993). Del método 6.2.3.1.1 se tomaron 100 mg de fibra insoluble y se trasladaron a un matraz Erlenmeyer de 50 mL, después, se adicionaron 6 mL de KOH 2M. Esta solución se llevó a incubación a 25 °C con agitación continua durante 30 min. Posteriormente, se adicionaron 3 mL de solución amortiguadora de acetato de sodio (0.4 M y pH 4.75). Al matraz se adicionaron 60 µL de la enzima amiloglucosidasa y se llevó a incubación a 60 °C durante 30 min y con agitación continua. Finalizada la incubación, se deja atemperar el matraz y el contenido se centrifuga a 10,000 rpm durante 15 min. El sobrenadante fue recuperado y el precipitado fue lavado dos veces con 10 mL de agua HPLC. El sobrenadante colectado se rotoevaporó hasta aproximadamente 5 mL para después ser aforado a 10 mL.

Para la lectura de la muestra: La muestra fue medida con el kit de glucosa oxidasa/peroxidasa en donde a una microplaca se le colocaron 50 µL de la muestra o estándar y 100 µL del reactivo del ensayo (incluido en el kit). La microplaca se incubó por 30 min a 37°C. Pasado este lapso, se adicionaron 100 µL de ácido sulfúrico concentración 12 N. La placa fue leída a 540 nm.

La curva para esta medición y para todas las de almidón se realizaron usando diferentes concentraciones de glucosa provenientes de una solución patrón incluida en el kit (1 mg/mL).

$$\% \text{ Almidón resistente} = \frac{(\mu\text{g/mL de glucosa})(\text{volumen})(\text{dilución})(0.9)(100)}{\mu\text{g de muestra}}$$

#### 6.2.3.5.2. Almidón total

La determinación de almidón total se llevó a cabo siguiendo la técnica descrita por Goñi *et al.* (1997). Se pesaron 50 mg de muestra en tubos Falcon de 50 mL. A los tubos se añadieron 3 mL de agua destilada y 3 mL de KOH 4.0 M. Esta solución fue llevada a agitación constante a temperatura ambiente durante 30 min. Finalizado el tiempo, se adicionaron 3 mL de una solución amortiguadora de acetato de sodio pH 4.7 (0.4 M) y 5.5 mL de HCl 2.0 M. El pH de la solución fue ajustado a 4.75 usando HCl o NaOH 0.1 M. Posteriormente, se adicionaron 60  $\mu\text{L}$  de amilogucosidasa y se llevaron los tubos a incubación a 60 °C con agitación constante durante 45 min. Pasado este tiempo, las muestras fueron centrifugadas a 3000 g durante 15 min; el sobrenadante fue recuperado en un matraz de 50 mL. Se realizaron 2 lavados con 5 mL de agua destilada repitiendo el paso anterior para cada lavado. La medición del contenido de glucosa en las muestras se realizó mediante el reactivo glucosa oxidasa/peroxidasa (GOD/POD), midiendo la absorbancia a 510 nm. Se compararon los resultados respecto una curva de glucosa y se calculó el contenido de almidón con la siguiente formula:

$$\% \text{ Almidón total} = \frac{(\mu\text{g/mL de glucosa})(\text{volumen de aforo})(0.9)(100)}{\mu\text{g de muestra}}$$

#### 6.2.3.5.3. Almidón disponible

La metodología se llevó a cabo de acuerdo a Goñi *et al.* (1997). En un matraz se pesaron 50 mg de muestra, se adicionaron 20 mL de agua y se sometió a agitación durante 10 min a temperatura ambiente. Posteriormente, se cubrió el matraz con papel aluminio y se adicionaron 100  $\mu\text{L}$  de  $\alpha$ -amilasa termoestable a la solución. El matraz fue puesto a un baño a 95 °C con agitación constante durante 20 min. Al

finalizar el tiempo, se dejó que el matraz alcanzara la temperatura ambiente. El contenido del matraz fue aforado a 100 mL. Después, en un tubo Eppendorf color ámbar se colocó 1 mL de solución amortiguadora de acetato (0.4 M y pH 4.75), 25  $\mu$ L de amilogucosidasa y 300  $\mu$ L de muestra. La solución resultante se dejó incubando bajo agitación constante a 60 °C durante 30 min. Al terminar este lapso, se deja atemperar el tubo y centrifuga a 10,000 rpm durante 5 min, se hicieron 2 lavados de 1 mL con agua destilada. Los sobrenadantes son recuperados y aforados a 10 mL con agua. Las muestras se miden según lo descrito para almidón resistente.

$$\% \text{ Almidón disponible} = \frac{(\mu\text{g/mL de glucosa})(\text{volumen})(\text{dilución})(0.9)(100)}{\mu\text{g de muestra}}$$

#### 5.2.4. Formulación del análogo de queso

El queso fue formulado de acuerdo a Mounsey & O’Riordan, (2001). Inicialmente, se inició con las siguientes proporciones: agua, 13.00% de proteína de chícharo, 40.00% de SUPA, 0.54% de ácido cítrico, 1.00% de citrato trisódico, 0.40% de fosfato disódico, 0.20% de cloruro de sodio, 0.80% de cloruro de calcio, 0.10% de ácido ascórbico, 2.0% de saborizante panela y adicionado con 5.00% de almidón de maíz. La elaboración se realizó de acuerdo a las buenas prácticas de manufactura de alimentos, según la norma oficial mexicana NOM-251-SSA1-2009 y usando ingredientes generalmente reconocidos como seguros (GRAS, por sus siglas en inglés) por la administración de medicamentos y alimentos de Estados Unidos (FDA, por sus siglas en inglés).

#### 5.2.5. Análisis fisicoquímico

#### 5.2.5.1. Evaluación del color

El color fue determinado por medio de un espectrofotómetro portátil Minolta CM-202, y los resultados se expresaron en términos de luminosidad ( $L^*$ ), color rojo ( $a^*$ ) y color amarillo ( $b^*$ ); según lo recomendado por la Comisión Internacional de Iluminación, (2004). Se realizó un triplicado por cada lote del producto.

#### 5.2.5.2. Análisis reológico

El análisis se realizó con modificaciones al método descrito por Zulkurnain *et al.* (2008), fue usado un reómetro (Anton Paar Physica Modelo MCR1-101, Australia) Las muestras se corrieron a 25 °C con una amplitud gamma (*Strain*  $\gamma$ ) de 0.1 a 50%, una frecuencia fija de 1 Hz. Estas pruebas permitieron fijar las condiciones para la evaluación de los módulos  $G'$  y  $G''$ .

La determinación de los módulos  $G'$  (módulo de almacenaje o elástico) y  $G''$  (módulo de pérdida o viscoso) se llevó a cabo mediante un barrido de frecuencia de 0.1 a 100 Hz con un *Strain*  $\gamma$  fijo de 0.47 y una temperatura fija de 25 °C. El valor de  $G'$  fue comparado entre el análogo de queso, un requesón comercial y tofu.

#### 5.2.6. Análisis estadístico

Los resultados obtenidos del análisis estadístico se expresaron como la media  $\pm$  la desviación estándar como medida de dispersión de los datos. Las diferencias entre medias para las pruebas de caracterización química, nutracéutica se analizaron por el método de Tukey, utilizando el programa JMP 5.0.1.

## 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1. Obtención del SUPA

De la extracción de aceite a partir de la pulpa de aguacate se obtuvo una pasta cremosa de color verde y olor amargo (Figura 5). Este subproducto de aguacate (SUPA) presentó una tendencia a la oxidación, observándose el pardeamiento principalmente en la parte de la pasta más expuesta al aire. Zhou *et al.* (2016), encontraron que la actividad de la enzima polifenol oxidasa de pasta de aguacate desgrasada (método de extracción no especificado) se puede reducir hasta en un 80% mediante el uso de un tratamiento de microondas de 11 W/g durante 80 segundos. En cambio, el control sin tratamiento mostró un incremento de 170% de actividad después de cuatro semanas de almacenamiento a 4°C. La medición de la actividad de polifenol oxidasa no fue parte del objetivo de este proyecto. No obstante, con la potencia usada y los tiempos de tratamiento para la extracción (aproximadamente 13 W/g durante 180 s) se esperaría que el SUPA no presentara tendencia a la oxidación, pero al almacenarse a -20 °C durante un mes es evidente el cambio en el color por pardeamiento.



Figura 5. a) aceite de aguacate obtenido por tratamiento en microondas y posteriormente centrifugación, b) subproducto de la pasta de aguacate (pasta sin aceite), c) análogo de queso elaborado con subproducto de aguacate y proteína de chícharo.

## 6.2. Pruebas preliminares

Antes de realizar la formulación del análogo, se buscó definir las concentraciones a usar de almidón y agar-agar para obtener la textura más adecuada para obtener un análogo untable. Los almidones nativos (A) elegidos fueron: maíz, papa y arroz. De cada uno de éstos, se probaron tres concentraciones previamente definidas: concentración baja (1), media (2) y alta (3). Cada nivel de almidón se aplicó junto con un nivel de agar-agar (G) a concentración baja (1) o alta (3). Siendo la proporción más adecuada la de almidón de maíz a concentración alta junto con agar-agar a concentración alta (tratamiento A3G3) la de mejor textura al tacto, teniendo consistencia de queso tipo untable (Tabla 4). Este resultado posteriormente fue confirmado con el análisis reológico.

Tabla 4. Resultados preliminares de formulación.

Tratamiento	Maíz	Papa	Arroz
<b>A1G1</b>	+	+	+
<b>A1G3</b>	+	+	+
<b>A2G1</b>	+	+	+
<b>A2G3</b>	++	++	++
<b>A3G1</b>	++	++	+
<b>A3G3</b>	+++	++	++

A = Nivel de almidón; G = Nivel de agar-agar; 1: nivel bajo, 2: nivel medio; 3: Nivel alto. Los valores cualitativos de consistencia están indicados con el signo + para la textura más suave hasta +++ para la textura más dura obtenida.

## 6.3. Formulación y elaboración del análogo de queso

El análogo de queso fue elaborado siguiendo las proporciones descritas en la Figura 6. Los niveles de proteína y SUPA fueron fijados desde el inicio para obtener un producto con alto contenido de proteína y fibra según lo indicado en las “Directrices para el uso de declaraciones nutricionales y saludables” (FAO, 2020).

Las propiedades sensoriales de color y sabor que el SUPA confiere no son muy atractivas. El color es atribuido a la oxidación de este subproducto por el

calentamiento y la exposición al oxígeno; mientras que el sabor se atribuye a la adición de ácido cítrico durante la extracción del aceite junto con procesos enzimáticos y/o no enzimáticos de pardeamiento (Naveh *et al.*, 2002). Para mejorar las propiedades sensoriales del análogo se adicionaron saborizantes y colorantes con el fin de mejorar el sabor y el color dado por el SUPA (Figura 5). El color obtenido para el análogo de queso después de la adición de colorante vegetal presentó los siguientes valores: L\* de 50.52, a\* de -11.795 y b\* de 24.925.

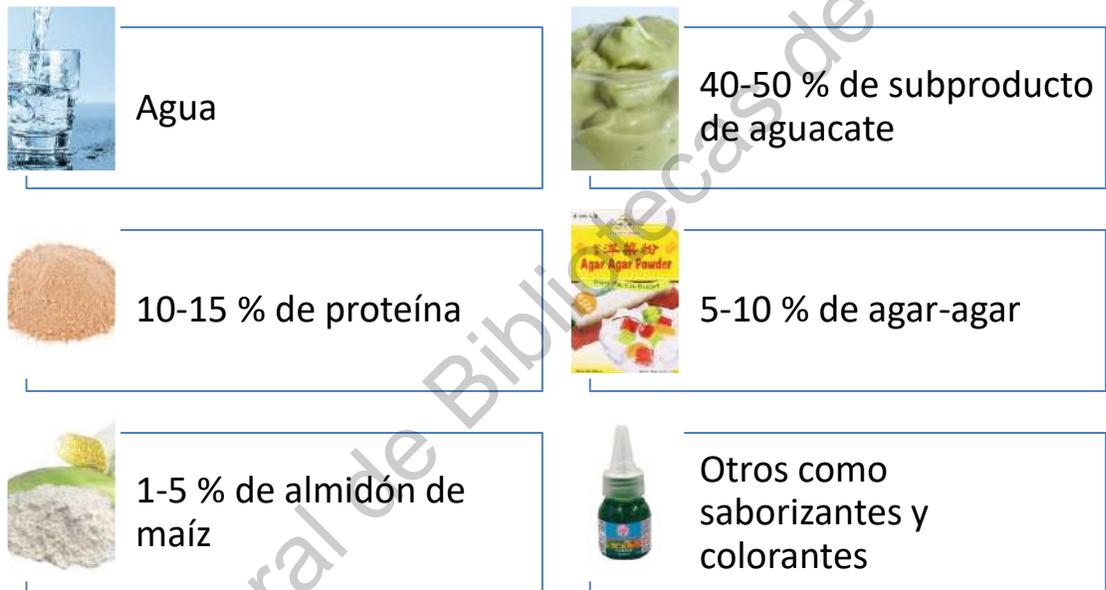


Figura 6. Formulación del análogo de queso.

#### 6.4. Composición química

En la tabla 5 se puede observar la composición química de aguacate, SUPA y el análogo de queso. Los resultados obtenidos para el aguacate son similares a los

reportados por Dreher & Davenport (2013), mientras que los resultados del SUPA son similares a los reportados en base seca por Naveh *et al.* (2002). Comparando la composición entre los tres tipos de muestra puede observarse la disminución de humedad debido a los tratamientos térmicos aplicados (microondas para la obtención de SUPA y calentamiento convencional para la obtención del análogo de queso), la pérdida en la humedad conlleva a la concentración de otros compuestos como proteínas y fibra.

Cabe resaltar que la cantidad de proteína obtenida en el análogo es mayor a la contenida en varios análogos de queso comerciales e incluso que en algunos quesos de tipo untable. Así mismo, el contenido de grasa es menor al contenido en otras opciones comerciales tanto análogas como lácteas.

Tabla 5. Comparación de la composición química del aguacate Hass, el SUPA y el análogo de queso tipo untable.

Parámetro	Aguacate Hass (Pulpa)	SUPA	Análogo de queso
<b>Proteínas</b>	2.1 ± 0.1 <sup>c</sup>	3.2 ± 0.1 <sup>b</sup>	13.0 ± 0.4 <sup>a</sup>
<b>Cenizas</b>	4.0 ± 0.1 <sup>a</sup>	3.2 ± 0.1 <sup>b</sup>	2.4 ± 0.0 <sup>c</sup>
<b>Lípidos</b>	11.5 ± 0.4 <sup>a</sup>	2.1 ± 0.2 <sup>b</sup>	2.2 ± 0.4 <sup>b</sup>
<b>Humedad</b>	75.7 ± 1.1 <sup>a</sup>	65.2 ± 3.9 <sup>b</sup>	53.7 ± 1.3 <sup>c</sup>
<b>Carbohidratos (por diferencia)</b>	6.7 ± 1.7 <sup>b</sup>	26.3 ± 4.3 <sup>a</sup>	28.8 ± 2.2 <sup>a</sup>

SUPA = Subproducto de pulpa de aguacate. Valores expresados como porcentaje. Los valores representan la media de tres experimentos independientes ± la desviación estándar. Letra diferente por fila indica diferencia significativa entre medias en la prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ ).

#### 6.4.1. Digestibilidad de proteínas *In vitro*

La digestibilidad de proteínas puede usarse como indicador de la disponibilidad de las proteínas, es decir, cuan eficientemente el cuerpo utiliza las proteínas

consumidas en la dieta. Esencialmente la digestibilidad es una medida de la proteólisis. De este modo, una proteína con una digestibilidad alta es potencialmente de mejor valor nutricional que una de digestibilidad baja porque provee de más aminoácidos esenciales que pueden ser absorbidos (Hoffman & Falvo, 2004).

La digestibilidad del control de caseína y la proteína de chícharo mostraron valores muy similares a los reportados en la literatura (100% y 93% respectivamente), considerando que el método multienzimático puede tener una variación de hasta el 10% respecto a los valores reales de digestibilidad y sin realizar la puntuación de aminoácidos corregida por digestibilidad de proteínas (Zhou, 1977; Yang *et al.*, 2012). La digestibilidad del análogo de queso resultó bastante similar a la demostrada por el aislado proteico de chícharo; no presenta diferencias estadísticamente significativas comparada con el aislado proteico de chícharo (Figura 7). La alta digestibilidad del análogo puede atribuirse a que la mayor parte de la proteína en el producto proviene del aislado proteico de chícharo y no del aguacate; ya que, el aislado proteico de aguacate tiene alrededor de un 69% de digestibilidad *in vitro* (Wang *et al.*, 2019) y el contenido de proteína es 3.2%. Además, parece que la matriz alimentaria formada por fibra y carbohidratos como el almidón y el agar-agar; no formó complejos que impidieran la digestibilidad de las proteínas (Yang *et al.*, 2019). Esto le da al producto elaborado una ventaja respecto a otras proteínas de origen vegetal comúnmente conocidas por no ser buenas fuentes de proteína de alto valor biológico (Hoffman & Falvo, 2004).

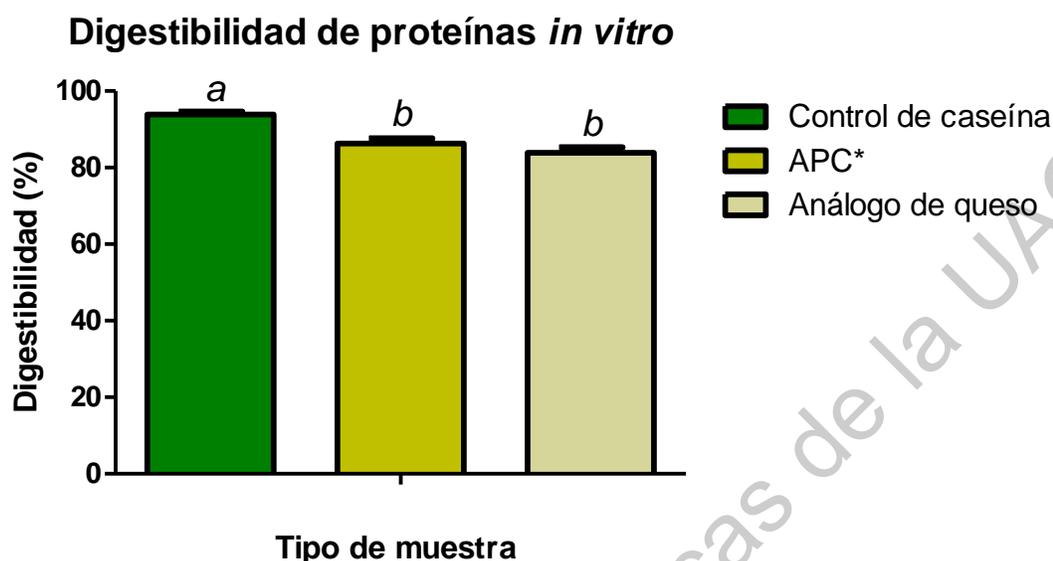


Figura 7. Digestibilidad de proteínas *In vitro*. Los valores representan la media de tres experimentos independientes  $\pm$  el error estándar. Valores expresados en porcentaje de la muestra en fresco Letra diferente indica diferencia significativa entre medias en la prueba de *t* de *Student* para muestras no pareadas (I.C.= 95%). \*Valores reportados por Morales-Polanco *et al.* (2017)

#### 6.4.2. Contenido de calcio

Una porción de 30 g del análogo de queso contiene  $140.8 \pm 5.0$  mg de calcio, lo cual representa aproximadamente el 14% de la ingesta diaria recomendada para adultos, que es, 1,000 mg/día para mujeres de 19 a 50 años y para hombres de 19 a 70 años (Heravi & Michos, 2019). Este resultado es de importancia, dado que las dietas basadas en plantas, en especial veganas, incluyen a los productos análogos para sustituir productos de origen animal. La supresión en el consumo de éstos, hace necesario que los productos análogos no solo cubran los aspectos sensoriales, sino que, también deben considerar suplir el aporte nutricional que los consumidores dejan de recibir en su dieta (Richter *et al.*, 2016). En este aspecto, se considera que la falta de calcio, entre otros nutrientes, podrían ser un factor para el aumento del

riesgo de padecer pérdida ósea y sufrir fracturas con la edad en la población con un régimen de dieta vegana (Mangano & Tucker, 2017).

## 6.5. Composición nutracéutica del Análogo de queso

### 6.5.1. Fibra dietaria y almidón

La cantidad de fibra dietaria total mostró ser bastante alta respecto al contenido total de carbohidratos (Tabla 6). El porcentaje de fibra dietaria total es inferior al del aguacate Hass fresco y el SUPA, esto es debido a que en el caso del SUPA la fibra se pudo concentrar debido a la pérdida de aceite y agua (Yang *et al.*, 2019). En el caso del análogo de queso la adición de almidón aumenta el contenido de carbohidratos y por lo tanto se ve alterada la relación de fibra respecto a estos.

La cantidad de fibra dietaria total en el análogo de queso es suficiente para poder considerarlo un producto alto en fibra según las “Directrices para el uso de declaraciones nutricionales y saludables”, una porción aportaría alrededor del 20% de la cantidad de fibra recomendada. Según la FAO y la OMS, es recomendable una ingesta de al menos 25 gramos de fibra dietaria al día. En México, un adulto consume solamente entre 16 y 18 gramos; por ello es de importancia el consumo de alimentos ricos en fibra (SSA, 2020). La importancia en su consumo recae en que se ha reportado que la ingesta de fibra en la dieta diaria puede conferir varios beneficios a la salud tales como la prevención o reducción de desórdenes intestinales y el decremento en el riesgo de padecer enfermedades coronarias y diabetes tipo 2 (Mudgil & Barak, 2013).

Además, Chaves *et al.* (2013), elaboraron galletas usando harina de pulpa de aguacate variedad Margarida, reportando características similares a las de la harina y harina integral de trigo, encontrando que las galletas poseían niveles más altos de minerales y fibra. De acuerdo a los resultados obtenidos, SUPA puede ser un ingrediente potencial para el desarrollo de alimentos debido a que posee prácticamente las mismas características de la pulpa de aguacate a excepción del aceite y algunos compuestos no polares como, por ejemplo, carotenos.

Tabla 6. Contenido de fibra dietaria total, soluble e insoluble en pulpa de aguacate Hass, SUPA, APC y el análogo de queso.

Parámetro	Aguacate Hass (pulpa)	SUPA	APC*	Análogo de queso
<b>Fibra total</b>	5.6 ± 0.1 <sup>c</sup>	24.1 ± 0.09 <sup>a</sup>	3.0 ± 0.3 <sup>d</sup>	21.5 ± 0.2 <sup>b</sup>
<b>Fibra soluble</b>	1.5 ± 0.2 <sup>b</sup>	2.5 ± 0.8 <sup>b</sup>	0.5 ± 0.0 <sup>c</sup>	4.0 ± 0.6 <sup>a</sup>
<b>Fibra insoluble</b>	4.0 ± 0.3 <sup>c</sup>	21.6 ± 0.4 <sup>a</sup>	2.7 ± 0.1 <sup>d</sup>	17.6.0 ± 0.5 <sup>b</sup>

SUPA = Subproducto de pulpa de aguacate. Valores expresados porcentaje. Los valores representan la media de tres experimentos independientes ± la desviación estándar. Letra diferente por fila indica diferencia significativa entre medias en la prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ ). \*Valores reportados por Morales-Polanco *et al.* (2017).

Respecto al contenido de almidón en el análogo pudo observarse que éste representa un pequeño porcentaje del producto (Tabla 7). Por tanto, la mayoría de las calorías en el producto son provenientes de la proteína y muy pocas de carbohidratos. De hecho, el aporte calórico del producto es relativamente bajo si se considera su aporte de 102 kcal/100 g que es similar al de varios quesos tipo crema denominados *light*.

Cabe mencionar que el análogo presenta una cantidad similar de carbohidratos disponibles que varios quesos untables en el mercado (~7 g), pero con la mitad o menos calorías que éstos (alrededor de 300 kcal). Además, el análogo presenta un contenido calórico similar al del tofu (~100 kcal) y con aproximadamente el doble de contenido en proteína que esta opción (~6 g).

Tabla 7. Contenido de almidón total, disponible y resistente el análogo de queso.

Parámetro	Análogo de queso
<b>Almidón total</b>	8.4 ± 0.2
<b>Almidón disponible</b>	7.5 ± 0.2
<b>Almidón resistente</b>	0.9 ± 0.1

Los valores representan la media de tres experimentos independientes ± desviación estándar. Valores expresados en porcentaje de la muestra en fresco para almidón total, disponible y resistente.

#### 6.5.2. Contenido de compuestos fenólicos totales

En la Figura 8 se observa el contenido de fenoles totales en el aguacate, el SUPA, el APC y el análogo de queso; observándose una disminución significativa en este último. Este decremento en la cantidad de compuestos fenólicos totales se atribuye a un efecto de dilución. Los resultados obtenidos para el aguacate son similares a los obtenidos por Wang *et al.* (2010) y Rodríguez-Carpena *et al.* (2011). Mientras que para el SUPA se obtuvieron resultados similares a los reportados por Yang *et al.* (2019).

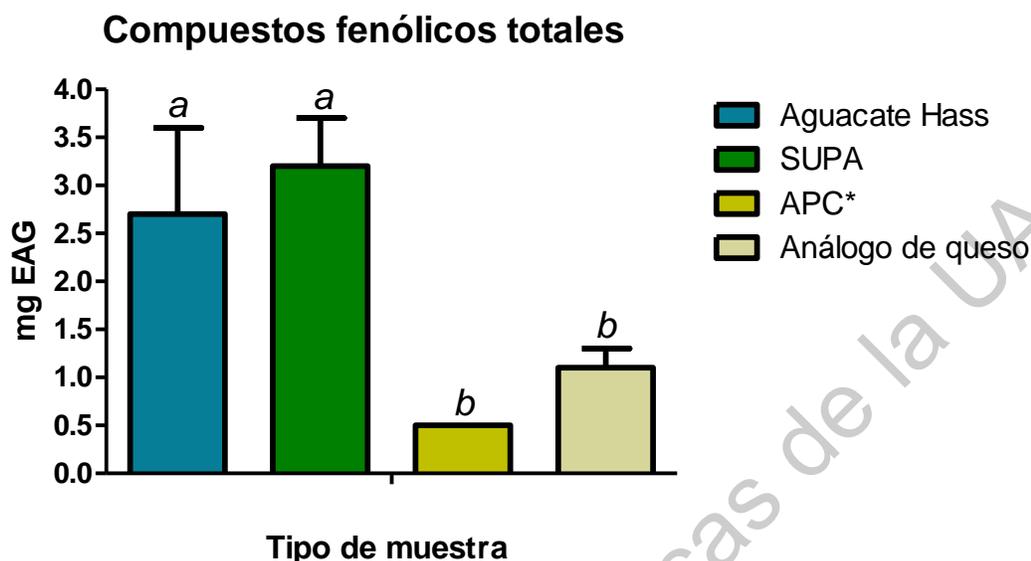


Figura 8. Contenido de compuestos fenólicos de aguacate Hass, SUPA, APC y el análogo de queso. SUPA = Subproducto de pulpa de aguacate; APC = Aislado proteico de chícharo. Cada valor representa la media de tres experimentos  $\pm$  desviación estándar y son expresados como mg equivalentes de ácido gálico (mg EAG) por gramo de la materia en base seca. Letra diferente indica diferencia significativa entre medias en la prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ ).

### 6.5.3. Perfil de compuestos fenólicos por HPLC-DAD

Se pudieron identificar a los ácidos cafeico y clorogénico en las muestras de SUPA y el análogo de queso (Tabla 8). La señal para el ácido cafeico fue detectada al tiempo de retención (TR) de 11.6 min aproximadamente y a la longitud de 330 nm. En tanto que el ácido clorogénico fue detectado al TR de 9.4 min aproximadamente y a la longitud de onda de 330 nm.

En la bibliografía consultada no hay estudios sobre el perfil de compuestos fenólicos para el subproducto de la pulpa de aguacate. Por lo que éstos son los primeros datos obtenidos, no obstante, ya se han reportado datos de la pulpa (intacta) de este fruto. La mayoría de los estudios en subproductos del aguacate son realizados sobre la semilla y la cáscara, las cuales han mostrado una buena capacidad

antioxidante y un perfil de compuestos fenólicos que pudieran ser usados por su actividad biológica (Rodríguez-Carpena *et al.*, 2011; Calderón-Oliver *et al.*, 2016; López-Cobo *et al.*, 2016; Tremocoldi *et al.*, 2018).

Por lo que se refiere al SUPA los datos más bajos que los obtenidos por López-Cobo *et al.* (2016), en donde para pulpa de aguacate óptimo para consumo encontró un valor de 9.8 mg/kg de glucósido de ácido cafeico mediante el uso de HPLC-DAD-ESI-QTOF-MS y HPLC-FLD-MS, En otro estudio realizado por Mpai & Sivakumar (2020), fueron analizados varios cultivos en diferentes temporadas de crecimiento, encontrando valores de ácido clorogénico de 0.0 – 8.8 mg/kg y para ácido cafeico de 5.1 – 9.2 mg/kg. Cabe destacar que entre ambos estudios existen diferencias entre el perfil obtenido de compuestos fenólicos. En el caso de este estudio las variables que pudieron afectar la extracción y cuantificación de estos compuestos pueden ser debidas a la matriz de la muestra ya que, en el caso del SUPA la matriz después de la extracción del aceite pudo haber sufrido cambios debidos a procesos de oxidación por la exposición al ambiente y el calentamiento. Mientras que en el caso del análogo la matriz fue modificada por la adición de ingredientes tales como el almidón y la proteína que se saben pueden formar interacciones con compuestos fenólicos (Zhu, 2015).

Tabla 8. Perfil de compuestos fenólicos del SUPA y el análogo de queso.

	Ácido cafeico (mg/kg)	Ácido Clorogénico (mg/kg)
<b>SUPA</b>	4.82 ± 0.36	10.99 ± 0.01
<b>Análogo de queso</b>	2.84 ± 0.01	3.94 ± 0.26

Los valores representan la media de tres experimentos independientes ± desviación estándar. Valores expresados en mg por kg de materia seca.

## 6.6. Propiedades fisicoquímicas del SUPA

El índice de absorción de agua es considerado un indicador de cambios estructurales en las matrices alimentarias. Resulta de utilidad para conocer la cantidad de agua que puede ser absorbida por algunas macromoléculas como el almidón y ha sido usado como un indicador de la gelatinización y grado de cocción de materiales (Rocha-Guzmán et al., 2008; Rodríguez-Miranda et al., 2011).

El resultado mostrado en la Tabla 9 para el índice de absorción de agua (IAA) es inferior al reportado por Yang et al. (2019), quienes reportan 6.60 g de agua/g de muestra. Casi el doble del valor obtenido en este trabajo para el SUPA. La diferencia en estos resultados puede ser atribuida a que en el caso del aislado proteico de aguacate partían de un material con bajo contenido de humedad (4%), mientras que el SUPA posee una humedad mayor (65%). Estas diferencias, entre materiales de partida explicaría porque el aislado proteico muestra mayor absorción de agua que el SUPA, ya que, aunque éste posea más compuestos hidrofílicos como fibra dietaria soluble y otros carbohidratos simples; también posee desde un inicio mayor cantidad de agua contenida en su matriz (Kinsella & Melachouris, 1976; Kaur & Singh, 2005).

En el caso del índice de absorción de aceite (Tabla 9), el valor es bajo comparado al reportado para el aislado proteico de aguacate (5.5 g de aceite/g de muestra) reportado por Yang et al. (2019). Las diferencias en estos valores al igual que en el IAA pueden deberse a la matriz alimentaria. Generalmente, la presencia de compuestos no polares aumenta el índice de absorción de aceite. Dado que la mayoría de estos compuestos debieron irse del SUPA al realizar la extracción del aceite de la pulpa del aguacate, es lógico pensar que su capacidad para retener aceite tiene que ser baja respecto al aislado proteico de aguacate que puede ser rico en residuos aminoacídicos no polares que pudieran interactuar con el aceite (Kinsella & Melachouris, 1976).

El índice de solubilidad se ha relacionado con la cantidad de sustancias solubles presentes en los alimentos. Puede usarse como parámetro de la degradación molecular o del comportamiento de un material al ser procesado (Anderson *et al.*, 1970). Es de esperarse que en la matriz del SUPA permanecieran gran parte de los compuestos solubles en agua debido a la remoción del aceite y a la concentración de estos compuestos, tales como la fibra soluble.

Respecto a la acidez titulable que representa el total de ácidos orgánicos libres, usualmente se toma el ácido orgánico mayoritario en la muestra. Para el caso del SUPA se tomó como ácido mayoritario el ácido cítrico ya que éste fue adicionado en el proceso de extracción del aceite para evitar el deterioro. Los valores de acidez obtenidos (Tabla 9) son cinco veces mayores a los obtenidos por Elez-Martinez *et al.* (2005). Aunque cabe señalar que la adición realizada de este ácido en el puré realizado por este grupo de investigadores fue simplemente para ajustar el pH a 4 y en el caso de este proyecto el valor fue desde un inicio fijado para preservar la pulpa desgrasada.

Tabla 9. Propiedades físico química del SUPA.

Parámetro	Valor
<b>Índice de absorción de agua (g agua/g muestra)</b>	3.51 ± 0.18
<b>Solubilidad en agua (%)</b>	29.61 ± 2.58
<b>Índice de absorción de aceite (g aceite/g muestra)</b>	1.10 ± 0.14
<b>Acidez titulable (g equivalentes de ác. cítrico)</b>	0.12 ± 0.00
<b>Color</b>	L* 50.475
	b* -0.05
	b* 24.67

Los valores representan la media de tres experimentos independientes ± la desviación estándar.

#### 6.7. Análisis reológico del análogo de queso tipo untable

Las propiedades viscoelásticas son muy útiles para la caracterización de la fuerza en las estructuras internas de los alimentos. Se puede conocer la estructura interna

de un material para conocer su componente elástico (modulo  $G'$ ) y su componente viscoso ( $G''$ ), esto mediante el sometimiento del material a pequeñas amplitudes de oscilación dentro su región viscoelástica lineal (RVL). Las medidas en esta región son especialmente útiles para el entendimiento en la estructura de los quesos (Gunasekaran & Ak, 2002).

El valor crítico de deformación (*strain* en inglés) para el análogo fue aproximadamente de 0.7%, mientras que para el queso comercial fue del 0.3% y para el tofu de 1.5%. Estos valores son consistentes al de la mayoría de los quesos untables, encontrándose típicamente el límite de deformación viscoelástica lineal en 1% o menos (Gunasekaran & Ak, 2002).

En la Figura 9, se puede observar la diferencia entre los valores críticos de deformación. En el caso del queso comercial, la mayor rigidez podría atribuirse a su mayor contenido de grasa (26 g/100 g), debido a que la solidificación de la grasa durante el enfriado contribuye a la rigidez de la matriz proteica de caseína y reduce la flexibilidad de su estructura (Prentice, 1992). En el caso del tofu, la menor rigidez puede deberse al menor contenido de grasa (6.6 g/100 g) y a la falta de un espesante como es el caso del almidón y el agar-agar contenidos en el análogo de queso. Se ha observado que el uso de almidones nativos de papa, maíz y trigo refuerzan la estructura de los análogos de queso (Mounsey & O'Riordan, 2001).

En cuanto a los resultados de la prueba dinámica de barrido de frecuencia (Figura 10), se observó que las muestras tenían un valor de  $G'$  mayor al de  $G''$ , sugiriendo que todas las muestras medidas exhibieron un comportamiento parecido a un sólido y estructura densa propia. Comportamientos similares a los encontrados en este estudio han sido reportados por Kealy (2006), Zulkurnain *et al.* (2008), y Li *et al.* (2013). Es de resaltarse que los valores de  $G'$  en el análogo fueron muy similares a los obtenidos en el queso comercial, indicando que podrían ser usados de la misma forma.

En el caso del tofu, se observó un  $G'$  mucho mayor al del queso comercial y el análogo. Esto indica que el tofu posee un comportamiento menos elástico y tiene menos fuerzas cohesivas internas comparado con el análogo y el queso comercial. El mayor contenido de humedad puede ser el responsable de las propiedades viscosas y la menor elasticidad como lo sugieren estudios realizados por *Lee et al.* (2004) y *Zulkurnain et al.* (2008).

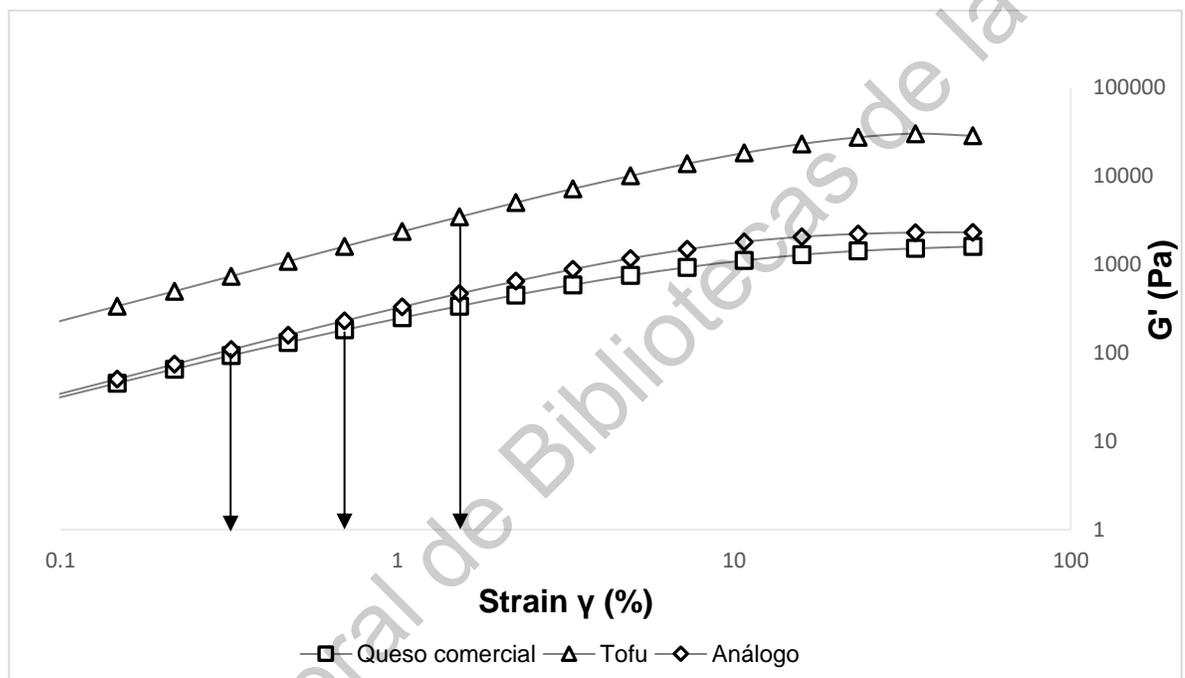


Figura 9. Región viscoelástica lineal para un queso tipo untable comercial, tofu y el análogo de queso tipo untable.

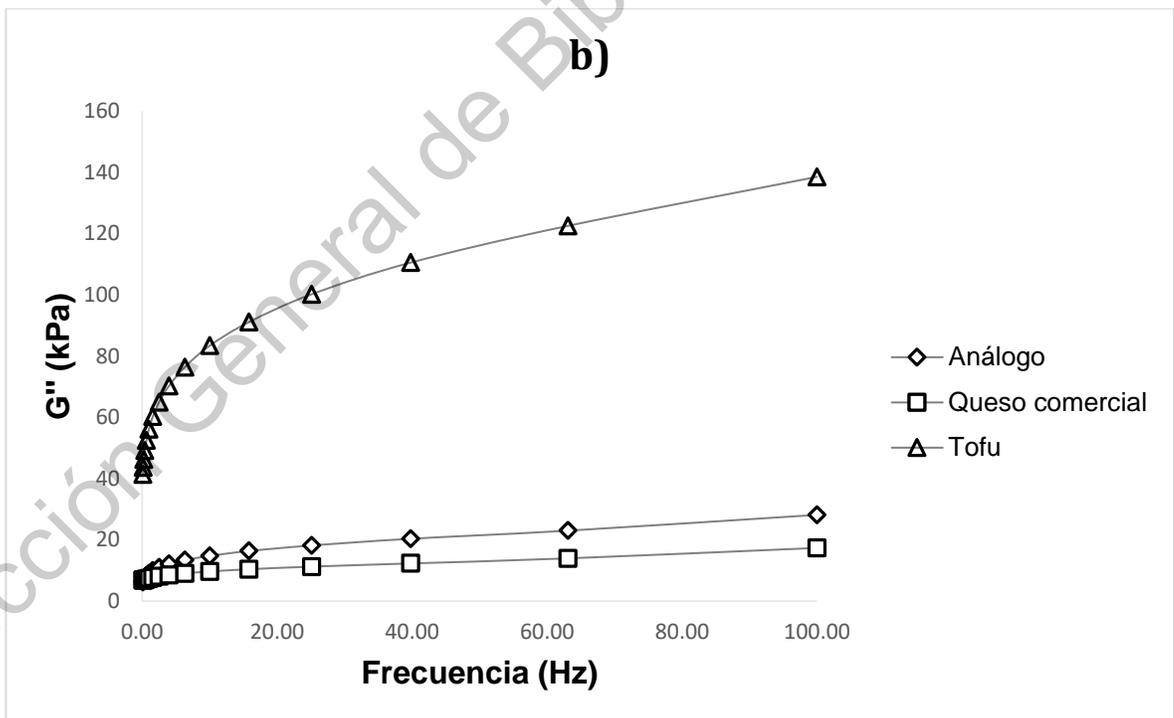
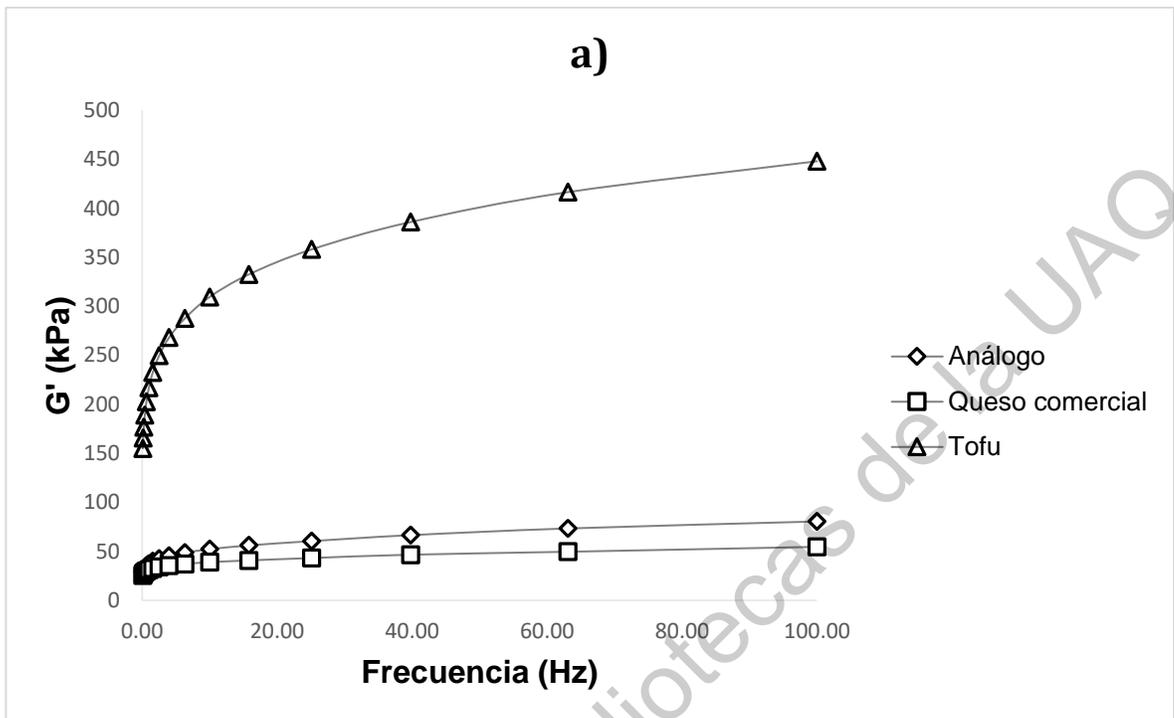


Figura 10. Barrido de frecuencia para un queso tipo unttable comercial, tofu y el análogo de queso tipo unttable a) modulo elástico ( $G'$ ) y b) modulo viscoso ( $G''$ ).

## 7. CONCLUSIONES

El análogo de queso tipo untable producido a base de pulpa desgrasada de aguacate y aislado proteico de chícharo mostró tener propiedades reológicas similares a los productos de queso untable comerciales. La adición de almidón y agar-agar afectaron positivamente la untabilidad del producto. Además, el producto elaborado presentó ventajas en la composición respecto a los quesos comerciales y análogos no lácteos, siendo el análogo a base de SUPA y proteína de chícharo mayor en nutrientes como proteínas de buena digestibilidad y calcio respecto a los análogos comerciales. Así mismo, el análogo mostró ser una opción baja en grasa y en calorías respecto a los quesos untables comerciales. Como otro punto a resaltar, el análogo de queso tipo untable presentó un alto contenido de fibra, pudiendo aportar en una porción de 30 g hasta el 20% de la ingesta de fibra dietaria total recomendada en la población mexicana. No obstante, deben ser realizadas pruebas sensoriales sobre el producto para poder considerarlo una opción que pueda competir en el mercado de los análogos de queso.

## 8. REFERENCIAS

- Aguilar-Vázquez, G., Loarca-Piña, G., Figueroa-Cárdenas, J. D., & Mendoza, S. (2018). Electrospun fibers from blends of pea (*Pisum sativum*) protein and pullulan. *Food Hydrocolloids*, 83, 173–181.
- Anderson, R. A., Conway, H., & Peplinski, A. J. (1970). Gelatinization of corn grits by roll cooking, extrusion cooking and steaming. *Starch-Stärke*, 22(4), 130-135.
- Anderson, J. W., Baird, P., Davis, R. H., Ferreri, S., Knudtson, M., Koraym, A., Waters, V., Williams, C. L. (2009). Health benefits of dietary fiber. *Nutrition Reviews*, 67(4), 188–205.

- Antasionas, I., Riyanto, S., & Rohman, A. (2017). Antioxidant activities and phenolics contents of avocado (*Persea americana* Mill.) peel *in vitro*. *Research Journal of Medicinal Plants*, 11(2), 55–61.
- AOAC. (2002). *Official methods of analysis* (Vol. 222). Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.
- Araújo, R. G., Rodriguez-Jasso, R. M., Ruiz, H. A., Pintado, M. M. E., & Aguilar, C. N. (2018). Avocado by-products: Nutritional and functional properties. *Trends in Food Science and Technology*, 80, 51–60.
- Ayala-Zavala, J. F., Vega-Vega, V., Rosas-Domínguez, C., Palafox-Carlos, H., Villa-Rodriguez, J. A., Siddiqui, M. W., González-Aguilar, G. A. (2011). Agro-industrial potential of exotic fruit byproducts as a source of food additives. *Food Research International*, 44(7), 1866–1874.
- Bäckström, N., Egeman, H., & Mattsson, H. (2018). *Why do companies produce vegan and vegetarian products imitated with real meat products? Exploring a virgin topic on the Swedish market* (Tesis de pregrado). Universidad de Jönköping, Suecia: Jönköping.
- Badem, A., & Ucar, G. (2016). Cheese analogues: Review article. *Journal of Food and Dairy Technology*, 4(3), 44–48.
- Boulter, D. (1983). Regulation of storage protein synthesis and deposition in developing pea seeds. World crops: production, utilization, description. *Food and Agriculture Organization of the United Nations*.
- Calderón-Oliver, M., Escalona-Buendía, H. B., Medina-Campos, O. N., Pedraza-Chaverri, J., Pedroza-Islas, R., & Ponce-Alquicira, E. (2016). Optimization of the antioxidant and antimicrobial response of the combined effect of nisin and avocado byproducts. *LWT-Food Science and Technology*, 65, 46-52.

- Cardador-Martínez, A., Castaño-Tostado, E., & Loarca-Piña, G. (2002). Antimutagenic activity of natural phenolic compounds present in the common bean (*Phaseolus vulgaris*) against aflatoxin B1. *Food Additives and Contaminants*, 19(1), 62–69.
- Ceballos, A., & Montoya, S. (2013). Evaluación química de la fibra en semilla, pulpa y cáscara de tres variedades de aguacate. *Bioteología En El Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 11(1), 103–112.
- Chaves, M. A., Mendonça, C. R. B., Borges, C. D., & Porcu, O. M. (2013). Elaboração de biscoito integral utilizando óleo e farinha da polpa de abacate. *Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, 31(2).
- Chia, T. W., & Dykes, G. A. (2010). Antimicrobial activity of crude epicarp and seed extracts from mature avocado fruit (*Persea americana*) of three cultivars. *Pharmaceutical Biology*, 48(7), 753–756.
- Cie. (2004). CIE technical report. *Colorimetry, 3rd Edition*, 552, 24
- Dorantes-Álvarez, L., & Ortiz-Moreno, A. (2006). *WO Patent 2006/004388 A1*. México, DF: México.
- Dreher, M. L., & Davenport, A. J. (2013). Hass avocado composition and potential health effects. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53(7), 738–750.
- Duranti, M. (2006). Grain legume proteins and nutraceutical properties. *Fitoterapia*, 77(2), 67–82.
- EDLONG. (2019). The 7 Top Industry Food Trends 2020. Disponible en: <https://www.edlong.com/the-7-top-industry-food-trends-2020/>

- Elez-Martinez, P., Soliva-Fortuny, R. C., Gorinstein, S., & Martin-Belloso, O. (2005). Natural antioxidants preserve the lipid oxidative stability of minimally processed avocado purée. *Journal of food science*, 70(5), S325-S329.
- Figuroa, J. G., Borrás-Linares, I., Lozano-Sánchez, J., & Segura-Carretero, A. (2018). Comprehensive characterization of phenolic and other polar compounds in the seed and seed coat of avocado by HPLC-DAD-ESI-QTOF-MS. *Food Research International*, 105, 752–763.
- Fonseca-Duarte, P., Alves-Chaves, M., Dillinghausen-Borges, C., & Barboza-Mendonça, C. R. (2016). Avocado: Characteristics, health benefits, and uses. *International News on Fats, Oils and Related Materials*, 28(3), 28–32.
- Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M., & McSweeney, P. L. H. (2016). Fundamentals of cheese science. In *Fundamentals of Cheese Science*.
- Goñi, I., Garcia-Alonso, A., & Saura-Calixto, F. (1997). A starch hydrolysis procedure to estimate glycemic index. *Nutrition Research*, 17(3), 427-437.g
- Guinee TP (2011) Cheese analogues. In: Fuquay JW, Fox PF, McSweeney PLH (eds) *Encyclopedia of Dairy Sciences*, vol 1, 2nd edn. Academic, San Diego, pp 814–821
- Guinee, T.P. (2016) Protein in cheese and cheese products: structure-function relationships. In *Advance dairy chemistry* (pp. 347-415). Springer, New York, NY.
- Gunasekaran, S., & Ak, M. M. (2002). *Cheese rheology and texture*. CRC press.
- Hedenus, F., Wirsenius, S., & Johansson, D. J. A. (2014). The importance of reduced meat and dairy consumption for meeting stringent climate change targets. *Climatic Change*, 124(1–2), 79–91

- Heravi, A. S., & Michos, E. D. (2019). Vitamin D and calcium supplements: helpful, harmful, or neutral for cardiovascular risk?. *Methodist DeBakey cardiovascular journal*, 15(3), 207.
- Herrera-Basurto, J., Martínez-Damián, M.T, Castillo-González, MC., Barrientos-Priego, A.F., Colinas-León, M.T., Pérez-Mercado, C.A., Aguilar-Melchor, J. (2008). Concentración nutrimental en hoja, cáscara y pulpa de aguacate CV. “fuerte” por efecto de aspersiones foliares de nitrato de calcio. *Agricultura Técnica en México*, 34(3), 289–295
- Hoffman, J. R., & Falvo, M. J. (2004). Protein—which is best?. *Journal of sports science & medicine*, 3(3), 118.
- Hsu, H. W., vavak, D. L., satterlee, L. D., & miller, G. A. (1977). A multienzyme technique for estimating protein digestibility. *Journal of Food Science*, 42(5), 1269–1273.
- Hurtado-Fernández, E., Fernández-Gutiérrez, A., & Carrasco-Pancorbo, A. (2018). Avocado fruit— *Persea americana*. *Exotic Fruits*, 37–48.
- Kala, H.R., Mehta, R., Mandal, V., Tandey, R., & Sen, K. K. (2016). Ten years of research on phenolics (2005–2015): A status report. *Pacific Science Review A: Natural Science and Engineering*, 18(1), 1–4.
- Kaur, M., & Singh, N. (2005). Studies on functional, thermal and pasting properties of flours from different chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars. *Food chemistry*, 91(3), 403-411.
- Kealy, T. (2006). Application of liquid and solid rheological technologies to the textural characterisation of semi-solid foods. *Food research international*, 39(3), 265-276.

- Kinsella, J. E., & Melachouris, N. (1976). Functional properties of proteins in foods: a survey. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 7(3), 219-280.
- Kosińska, A., Karamać, M., Estrella, I., Hernández, T., Bartolomé, B., & Dykes, G. A. (2012). Phenolic compound profiles and antioxidant capacity of *Persea americana* Mill. peels and seeds of two varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(18), 4613–4619.
- Lee, S. K., Anema, S., & Klostermeyer, H. (2004). The influence of moisture content on the rheological properties of processed cheese spreads. *International journal of food science & technology*, 39(7), 763-771.
- Leopoldini, M., Russo, N., & Toscano, M. (2011). The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. *Food Chemistry*, 125(2), 288–306.
- Li, H., Prairie, N., Udenigwe, C. C., Adebisi, A. P., Tappia, P. S., Aukema, H. M., & Aluko, R. E. (2011). Blood pressure lowering effect of a pea protein hydrolysate in hypertensive rats and humans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(18), 9854–9860.
- Li, Q., Xia, Y., Zhou, L., & Xie, J. (2013). Evaluation of the rheological, textural, microstructural and sensory properties of soy cheese spreads. *Food and bioproducts processing*, 91(4), 429-439.
- López-Cobo, A., Gómez-Caravaca, A. M., Pasini, F., Caboni, M. F., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2016). HPLC-DAD-ESI-QTOF-MS and HPLC-FLD-MS as valuable tools for the determination of phenolic and other polar compounds in the edible part and by-products of avocado. *LWT - Food Science and Technology*, 73, 505–513.

- Mangano, K. M., & Tucker, K. L. (2017). Bone health and vegan diets. In *Vegetarian and Plant-Based Diets in Health and Disease Prevention* (pp. 315-331). Academic Press.
- Marketwatch. (2019). At 11.5% CAGR, Analog Cheese Market Size is expected Growth, Forecast to 2024. Disponible en: <https://www.marketwatch.com/press-release/at-115-cagr-analog-cheese-market-size-is-expected-growth-forecast-to-2024---research-report-by-360-research-report-2019-10-15>
- Masotti, F., Cattaneo, S., Stuknytė, M., & De Noni, I. (2018). Status and developments in analogue cheese formulations and functionalities. *Trends in Food Science and Technology*, 74, 158–169.
- McCrudden, F. H. (1909) The quantitative separation of calcium and magnesium in the presence of phosphates and small amounts of iron devised especially for the analysis of foods, urine, and feces. *J. Biol. Chem.*, vii, 83.
- Melgar, B., Días, M. I., Ciric, A., Sokovic, M., García-Castello, E. M., Rodríguez-López, A. D., & Ferreira, I. C. R. F. (2018). Bioactive characterization of *Persea americana* Mill. by-products: A rich source of inherent antioxidants. *Industrial Crops and Products*, 111, 212–218.
- Ministerio de salud de Perú (MINSA). (2010). Estudio sobre tendencias de consumo de alimentos. Disponible en: <http://bvs.minsa.gob.pe/local/minsa/2603.pdf>
- Morales-Polanco, E., Campos-Vega, R., Gaytán-Martínez, M., Enriquez, L. G., & Loarca-Piña, G. (2017). Functional and textural properties of a dehulled oat (*Avena sativa* L) and pea (*Pisum sativum*) protein isolate cracker. *Lwt*, 86, 418–423.
- Mounsey, J.S., & O’Riordan, E.D. (2001). Characteristics of imitation cheese containing native starches. *Journal of Food Science*, 66(4), 586–591.

- Mpai, S., & Sivakumar, D. (2020). Influence of growing seasons on metabolic composition, and fruit quality of avocado cultivars at 'ready-to-eat stage'. *Scientia Horticulturae*, 265, 109159.
- Mudgil, D., & Barak, S. (2013). Composition, properties and health benefits of indigestible carbohydrate polymers as dietary fiber: A review. *International journal of biological macromolecules*, 61, 1-6.
- Muneer, F., Markedal, K. E., Plivelic, T. S., Kuktaite, R., Sørensen, J. C., Hedenqvist, M. S., & Petersen, I. L. (2018). The impact of newly produced protein and dietary fiber rich fractions of yellow pea (*Pisum sativum* L.) on the structure and mechanical properties of pasta-like sheets. *Food Research International*, 106, 607–618.
- Naveh, E., Werman, M.J., Sabo, E., Neeman, I. (2002). Nutrient metabolism defatted avocado pulp reduces body weight and total hepatic fat but increases plasma cholesterol in male rats fed diets with cholesterol. *American Society for Nutritional Science*, 132(7), 2015–2018
- Organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura (FAO). (2017a). SAVE FOOD: Iniciativa mundial sobre la reducción de la pérdida y el desperdicio de alimentos. Disponible en: <http://www.fao.org/save-food/recursos/keyfindings/es/>
- Organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura (FAO). (2017b). El futuro de la alimentación y la agricultura: tendencias y desafíos. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-i6881s.pdf>
- Organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura (FAO). (2017c) Agronoticias: actualidad agropecuaria de América Latina y el Caribe. Disponible en: <http://www.fao.org/in-action/agronoticias/detail/es/c/506038/>

Organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura (FAO). (2020). Directrices para el uso de declaraciones nutricionales y saludables. Disponible en: <http://www.fao.org/ag/humannutrition/33313-033ebb12db9b719ac1c14f821f5ac8e36.pdf>

Osen, R., Toelstede, S., Eisner, P., & Schweiggert-Weisz, U. (2015). Effect of high moisture extrusion cooking on protein-protein interactions of pea (*Pisum sativum* L.) protein isolates. *International Journal of Food Science and Technology*, 50(6), 1390–1396.

Padilla-Camberos, E., Martínez-Velázquez, M., Flores-Fernández, J. M., & Villanueva-Rodríguez, S. (2013). Acute toxicity and genotoxic activity of avocado seed extract (*Persea americana* Mill., c.v. Hass). *The Scientific World Journal*, 1–4.

Palafox-Carlos, H., Ayala-Zavala, J. F., & González-Aguilar, G. A. (2011). The role of dietary fiber in the bioaccessibility and bioavailability of fruit and vegetable antioxidants. *Journal of Food Science*, 76(1), 6–15.

Pérez-Jiménez, J., & Viuda-Martos, M. (2015). Introduction to the special issue byproducts from agri-food industry: new strategies for their revalorization. *Food Research International*, 73, 1–2.

Phaniendra, A., Jestadi, D. B., & Periyasamy, L. (2015). Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 30(1), 11–26.

Prasad, K. N., & Bondy, S. C. (2018). Dietary fibers and their fermented short-chain fatty acids in prevention of human diseases. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 17, 100170.

Prentice, J. H. (1992). Dairy rheology: a concise guide. VCH Publishers.

- Rahman, M. S., & Labuza, T. P. (2007). Water activity and food preservation. In Handbook of food preservation (pp. 465-494). CRC Press.
- Ravindran, R., & Jaiswal, A. K. (2016). Exploitation of food industry waste for high-value products. *Trends in Biotechnology*, 34(1), 58–69.
- Richter, M., Boeing, H., Grünewald-Funk, D., Heseker, H., Kroke, A., Leschik-Bonnet, E., & Watzl, B. (2016). For the German Nutrition Society (DGE). (2016). Vegan diet. Position of the German Nutrition Society (DGE). *Ernährungs Umschau*, 63(04), 92-102.
- Rocha-Guzmán, N. E., Gallegos-Infante, J. A., Gonzalez-Laredo, R. F., Bello-Perez, A., Delgado-Licon, E., Ochoa-Martinez, A., & Prado-Ortiz, M. J. (2008). Physical properties of extruded products from three Mexican common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars. *Plant Foods for Human Nutrition*, 63(3), 99-104
- Rodríguez-Carpena, J. G., Morcuende, D., Andrade, M. J., Kylli, P., & Estevez, M. (2011). Avocado (*Persea americana* Mill.) phenolics, *in vitro* antioxidant and antimicrobial activities, and inhibition of lipid and protein oxidation in porcine patties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(10), 5625–5635.
- Rodríguez-Miranda, J., Ruiz-López, I. I., Herman-Lara, E., Martínez-Sánchez, C. E., Delgado-Licon, E., & Vivar-Vera, M. A. (2011). Development of extruded snacks using taro (*Colocasia esculenta*) and nixtamalized maize (*Zea mays*) flour blends. *LWT-Food Science and Technology*, 44(3), 673-680.
- Sadler, M. J. (2004). Meat alternatives: market developments and health benefits. *Trends in Food Science and Technology*, 15(5), 250–260.
- Santana, I., dos Reis, L. M. F., Torres, A. G., Cabral, L. M. C., & Freitas, S. P. (2015). Avocado (*Persea americana* Mill.) oil produced by microwave drying and

expeller pressing exhibits low acidity and high oxidative stability. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 117(7), 999–1007.

Santos, C.D.M., Pagno, C.H., Haas-Costa, T.M., Luvizetto-Faccin, D.J., Hickmann-Flores, S., Medeiros-Cardozo, N.S. (2016). Biobased polymer films from avocado oil extraction residue: Production and characterization. *Journal of Applied Polymer Science*, 133(37), 1–9.

Saura-Calixto, F., Goñi, I., Bravo, L., & Mañas, E. (1993). Resistant starch in foods: modified method for dietary fiber residues. *Journal of Food Science*, 58(3), 642-643.

Saura-Calixto, F. (2011). Dietary fiber as a carrier of dietary antioxidants: An essential physiological function. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(1), 43–49.

Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). (2017). Planeación agrícola nacional 2017-2030: aguacate mexicano. Disponible en: <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/257067/Potencial-Aguacate.pdf>

Secretaría de salud (SSA). (2010). NOM-243-SSA1-2010, productos y servicios. leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba. Disponible en: [http://dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5160755&fecha=27/09/2010](http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5160755&fecha=27/09/2010)

Secretaría de salud (SSA). (2020). ¿Cuánta fibra dietética se debe consumir? Disponible en: [http://dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5160755&fecha=27/09/2010](http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5160755&fecha=27/09/2010)

- Shahidi, F., & Yeo, J. (2018). Bioactivities of phenolics by focusing on suppression of chronic diseases: A review. *International journal of molecular sciences*, 19(6), 1573.
- Shiga, T. M., Lajolo, F. M., & Filisetti, T. M. C. C. (2003). Cell wall polysaccharides of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 23(2), 141–148.
- Singleton, V. L., & Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144–158.
- Sun, X. D., & Arntfield, S. D. (2011). Gelation properties of salt-extracted pea protein isolate induced by heat treatment: effect of heating and cooling rate. *Food Chemistry*, 124(3), 1011–1016.
- Tremocoldi, M. A., Rosalen, P. L., Franchin, M., Massarioli, A. P., Denny, C., Daiuto, É. R., & De Alencar, S. M. (2018). Exploration of avocado by-products as natural sources of bioactive compounds. *PLoS ONE*, 13(2), 1–12.
- Villanueva, N. D. M., Petenate, A. J., & Da Silva, M. A. A. P. (2005). Performance of the hybrid hedonic scale as compared to the traditional hedonic, self-adjusting and ranking scales. *Food Quality and Preference*, 16(8), 691–703.
- Villegas-De Gante, A., & De La Huerta-Benítez, R. (2015). Naturaleza, evolución, contrastes e implicaciones de las imitaciones de quesos mexicanos genuinos. *Estudios Sociales*, 23(45), 213–236.
- Wang, W., Bostic, T. R., & Gu, L. (2010). Antioxidant capacities, procyanidins and pigments in avocados of different strains and cultivars. *Food Chemistry*, 122(4), 1193–1198.

- Wang, J. S., Wang, A. B., Zang, X. P., Tan, L., Xu, B. Y., Chen, H. H., ... & Ma, W. H. (2019). Physicochemical, functional and emulsion properties of edible protein from avocado (*Persea americana* Mill.) oil processing by-products. *Food chemistry*, 288, 146-153.
- Yang, H., Guérin-Deremaux, L., Zhou, L., Fratus, A., Wils, D., Zhang, C., ... & Miller, L. E. (2012). Evaluation of nutritional quality of a novel pea protein. *Agro Food Industry Hi-Tech*, 23(8), 10.
- Yang, C., Zhong, F., Goff, H. D., & Li, Y. (2019). Study on starch-protein interactions and their effects on physicochemical and digestible properties of the blends. *Food chemistry*, 280, 51-58.
- Yashin, A., Yashin, Y., Xia, X., & Nemzer, B. (2017). Antioxidant activity of spices and their impact on human health: a review. *Antioxidants*, 6(3), 70.
- Zhu, F. (2015). Interactions between starch and phenolic compound. *Trends in Food Science & Technology*, 43(2), 129-143.
- Zhou, L., Tey, C. Y., Bingol, G., & Bi, J. (2016). Effect of microwave treatment on enzyme inactivation and quality change of defatted avocado puree during storage. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 37, 61-67.
- Zulkurnain, M., GOH, M. H., Karim, A. A., & LIONG, M. T. (2008). Development of a soy-based cream cheese. *Journal of texture studies*, 39(6), 635-654.