



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
INSTITUTO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

DOCTORADO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS

TESIS DOCTORAL

**SUSTITUCIÓN DE HARINA DE TRIGO POR HARINA DE SEMILLAS
DE PAPAYA (*Carica papaya*): CARACTERÍSTICAS NUTRICIONALES,
FUNCIONALES, MICROBIOLÓGICAS Y SENSORIALES DE PAN DE
CAJA**

Para obtener el grado de
Doctora en Ciencias Agropecuarias

PRESENTA

M.C Elizabeth Mérida Lira

Director

Dr. Javier Piloni Martini

Codirector

Dr. Sergio Soto Simental

Tulancingo de Bravo, Hgo., México., septiembre de 2023



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
INSTITUTO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

DOCTORADO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS

TESIS DOCTORAL

**SUSTITUCIÓN DE HARINA DE TRIGO POR HARINA DE SEMILLAS
DE PAPAYA (*Carica papaya*): CARACTERÍSTICAS NUTRICIONALES,
FUNCIONALES, MICROBIOLÓGICAS Y SENSORIALES DE PAN DE
CAJA**

Para obtener el grado de
Doctora en Ciencias Agropecuarias

PRESENTA

M.C Elizabeth Mérida Lira

Director

Dr. Javier Piloni Martini

Codirector

Dr. Sergio Soto Simental

Asesores

Dra. Aurora Quintero Lira

Dr. Víctor Manuel Martínez Juárez

Dr. César Uriel López Palestina

Tulancingo de Bravo, Hgo., México., septiembre de 2023



01/agosto /2023
Asunto: Autorización de impresión

Mtra. Ojuky del Rocío Islas Maldonado
Directora de Administración Escolar
Presente.

El Comité Tutorial **DR. JAVIER PILONI MARTINI, DR. SERGIO SOTO SIMENTAL, DRA. AURORA QUINTERO LIRA, DR. VÍCTOR MANUEL MARTÍNEZ JUÁREZ y DR. CÉSAR URIEL LÓPEZ PALESTINA** del programa educativo de posgrado titulado **"SUSTITUCIÓN DE HARINA DE TRIGO POR HARINA DE SEMILLAS DE PAPAYA (*Carica papaya*): CARACTERÍSTICAS NUTRICIONALES, FUNCIONALES, MICROBIOLÓGICAS Y SENSORIALES DE PAN DE CAJA"**, realizado por la sustentante **ELIZABETH MÉRIDA LIRA** con número de cuenta **080165** perteneciente al programa de **DOCTORADO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS**, una vez que ha revisado, analizado y evaluado el documento recepcional de acuerdo a lo estipulado en el Artículo 110 del Reglamento de Estudios de Posgrado, tiene a bien extender la presente:

AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN

Por lo que la sustentante deberá cumplir los requisitos del Reglamento de Estudios de Posgrado y con lo establecido en el proceso de grado vigente.

Atentamente
"Amor, Orden y Progreso"
Lugar, Hidalgo a 01 de agosto de 2023

El Comité Tutorial

Dr. Javier Piloni Martini

Nombre y firma del
director

**Dra. Aurora Quintero
Lira**

Nombre y firma del
miembro del comité

Dr. Sergio Soto Simental

Nombre y firma del
Codirector

**Dr. Víctor Manuel
Martínez Juárez**

Nombre y firma del
miembro del comité

**Dr. César Uriel López
Palestina**

Nombre y firma del
miembro del comité



Avenida Universidad Km. 1 s/n, Exhacienda Aquetzalpa,
Tulancingo de Bravo, Hidalgo, México; C.P. 43600
Teléfono +52 (771) 71 72000 ext 2436

www.uaeh.edu.mx

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo de investigación es el fruto de un gran esfuerzo, que conlleva muchos momentos de aprendizaje académico y personal. Esta tesis fue posible gracias al apoyo incondicional de Vladimir, mi esposo, que estuvo a mi lado en los momentos difíciles y a mis hijas, Fernanda y Miranda (mis pequeñas compañeras de sueños), cuya paciencia fue puesta a prueba en incontables ocasiones. A mi comadre Maricela por ser mi guía espiritual.

Gracias, también a mis padres, que me dieron todo lo que necesite, a mi director de tesis Dr. Javier Piloni Martini y a los Doctores: Sergio Soto Simental, Aurora Quintero Lira, Víctor Manuel Martínez Juárez, por haber depositado su confianza en mí para desarrollar esta investigación y por las enseñanzas profesionales, al Dr. Fabián Ricardo Gómez de Anda que me brindo un espacio en el laboratorio de parasitología. Al Dr. César Uriel López Palestina por su tiempo y en especial al Dr. José de Jesús Espino García por sus invaluable conocimientos y consejos en los momentos complicados de la pandemia por Covid-19. A las Químicas Maribel y Claudia encargadas del laboratorio multidisciplinario por otorgarme las facilidades para desarrollar la fase experimental. Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyt) por la beca otorgada, A mis queridos amigos Johan y Ana Paola que formamos un vínculo de hermandad para el resto de nuestras vidas. Gracias, Johan por los momentos de reflexión y conocimiento, gracias, Pao por tú esfuerzo para estar apoyando siempre, a Dulce, Karen y Toñito por su compañía, y a todos aquellos que de alguna manera animaron este proyecto de vida. Gracias infinitas a ustedes y, por su puesto, a Dios, por ponerlos en mi camino.

“An academic degree is just a piece of paper, true education occurs in everyday behavior”

Anonymous

ÍNDICE

Capítulo I. Generalidades de la papaya (*Carica papaya*)

1. Introducción	1
2. Descripción Morfológica de la planta de papaya	3
2.1 Características de la planta de papaya.....	3
2.1.1 Hojas.....	4
2.1.2 Tallo.....	5
2.1.3 Raíz.....	5
2.1.4 Frutos.....	5
2.1.5 Semillas.....	6
2.1.5.1 Compuestos bioactivos en las semillas de papaya.....	7
2.1.5.2 Mirosinasa.....	7
2.1.5.3 Glucosinolatos e isotiocianatos.....	8
3. Justificación	9
4. Objetivos	9
4.1 Objetivo General.....	9
4.2 Objetivos Particulares.....	9
5. Hipótesis	10
6. Referencias bibliográficas	10
 Capítulo II. Análisis proximal, propiedades funcionales y reología de masas adicionadas con harina de semillas de <i>Carica papaya</i>	
Resumen	16

Abstract	16
1. Introducción	17
2. Materiales y métodos	
2.1 Obtención de la materia prima	18
2.2 Elaboración de harina de semillas de papaya (<i>Carica papaya</i>)	18
2.3 Análisis químico proximal de harina de semillas de papaya y harina de trigo	19
2.4 Diseño experimental	19
2.5 Elaboración de pan	19
2.6 Determinación de propiedades funcionales en mezclas de harina de trigo con sustitución parcial de harina de semillas de papaya	20
2.7 Evaluación instrumental del color en harinas de trigo con sustitución parcial de harina de semillas de papaya	20
2.8 Análisis instrumental de textura en masas elaboradas con mezclas de harina de trigo con sustitución parcial de harinas de semillas de papaya	21
2.8.1 Análisis de Perfil de Textura (ATP)	21
2.8.2 Extensibilidad Biaxial	21
2.8.3 Extensibilidad Uniaxial	21
2.8.4 Adhesividad de Chen-Hoseney	22
2.9 Análisis estadístico	22
3. Resultados y Discusión	
3.1 Análisis proximal	22
3.2 Propiedades funcionales en mezclas de harina de trigo con sustitución parcial de harina de semillas de papaya	23
3.3 Evaluación instrumental del color en harinas de trigo con sustitución parcial de harina de semillas de papaya (<i>Carica papaya</i>)	26
3.4 Análisis de Perfil de Textura en masas y panes elaboradas con mezclas de harina de trigo con sustitución parcial de harinas de semillas de papaya	28

3.5 Extensibilidad Biaxial en mezclas de masas de harina de trigo con sustitución parcial de harina de semillas de papaya.....	30
3.6 Extensibilidad Uniaxial en mezclas de masas de harina de trigo con sustitución parcial de harina de semillas de papaya (<i>Carica papaya</i>).....	31
3.7 Adhesividad de Chen-Hoseney en mezclas de masas de harina de trigo con sustitución parcial de harina de semillas de papaya.....	32
4. Conclusiones.....	33
5. Referencias bibliográficas.....	34
Artículo Proximate chemical, functional, and texture characterization of papaya seed flour (<i>Carica papaya</i>) for the preparation of bread.....	39
Capítulo III. Extracción secuencial y caracterización de fracciones proteicas de semillas de papaya (<i>Carica papaya</i>)	
Resumen.....	47
Abstract.....	47
1. Introducción.....	47
2. Materiales y métodos	
2.1 Materia prima.....	48
2.2 Harina de semillas de papaya (<i>Carica papaya</i>).....	49
2.3 Determinación de proteínas.....	49
2.4 Fraccionamiento de proteínas.....	49
2.5 Cuantificación de fracciones proteicas en harinas de semillas de papaya (HSPa) y trigo (HT) por espectrofotometría.....	51
2.6 Determinación del rendimiento y concentración de proteínas.....	53
2.7 Análisis estadístico.....	53
3. Resultados y discusión.....	53
4. Conclusiones.....	55
5. Referencias bibliográficas.....	55

Capítulo IV. Cuantificación de gliadinas y glutelinas en una cinética de fermentación de masas elaboradas con harina de trigo y sustitución parcial de harina de semillas de payaya

Resumen	59
Abstract	59
1. Introducción	60
2. Materiales y métodos	
2.1 Materia prima	60
2.2 Preparación de la masa para la cinética de fermentación	61
2.3 Cuantificación de gluten seco y gluten húmedo	61
2.4 Extracción y cuantificación de prolaminas y glutelinas durante la fermentación de masas elaboradas con harina de trigo y sustitución parcial de harina de semillas de papaya	63
2.5 Volumen de fermentación en masas	64
2.6 Análisis estadístico	64
3. Resultados y discusión	
3.1 Cuantificación de gluten húmedo y gluten seco	64
3.2 Contenido de prolaminas y gluteninas en masas durante la cinética de fermentación	67
3.3 Volumen de fermentación	69
4. Conclusiones	71
5. Referencias bibliográficas	71

Capítulo V. Caracterización electroforética SDS-PAGE de masas fermentadas elaboradas con harina de trigo y sustitución parcial de harina de semillas de papaya (*Carica papaya*)

Resumen	75
Abstract	75
1. Introducción	75
2. Materiales y métodos	

2.1 Materia prima	76
2.2 Elaboración de masas	77
2.3 Extracción de proteínas de masas hechas con harina de trigo y sustitución parcial de harina de semillas de papaya (HSPa), en cinética de fermentación	77
2.3.1 Precipitación de proteína con Ácido Tricloroacético (TCA 20%).....	78
2.4 Preparación del gel de poliacrilamida en condiciones desnaturalizantes (SDS-PAGE)	79
2.4.1 Preparación de soluciones para SDS-PAGE.....	79
1. Preparación del equipo de electroforesis.....	82
2. Preparación del gel separador al 8% de acrilamida en tampón Tris-HCl (0.375 M pH 8.8).....	83
3. Preparación del gel concentrador al 3%.....	83
4. Electroforesis.....	84
5. Preparación de la muestra.....	85
2.4.2 Calculo del peso molecular en bandas de proteínas.....	85
3. Resultados y discusión	86
4. Conclusión	89
5. Referencias bibliográficas	89

Capítulo VI. Análisis morfométrico de pan adicionado con harina de semillas de papaya (*Carica papaya*) usando Image J como técnica digital

Resumen	94
Abstract	94
1. Introducción	95
2. Materiales y métodos	
2.1 Obtención de la harina de semillas de papaya (<i>Carica papaya</i>)	96
2.2 Formulación del pan	96
2.3 Toma de fotografías	97

2.4 Análisis morfométrico	97
2.5 Análisis de color	99
2.6 Determinación de dimensiones y volumen total del pan	99
2.7 Análisis estadístico	99
3. Resultados y discusión	
3.1 Descripción morfométrica del pan	100
3.2 Descripción de color en pan	103
3.3 Descripción morfométrica de la miga de pan	104
3.4 Descripción de color en la miga de pan	108
3.5 Análisis de dimensiones y volumen total de pan	109
4. Conclusiones	110
5. Referencias bibliográficas	110
Capítulo VII. Harina de semillas de papaya (<i>Carica papaya</i>) y su uso potencial como fuente natural de biocompuestos en la elaboración de pan de caja	
Resumen	115
Abstract	115
1. Introducción	116
2. Materiales y métodos	
2.1 Formulación de panes	118
2.2 Elaboración de los panes	119
2.3 Caracterización fitoquímica	119
2.3.1 Capacidad Antioxidante	119
2.3.1.1 Prueba ABTS	119
1. Preparación de la solución madre 1	120
2. Preparación de la solución madre 2	120
3. Preparación de la solución de trabajo ABTS	120
4. Curva de calibración con Trolox	120
5. Procedimiento de ensayo ABTS	121

6. Cálculo del valor ABTS.....	122
2.3.1.2 Prueba FRAP.....	122
1. Preparación de buffer de acetato de sodio 0.3 M (pH 3.6).....	122
2. Preparación de la solución TPTZ.....	122
3. Preparación de la solución de FeCl ₃	123
4. Preparación de la solución de HCl 40mM.....	123
5. Preparación de la solución de trabajo FRAP.....	123
6. Curva de calibración Trolox.....	123
7. Procedimiento de ensayo FRAP.....	124
8. Cálculo del valor FRAP.....	124
2.3.2 Fenoles Totales.....	125
1. Preparación de la solución madre de Ácido Gálico.....	125
2. Preparación de la solución de carbonato de sodio (20%).....	125
3. Preparación de la solución de etanol.....	125
4. Curva de calibración con Ácido Gálico.....	125
5. Procedimiento de ensayo para Fenoles Totales.....	127
6. Cálculo del valor de Fenoles Totales.....	127
2.3.3 β-carotenos.....	128
1. Preparación de la solución de acetona al 80%.....	128
2. Preparación de la muestra.....	128
3. Cuantificación por espectrofotometría.....	128
4. Expresiones para el cálculo de la fracción isócrona de los extractos.....	128
2.4 Análisis estadístico.....	130
3. Resultados y discusión.....	130
3.1 Actividad Antioxidante.....	130
3.2 Fenoles totales.....	134
3.3 Carotenos.....	136

4. Conclusiones	140
5. Referencias bibliográficas	141

Capítulo VIII. Efecto de la adición de harina de semillas de papaya (*Carica papaya*) en las propiedades fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales de pan de caja

Resumen	147
Abstract	147
1. Introducción	148
2. Materiales y métodos	
2.1 Materia prima	149
2.2 Elaboración de pan	150
2.3 Preparación de la muestra	150
2.4 Determinación de la composición proximal en el pan de caja	150
2.4.1 Determinación del contenido de humedad (AOAC 925.10).....	150
2.4.2 Determinación de cenizas AOAC (923.03).....	151
2.4.3 Determinación de proteínas AOAC (929.87).....	151
2.4.4 Determinación de grasa cruda AOAC (920.39).....	152
2.4.5 Determinación de fibra cruda AOAC (962.09).....	153
2.4.6 Determinación de carbohidratos disponibles.....	154
2.4.7 Contenido de energía bruta.....	154
2.5 Determinación de la actividad de agua (a_w) en el pan	154
2.6 Análisis microbiológico del pan	155
2.6.1 Cálculo para el recuento de UFC en alimentos.....	155
2.7 Prueba sensorial afectiva de nivel de agrado	155
2.8 Análisis estadístico	158
3. Resultados y discusión	
3.1. Composición proximal del pan	158
3.2 Actividad de agua (a_w) del pan	161
3.3 Calidad de conservación microbiana del pan con HSPa	163

3.4 Análisis sensorial.....	168
4.Conclusiones.....	171
5. Referencias bibliográficas.....	171

ÍNDICE DE TABLAS

Capítulo II. **Análisis proximal, propiedades funcionales y reología de masas adicionadas con harina de semillas de *Carica papaya***

Tabla 1. Formulación de las mezclas de harina de trigo con sustitución de harinas de semillas de papaya.....19

Tabla 2. Composición fisicoquímica (%) de harina de semillas de papaya (*Carica papaya*) y harina de trigo (*Triticum vulgare*).....23

Tabla 3. Propiedades funcionales en mezclas de harina de trigo con sustitución parcial de harina de semillas de papaya.....25

Tabla 4. Parámetros de color en harinas y pan.....26

Tabla 5. Análisis de perfil de textura (ATP) en masas.....28

Tabla 6. Extensibilidad Biaxial en masas.....30

Tabla 7. Extensibilidad Uniaxial en masas.....31

Tabla 8. Prueba de adhesividad de Chen-Hoseney en masas.....33

Capítulo III. **Extracción secuencial y caracterización de fracciones proteicas de semillas de papaya (*Carica papaya*)**

Tabla 1. Esquema de ensayos para el método de Biuret.....51

Tabla 2. Fracciones proteicas (g/100g) en harinas de semillas de papaya y trigo.....54

Capítulo IV. **Cuantificación de gliadinas y glutelinas en una cinética de fermentación de masas elaboradas con harina de trigo y sustitución parcial de harina de semillas de papaya**

Tabla 1. Contenido de prolaminas (mg/100g) en masas fermentadas.....67

Tabla 2. Contenido de glutelina (mg/100g) en masas fermentadas68

Capítulo V. **Caracterización electroforética SDS-PAGE de masas fermentadas elaboradas con harina de trigo y sustitución parcial de harina de semillas de papaya (*Carica papaya*)**

Tabla 1. Reactivos para preparar el gel separador al 8%.....83

Tabla 2. Reactivos para la preparación del gel concentrador.....83

Capítulo VI. Análisis morfométrico de pan adicionado con harina de semillas de papaya (*Carica papaya*) usando Image J como técnica digital

Tabla 1. Valores de correlación.....	101
Tabla 2. Morfometría de los panes	102
Tabla 3. Análisis granulométrico – alveolar de pan.....	105
Tabla 4. Morfometría para la miga de pan.....	107
Tabla 5. Dimensión y volumen total del pan.....	110

Capítulo VII. Harina de semillas de papaya (*Carica papaya*) y su uso potencial como fuente natural de biocompuestos en la elaboración de pan de caja

Tabla 1. Formulación de pan enriquecido con harina de semillas de papaya.....	118
Tabla 2. Curva de calibración con Trolox para capacidad antioxidante por método ABTS.....	120
Tabla 3. Curva de calibración con Trolox para método FRAP.....	123
Tabla 4. Curva de calibración con Ácido Gálico para cuantificación de fenoles totales.....	126

Capítulo VIII. Efecto de la adición de harina de semillas de papaya (*Carica papaya*) en las propiedades fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales de pan de caja

Tabla 1. Ingredientes para la elaboración de pan de caja.....	149
Tabla 2. Análisis químico proximal de pan de caja.....	159
Tabla 3. Actividad de agua (a_w) en pan de caja	162
Tabla 4. Recuento en placa de bacterias mesófilas aerobias	163
Tabla 5. Recuento en placa de hongos y levaduras	165
Tabla 6. Recuento en placa de bacterias ácido lácticas	166
Tabla 7. Recuento en placa de coliformes	167

ÍNDICE DE ECUACIONES

Capítulo II. **Análisis proximal, propiedades funcionales y reología de masas adicionadas con harina de semillas de *Carica papaya***

Ecuación 1. Valor de croma C^* 20

Ecuación 2. Valor del ángulo Hue h_{ab}21

Capítulo III. **Extracción secuencial y caracterización de fracciones proteicas de semillas de papaya (*Carica papaya*)**

Ecuación 1. Valor de la curva patrón de albúmina.....52

Ecuación 2. Valor de las fracciones proteicas en harina de semillas de papaya (HSPa) y harina de trigo (HT).....52

Ecuación 3. Rendimiento de las fracciones proteicas en harina de papaya (HSPa) y harina de trigo (HT).....53

Capítulo IV. **Cuantificación de gliadinas y glutelinas en una cinética de fermentación de masas elaboradas con harina de trigo y sustitución parcial de harina de semillas de papaya**

Ecuación 1. Porcentaje de humedad.....62

Ecuación 2. Contenido de gluten húmedo (%).....62

Ecuación 3. Contenido de gluten seco (%).....62

Ecuación 4. Valor de la curva estándar por el método de Biuret.....63

Ecuación 5. Contenido de prolaminas y glutelinas (mg/100g).....63

Capítulo VI. **Análisis morfométrico de pan adicionado con harina de semillas de papaya (*Carica papaya*) usando Image J como técnica digital**

Ecuación 1. Volumen de pan.....99

Ecuación 2. Correlación entre el tamaño de los panes y el agregado porcentual de harina de semilla de papaya (modelo de regresión lineal).....100

Ecuación 3. Índice de correlación de Pearson.....100

Ecuación 4. Normalización de datos de puntuación tipificada.....	100
---	-----

Capítulo VII. Harina de semillas de papaya (*Carica papaya*) y su uso potencial como fuente natural de biocompuestos en la elaboración de pan de caja

Ecuación 1. Porcentaje de inhibición.....	121
--	-----

Ecuación 2. Valor ABTS ($\mu\text{mol TEAC/g}$ peso seco).....	122
--	-----

Ecuación 3. Valor FRAP ($\mu\text{mol TE/g}$ peso seco).....	124
--	-----

Ecuación 4. Valor de Fenoles Totales (mg de GAE/ g peso seco).....	127
---	-----

Ecuación 5. Valor de la fracción isócromica roja Cr (mg/Kg).....	128
--	-----

Ecuación 6. Valor de la fracción isócromica amarilla Cy (mg/Kg).....	128
--	-----

Ecuación 7. Porcentaje de retención de nutrientes.....	129
---	-----

Capítulo VIII. Efecto de la adición de harina de semillas de papaya (*Carica papaya*) en las propiedades fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales de pan de caja

Ecuación 1. Porcentaje de humedad.....	151
---	-----

Ecuación 2. Porcentaje de cenizas.....	151
---	-----

Ecuación 3. Porcentaje de nitrógeno.....	152
---	-----

Ecuación 4. Porcentaje de proteína.....	152
--	-----

Ecuación 5. Porcentaje de grasa cruda.....	153
---	-----

Ecuación 6. Porcentaje de fibra cruda.....	153
---	-----

Ecuación 7. Porcentaje de carbohidratos disponibles.....	154
---	-----

Ecuación 8. Energía bruta (Kcal/g).....	154
---	-----

Ecuación 9. Recuento de unidades formadoras de colonias (UFC) en alimentos.....	155
--	-----

ÍNDICE DE FIGURAS

Capítulo II. Análisis proximal, propiedades funcionales y reología de masas adicionadas con harina de semillas de *Carica papaya*

Figura 1. Color de las diferentes harinas.....27

Capítulo III. Extracción secuencial y caracterización de fracciones proteicas de semillas de papaya (*Carica papaya*)

Figura 1. Proceso de extracción de las fracciones proteicas, por solubilidad Osborne en harina de semillas de papaya (HSPa) y harina de trigo (HT).....50

Figura 2. Curva patrón, utilizada para determinar la concentración de las fracciones proteicas en harina de semillas de papaya (HSPa) y harina de trigo (HT).....52

Capítulo IV. Cuantificación de gliadinas y glutelinas en una cinética de fermentación de masas elaboradas con harina de trigo y sustitución parcial de harina de semillas de papaya

Figura 1. Extracción de gluten método 38.10.01 AACC.....61

Figura 2. Cuantificación de gluten húmedo.....65

Figura 3. Cuantificación de gluten seco.....66

Figura 4. Gluten húmedo y seco.....66

Figura 5. Cambios en el volumen de fermentación en masas.....69

Figura 6. Volumen de masas en fermentación al min 30.....70

Capítulo V. Caracterización electroforética SDS-PAGE de masas fermentadas elaboradas con harina de trigo y sustitución parcial de harina de semillas de papaya (*Carica papaya*)

Figura 1. Proceso de elaboración de masas para cinética de fermentación (0,15, 30 y 45 min).....	77
Figura 2. Proceso de extracción de proteínas en harinas de trigo y de semillas de papaya.....	78
Figura 3. Montaje del equipo de electroforesis.....	82
Figura 4. Curva estándar para el cálculo del peso molecular de proteínas.....	85
Figura 5. Patrones electroforéticos de harina de semillas de papaya (HSPa) y harina de trigo (HT).....	87

Capítulo VI. Análisis morfométrico de pan adicionado con harina de semillas de papaya (*Carica papaya*) usando Image J como técnica digital

Figura 1. Procesamiento de imágenes.....	97
Figura 2a. Vista superior del pan.....	98
Figura 2b. Vista lateral del pan.....	98
Figura 2c. Vista inferior del pan.....	98
Figura 3. Parámetros de color para los panes, observados en a) vista superior, en b) vista lateral y en c) vista inferior.....	104
Figura 4. Imágenes obtenidas de pan y su imagen correspondiente de identificación de contornos para composición alveolar por análisis de partículas utilizando el programa Image J.....	106
Figura 5. Parámetros de color en miga de pan adicionado con harina de semillas de papaya.....	108

Capítulo VII. Harina de semillas de papaya (*Carica papaya*) y su uso potencial como fuente natural de biocompuestos en la elaboración de pan de caja

Figura 1. Proceso de elaboración de pan de harina de trigo con sustitución parcial de harina de semillas de papaya.....	119
Figura 2 Curva de calibración Trolox para método ABTS.....	121
Figura 3. Curva de calibración Trolox para método FRAP	124
Figura 4. Curva de calibración de Ácido Gálico para fenoles totales.....	127

Figura 5. Cuantificación de capacidad antioxidante por método ABTS en harinas con porcentaje de inhibición.....	131
Figura 6. Cinética de cuantificación de capacidad antioxidante por método ABTS en pan con porcentaje de inhibición.....	132
Figura 7. Cuantificación de capacidad antioxidante por método FRAP en harinas.....	133
Figura 8. Cinética de cuantificación de capacidad antioxidante por método FRAP en pan.....	134
Figura 9. Cuantificación de fenoles totales en harinas.....	135
Figura 10. Cinética de cuantificación de fenoles totales en pan.....	136
Figura 11. Cuantificación de β -carotenos en harinas.....	138
Figura 12. Cuantificación de β -carotenos en masas antes y después de fermentar.....	139
Figura 13. Cinética de cuantificación de β -carotenos en pan.....	140

Capítulo VIII. Efecto de la adición de harina de semillas de papaya (*Carica papaya*) en las propiedades fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales de pan de caja

Figura 1. Formato para la prueba hedónica sensorial de pan adicionado con harina de semillas de papaya (HSPa).....	157
Figura 2. Recuento en placa de bacterias mesófilas aerobias	164
Figura 3. Recuento en placa de hongos y levaduras.....	165
Figura 4. Recuento en placa de bacterias ácido lácticas.....	166
Figura 5. Recuento en placa de bacterias coliformes totales.....	167
Figura 6. Evaluación sensorial del olor en panes adicionados con HSPa.....	168
Figura 7. Evaluación sensorial del color en panes adicionados con HSPa.....	169
Figura 8. Evaluación sensorial del sabor en panes adicionados con HSPa.....	169
Figura 9. Evaluación sensorial de la suavidad en panes adicionados con HSPa....	170
Figura 10 Evaluación sensorial global en panes adicionados con HSPa.....	171

CAPÍTULO

I

Generalidades de la papaya (*Carica papaya*)

1. Introducción

La papaya (*Carica papaya* L.) es una planta arbórea herbácea laticífera que crece aproximadamente 10 m de altura, pertenece a la familia *Caricaceae* y se cultiva en la mayoría de los países tropicales del mundo como cultivo alimentario (OECD, 2005). Es nativa de zonas tropicales y el este de América Central, se desconoce el lugar exacto de origen de *C. papaya*, pero la literatura reporta la presencia de semillas de papaya en Panamá y República Dominicana antes de 1525. Se cree que su cultivo se extendió desde el sur de México, Centro América, las Indias Occidentales, las Bahamas hasta las Bermudas en 1616. Se dice que los españoles llevaron semillas de papaya a Filipinas y Malaca alrededor de 1550, la planta llegó a la India y al Reino de Nápoles en 1626. Más tarde se introdujo en todas las regiones tropicales y subtropicales del mundo (Australia, Hawái, Sri Lanka y Sudáfrica) como cultivo de plantación (Nakasone y Paull, 1998).

De acuerdo con la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, México se colocó en 2019 como el tercer productor mundial de papaya, con una participación de 7.6% y una tasa media anual de crecimiento de 5.2% y es el principal exportador mundial de esta fruta con un volumen de participación de 44.7% y una tasa media anual de crecimiento de 2.4%, seguido de Guatemala y Brasil. La creciente demanda externa de esta fruta tropical mexicana ha favorecido el ascenso de sus exportaciones, en especial al mercado estadounidense, con ventas por más de 86 millones 657 mil dólares durante 2020. La producción de papaya en México creció 3.2% en 2020, al totalizar un millón 118 mil toneladas y registra una creciente demanda en los mercados internacionales (SIAP, 2022).

Es uno de los frutos más importantes y de mayor consumo por sus propiedades nutritivas y su delicado sabor. Contiene todas las vitaminas del Complejo B, que regulan el sistema nervioso y el aparato digestivo, fortifican el músculo cardíaco, protegen la piel y el cabello siendo esenciales para el crecimiento. Contiene también vitaminas A y C, es rica en minerales como calcio, fósforo, magnesio, hierro, azufre, silicio, sodio y potasio. Los principales carbohidratos son azúcares simples, como en la papaya madura, que contiene 48% (p/p) de sacarosa, 30% (p/p) de glucosa y 22% (p/p) de fructosa (Vij y Prashar, 2015) pero la fruta también es rica en fibras alimenticias, lo que aumenta la motilidad intestinal, que se potencia con la enzima papaína cuando está presente en grandes cantidades (Moy, 2016). Contiene un amplio espectro de fitoquímicos, que incluyen enzimas (en látex), alcaloides (en hojas), compuestos fenólicos (en pulpa y hojas) y compuestos carotenoides y glucosinolatos (en pulpa y semillas). Esta fruta también contiene grandes cantidades de la provitamina A menos activa, la β -criptoxantina (Sagadevan *et al.*, 2019). El licopeno, pigmento principal de la papaya de pulpa roja, tiene importantes implicaciones para la salud

como un fuerte antioxidante debido a su gran capacidad para eliminar los radicales libres, otros carotenoides que se encuentran en la pulpa son la β -criptoxantina y el β -caroteno. Se reconoce que existen algunos factores que afectan el contenido de papaya: el contenido de carotenoide y ácido ascórbico aumenta con la madurez; los días más largos y las intensidades de luz más altas en verano pueden aumentar las concentraciones de ácido ascórbico y su precursor, la glucosa (Saeed *et al.*, 2014).

En el área de la salud, se han utilizado diferentes partes de la papaya, en la medicina popular para tratar enfermedades, especialmente diabetes, cáncer y enfermedades cardiovasculares e infecciosas. Algunos estudios también muestran que la papaya también se puede usar para prevenir la anemia de células falciformes (Williams *et al.*, 2013). Los glucosinolatos, carotenoides, y compuestos fenólicos son de gran interés en estudios contra el cáncer ya que pueden funcionar en múltiples mecanismos, como la señalización de células cancerosas, la proliferación, la apoptosis, la migración, la invasión, así como la angiogénesis y la eliminación de carcinógenos (Nguyen *et al.*, 2012; Singh *et al.*, 2020). Por lo general, solo se consume pulpa de papaya, y la fruta madura es carminativa, diurética, expectorante, sedante y tiene acción preventiva contra la disentería, enfermedades de la piel, psoriasis y tiña. La fruta verde se usa como remedio para las úlceras y la impotencia, reduce las irregularidades menstruales y promueve el flujo menstrual natural en las mujeres (Am, 2014).

El jugo de papaya ayuda a aliviar las infecciones del colon y las enfermedades gastrointestinales, como la dispepsia y la celiaquía, cuyos pacientes no pueden digerir la gliadina del trigo, pero pueden tolerarla si se tratan con papaína cruda (Am, 2014). La caracterización fisicoquímica y el análisis de composición de ácidos grasos del aceite crudo extraído de semillas de papaya han mostrado un alto contenido de ácidos grasos insaturados (78.17%), la mayoría de ellos ácidos grasos monoinsaturados (71.89%). Por lo tanto, el aceite de semilla de papaya tiene un perfil beneficioso de ácidos grasos monoinsaturados y puede tener un uso potencial en la nutrición. Además, las semillas de papaya también pueden tener otro valor nutricional agregado ya que son una fuente rica en proteínas (27.3–28.3%), lípidos (28.2–30.7%) y fibras crudas (19.1–22.6%) (Ayoola y Adeyeye, 2010). Tanto la cubierta de la semilla como el aceite de papaya poseen propiedades antioxidantes razonables, lo que enfatiza su potencial nutricional y sus beneficios para la salud. El aceite también podría ser útil para propósitos de biocombustibles, y la cubierta de la semilla se puede usar en el desarrollo de materiales de recubrimiento o empaque comestibles (Malacrida *et al.*, 2011). El látex de papaya es muy útil para curar la dispepsia, la diarrea, las hemorroides sangrantes y la tosferina, y también se aplica externamente para tratar quemaduras en la piel (Sancho *et al.*, 2011). Las hojas verdes del árbol son fuente de nutrientes esenciales, mientras que las amarillas aportan principalmente hierro, lo que significa que pueden usarse contra anemia, tuberculosis y trastornos del crecimiento. También se describe que las hojas con alto contenido de hierro pueden tener una

acción sinérgica para reducir el agrandamiento del bazo e hígado, y se utilizan para eliminar el veneno de mordedura de serpiente (Sancho *et al.*, 2011). La malaria también se trata con hojas de papaya en algunos países, como Indonesia (Length, 2011), probablemente relacionado con la presencia de alcaloides antiplasmodiales en las hojas (Budiarti, 2020). Las hojas realizan una función importante en la coagulación de la sangre, el funcionamiento del corazón y el sistema nervioso, así como también el movimiento normal de los músculos (Julianti, 2014). También han mostrado efectos antihiper glucémicos e hipolipidémicos. Kovedant *et al.*(2011), realizaron un estudio para evaluar el efecto hipoglucemiante del extracto acuoso de hojas de papaya en ratas diabéticas inducidas con estreptozotocina mostró que hubo una disminución significativa del peso corporal. Tras la administración de diferentes dosis del extracto acuoso de papaya durante 30 días, se observó una disminución significativa de los niveles de glucosa en sangre. Al mismo tiempo, se observaron disminuciones significativas en los niveles de colesterol sérico y triacilglicerol en comparación con ratas diabéticas no tratadas. En general toda la planta tiene un alto valor medicinal como resultado de su amplio espectro de vitaminas, enzimas y compuestos activos (Pinnamaneni, 2017).

2. Descripción Morfológica de la planta de papaya

Esta planta, de vida corta llega a crecer aproximadamente 10 m, su tronco es considerado herbáceo, hueco y en ocasiones sin rama. Partes de esta planta (hojas, tallos y frutos) contienen alcaloides y enzimas como la papaína, las cuales son esenciales en la medicina, sus hojas dependen de los pecíolos encargados de su soporte y cuando dichas hojas están muy viejas se desprenden conforme a lo que crece el arbusto, estas plantas poseen alrededor de 30 piezas funcionales a lo que una hoja abarca entre 3 y 4 del área foliar, la carpaína se localiza especialmente en las hojas con 0.4 % en concentración y es utilizada para tratar la tuberculosis y la disentería. Sus flores surgen de las cavidades que crean los pecíolos y tallo, las flores tienen pétalos de color amarillo-anaranjado y blanco-crema de 1 a 2.5 cm de largo también poseen propiedades febrífugas y pectorales, cuando se consumen en infusiones (Maisarah *et al.*, 2013).

2.1 Características de la planta de papaya

La papaya (*Carica papaya* L.) es un género troica, ya que las plantas adultas muestran tres posibles tipos sexuales: femeninas, masculinas y hermafroditas. Las plantas femeninas siempre producen flores femeninas, si no hay cerca plantas masculinas o hermafroditas para proporcionarles polen, normalmente no conducen frutos al no ser polinizadas y sus flores llegan a producir frutas partenocárpicas sin semillas, de esta manera para obtener la polinización el polen es llevado por el viento o insectos, debido a esto los polinizadores han logrado una mayor investigación. Las plantas masculinas se diferencian por los racimos de sus flores y además por no originar frutos, sin

embargo, se puede presentar casos en los que puede haber flores masculinas que dan frutos. Las plantas con flores hermafroditas son las que producen frutos con las mejores características comerciales, pueden tener flores macho, flores hermafroditas o ambas, ya esto dependerá de las condiciones ambientales y la época del año, a lo que el clima cálido y seco puede llegar a ocasionar supresión del ovario y consecuentemente producción de flores hembras estériles, o sea, flores masculinas, las flores hermafroditas y femeninas originan 1/3 y 2/3 respectivamente, en el caso de las plantas masculinas se expresan casualmente, a lo que las plantas hermafroditas son las preferidas por los productores y esto es debido al buen uso comercial que se le puede dar, razones como la forma alargada del fruto, la cavidad localizada de sus semillas, le atribuye un menor daño durante la poscosecha (Jiménez *et al.*, 2014).

Esta planta ha demostrado ser una muy buena fuente para el desarrollo terapéutico. Las investigaciones genéticas sobre las plantas de papaya han reportado que las de origen silvestre, es decir, las que no han sido cultivadas por la acción del hombre son dioica y por tanto su reproducción es de tipo biparental, siendo esta una condición común de las plantas arcaicas (VanBuren *et al.*, 2015). Presenta tres tipos de plantas que son determinadas según su sexo, factor influenciado por las condiciones ambientales de temperatura y humedad del suelo que pueden causar muchas formas florales de transición, expresando esterilidad femenina. (Ming *et al.*, 2007).

2.1.1 Hojas

Las hojas son de tipo palmeadas, grandes, lisas, lobuladas y pueden tener de 7 a 11 lóbulos, siendo 9 el número constante, aglomeradas en el ápice del tronco y ramas, de pecíolo largo y pueden medir de 25-75 cm de diámetro, las hojas jóvenes se conservan en la parte superior del tallo y las viejas se desprenden por sí solas, las hojas aparecen en forma alterna a lo largo del tallo; una cada cuatro días para un total de 100 hojas por año, las hojas suelen ser ricas esencialmente en ácidos fenólicos, glucósidos cianogénicos, flavonoides y alcaloides como la carpaína y pseudocarpaína, estos compuestos han ayudado mucho para la prevención de enfermedades virales reportando beneficios de la hoja de *Carica papaya*, como ha sido el caso en los tratamientos en pacientes infectados por dengue (Hoa Vien y Tran Van, 2017).

Gadhwal *et al.* (2016), estudiaron el efecto de hoja seca de *Carica papaya* sobre el recuento de plaquetas en pacientes con dengue con trombocitopenia, llegaron a la conclusión de que el extracto de hojas aumentó el recuento en el tratamiento de estos pacientes con dengue sin presentar ningún efecto secundario.

2.1.2 Tallo

Tiene un tallo erecto, por lo general no ramifica, pero cuando esto sucede, suele emitir pocas ramas, el tallo es hueco excepto en los nudos, su altura va a depender del cultivar, la edad de la planta y las condiciones ambientales. En las plantas de papaya, el tallo único proporciona soporte estructural, masa corporal, almacenamiento de sustancias de defensa, altura, habilidad competitiva, transporte de flujo bidireccional de agua, nutrientes, diversos compuestos orgánicos y modera las señales físicas que regulan las relaciones con la raíz y los brotes (Reis *et al.*, 2006). Estructuralmente tiene una capa única y gruesa de floema secundario, rica en fibras, y dos capas de esclerénquima ubicadas inmediatamente dentro de la corteza que son responsables de la mayor parte de la rigidez. El xilema está pobremente lignificado y ayuda en el almacenamiento de agua y almidón, una médula bien desarrollada es conspicua desde las primeras etapas de desarrollo. Los tallos jóvenes se vuelven progresivamente huecos por la disolución de la médula en los entrenudos a medida que maduran y a medida que las fibras se espesan y endurecen (Hernández-Salinas *et al.*, 2019).

2.1.3 Raíz

La característica fundamental de esta planta es afín con el ambiente del suelo en el cual es cultivada. El suelo debe ser tratado, debido a que es necesaria una buena preparación para la siembra, un buen drenaje, humedad adecuada y el control en sanidad del mismo. Con el manejo adecuado de lo anterior las condiciones del sistema radical se extenderían en mejor forma, una raíz principal pivotante alcanzaría hasta 1.5 m de profundidad, dependiendo de las limitaciones físicas o químicas del suelo donde se siembra. Las raíces secundarias son de color blanco-crema se desarrollan en un radio de 80 cm y la mayoría de las raíces absorbentes se presentan en los primeros 30 cm del suelo, a lo que las raíces finas se encuentran entre los 80 y 90 cm de distancia del tallo (Carneiro y Cruz, 2009).

2.14 Frutos

Las frutas de papaya son bayas y muestran una gran diversidad en tamaño y forma. Las provenientes de las plantas hermafroditas tienden a ser alargadas y varían de cilíndricas a forma de pera, mientras que las de las plantas femeninas tienden a ser redondas. El tamaño puede variar mucho, desde menos de 100 g en algunas accesiones silvestres hasta más de 10 kg en ciertas variedades. El pericarpio puede llegar a tener un grosor de 2.5 a 3.0 cm en frutos maduros. Una gran cavidad que alberga las semillas constituye la mayor parte del volumen total. La baya madura está formada principalmente por tejido parenquimatoso organizado en tres capas distintas: la capa exterior está compuesta por células más pequeñas ricas en plástidos, la zona mediana está compuesta por células redondas más grandes, ricas en espacios intercelulares y la región interna es un parénquima esponjoso con células ramificadas

estiradas y abundantes espacios de aire. Dos juegos de cinco haces vasculares cada uno ingresan a los frutos, uno dorsal (externo) y otro ventral interno (Santamaría-Basulto *et al.*, 2009). La maduración es climatérica y la producción alta de etileno puede comenzar solo horas después de la cosecha en la etapa recomendada (aparecen de una a dos rayas amarillas en la fruta). A medida que maduran, las frutas de papaya cambian de color, firmeza, composición de carbohidratos y producción de compuestos secundarios, que son responsables del color y la fragancia de la fruta. El color de los frutos maduros puede variar de amarillo a rojo salmón. Los carotenoides más importantes son el licopeno y la β -criptoxantina (Schweiggert *et al.*, 2011a, b), y una rica lista de más de 150 ésteres y alcoholes volátiles que son los responsables del dulce aroma y sabor de la fruta (Pino *et al.*, 2003).

Los frutos también son catalogados de acuerdo con los tipos de flor, flores femeninas, flores hermafroditas y flores masculinas, el color de la pulpa del fruto varía de amarillo hasta rojo salmón, también dispone de muchos beneficios medicinales (Gunde y Amnerkar 2016). Juárez, (2013) reportó propiedades terapéuticas derivadas del consumo de este fruto en el alivio de los síntomas de la diabetes, además de su uso como laxante, antibiótico y antibacteriano; esto ha permitido que el fruto sea atractivo en su producción.

2.1.5 Semillas

Las frutas bien polinizadas pueden tener 600 semillas o más, el embrión es recto y ovoide, con cotiledones aplanados, están recubiertas por un tejido mucilaginoso llamado sarcotesta, derivado de la epidermis pluriestratificada del tegumento externo. Son de color negro, de forma redondeadas u ovoides, se concentran en el saco seminal, alcanzan su madurez al tiempo que el fruto madura siendo el resultado de óvulos fecundados, donde las angiospermas se establecen en el ovario, siendo el resultado de la reproducción sexual está definida por el tipo de óvulo que se produce en su posición dentro del fruto. Las semillas que se dan del cruce de una planta femenina por una hermafrodita originan descendientes con una analogía hermafroditas a femeninas del 50% de cada ejemplar sexual (Hueso *et al.*, 2015).

La semilla es una rica fuente de proteínas (27.8% con grasa, 44.4% sin grasa), lípidos (28.3% sin grasa) y fibra cruda (22.6% con grasa, 31.8% sin grasa). De los tóxicos estimados, los glucosinolatos se encuentran en la proporción más alta. La semilla es baja en monosacáridos libres. La sacarosa es el azúcar predominante (75% del total de azúcares). El contenido de minerales es generalmente bajo. Sin embargo, Ca y P se encuentran en cantidades apreciables (17.340 $\mu\text{g/g}$ y 10.250 $\mu\text{g/g}$, respectivamente). El aceite de semilla es bajo en yodo (74.8 I_2/g), ácidos grasos libres (0.94%) y caroteno (0.02 $\mu\text{g/g}$). El ácido graso principal es C18:1 (79.1%) (Marfo *et al.*, 1986). Los lípidos y proteínas se encuentran mayoritariamente dentro del endospermo, almacenados en los oleosomas y los granos de aleurona, respectivamente (Gil y Miranda, 2011).

2.1.5.1 Compuestos bioactivos en las semillas de papaya

La semilla de papaya contiene ácidos grasos, proteína y fibra cruda, aceite de papaya, carpaína (con sabor intensamente amargo), caricina, glucotropeolina, bencil glucosinolatos, bencil isotiocianato, bencil tiourea, hentriacontano, β -sitostrol, y la enzima mirosinasa. Las semillas y la pulpa de *Carica papaya* contienen glucosinolato de bencilo que puede ser hidrolizado por la enzima mirosinasa para producir isotiocianato de bencilo. Los extractos de semillas tienen una profunda actividad bactericida. Las semillas de frutos verdes son ricas en isotiocianato de bencilo, una sustancia química que contiene azufre y se ha informado que es un germicida e insecticida eficaz. Estas sustancias son importantes para los mecanismos de defensas de las plantas (El Moussaoui *et al.*, 2011).

2.1.5.2 Mirosinasa

La mirosinasa (EC 3.2.1.147) es una familia de enzimas incolucradas en la defensa de las plantas contra los herbívoros, pertenecientes a los glucósidos hidrolasas, posee varias similitudes con las O-glucosidasas (Halkier y Gershenzon, 2006). Sin embargo, es la única enzima conocida que se presenta en la naturaleza que puede escindir una glucosa ligada al grupo funcional tiol. Su función biológica conocida es catalizar la hidrólisis de una clase de compuestos llamados glucosinolatos (Possenti *et al.*, 2016). Así, los dos sustratos de esta enzima son el tioglucosido y agua, mientras que sus dos productos son el azúcar y el tiol. En presencia de agua, la mirosinasa separa el grupo glucosa de un glucosinolato o un nitrilo, estas son las sustancias activas que sirven de defensa para la planta. La hidrólisis de glucosinolatos por esta enzima puede producir una variedad de productos, dependiendo de diversas condiciones fisiológicas como el pH. Se ha observado que todas las reacciones conocidas comparten los mismos pasos iniciales. Primero el enlace β -tioglucósido es escindido por la enzima liberando D-glucosa. La aglicona resultante se somete a un espontáneo reordenamiento, la liberación de un sulfato. El último paso del mecanismo está sujeto a la mayor variedad en función de las condiciones fisiológicas en las que se produce la reacción. A pH neutro, el producto principal es el isotiocianato. En condiciones ácidas (pH <3), y en presencia de iones ferrosos o proteínas específicas, se favorece en cambio la formación de nitrilos (Radojic *et al.*, 2008).

El sistema defensivo glucosinolato-mirosinasa está empaquetado en la planta de una manera única. Las plantas almacenan glucosinolatos de mirosinasas por compartimentación, de modo que estos últimos se liberan y activan solo cuando la planta está bajo ataque. La mirosinasa se almacena principalmente como granos de mirosina en las vacuolas de idioblastos particulares llamados células de mirosina, pero también se ha reportado que se encuentra en cuerpos proteicos o vacuolas y como enzimas citosólicas que tienden a unirse a las membranas (Wang *et al.*, 2012).

Los glucosinolatos se almacenan en células adyacentes pero separadas. Cuando la planta sufre daño tisular, la mirosinasa entra en contacto con glucosinolatos, activándolos rápidamente en su potente forma antibacteriana. Los más potentes de estos productos son los isotiocianatos, seguidos de los tiocianatos y los nitrilos (Heidel-Fischer *et al.*, 2019).

Las plantas que se sabe que han desarrollado un sistema de defensa mirosinasa-glucosinolato son: *Sinapis alba* (mostaza blanca), *Lepidium sativum* (berro de jardín), *Wasabia japonica* (wasabi), *Raphanus sativus* (daikon), así como varios miembros de la familia *Brassicaceae*, incluyendo *Brassica juncea* (mostaza amarilla), *Brassica napus* (semilla de colza), y brásicas dietéticas comunes (brócoli, coliflor, repollo, bok choy y col rizada) (Baskar *et al.*, 2012).

2.1.5.3 Glucosinolatos e isotiocianatos

Las plantas son organismos sésiles que producen hasta un millón de metabolitos y compuestos. Estos metabolitos se pueden utilizar en diversas industrias, como la alimentación, la agricultura, la medicina y la cosmética (Afendi *et al.*, 2012; Rai *et al.*, 2017; Saito, 2020). Además, los metabolitos secundarios (o especializados) contribuyen a una defensa eficaz contra el estrés biótico y abiótico (Wang *et al.*, 2019). Los terpenos, los compuestos fenólicos y los compuestos que contienen nitrógeno (NCC) son las tres clases químicas principales de metabolitos secundarios de las plantas. Algunos de los compuestos tienen propiedades de sabor amargo en la naturaleza (Izawa, 2010). Los glucosinolatos (GSL) y los glucósidos cianogénicos (CG) son ejemplos de NCC de sabor amargo que se sabe que participan en los mecanismos de defensa esenciales en las plantas (Taiz y Zeiger, 2010; Harun *et al.*, 2020). Inicialmente se pensó que la coexistencia de GSL y CG en una sola especie vegetal se debía a la presencia de extractos contaminantes, ya que los metabolitos secundarios se percibían como mutuamente excluyentes (Williams *et al.*, 2013). Sin embargo, varios investigadores informaron de la existencia de CG y GSL en *Carica papaya* (Bennet *et al.*, 1997; Williams *et al.*, 2013; Jioe *et al.*, 2022). Única entre las frutas tropicales, *Carica papaya* es una de las pocas especies comestibles que no están relacionadas con *Brassicaceae* que contienen GLS se sabe que la papaya contiene una abundancia de un glucosinolato en particular, la glucotropaeolina al parecer, de momento, el único GLS presente en esta planta. El contenido de glucotropaeolina es bastante diferente en los tejidos de papaya, es muy alto en semillas y hojas, mientras que es más bajo en la pulpa comestible (Rossetto *et al.*, 2008; O'Hare *et al.*, 2009). El contenido de glucotropaeolina en la pulpa disminuye gradualmente durante la maduración de la fruta por lo que su contenido en frutos depende en gran medida del estado de maduración. Li *et al.* (2012) explicaron la gran variabilidad de cantidad observada en su estudio, de 0 – 100 mg/100 g de peso fresco. Debido a que la glucotropaeolina imparte un sabor desagradable, las frutas ricas en

este GLS tienden a ser desagradables por los consumidores. Otros compuestos que juegan un papel fundamental en el sistema de defensa química de muchas plantas son los glucósidos cianogénicos. Son activados por enzimas vegetales en caso de ataque de plagas, liberando el disuasivo: cianuro de hidrógeno tóxico. La papaya, además de glucosinolatos, también contiene niveles bajos de glucósidos cianogénicos, una ocurrencia inusual porque se asumió que las dos clases de metabolitos eran mutuamente excluyentes. Los estudios que miden los niveles tanto en las partes comestibles de la papaya como en otros tejidos utilizados se discuten y consideran en el contexto de posibles ramificaciones para la salud humana (Nakamura *et al.*, 2007; Ruhaizat-Ooi *et al.*, 2022).

3. Justificación

En un mundo con una escasez eminente de recursos naturales y una incidencia creciente de enfermedades crónicas relacionadas con hábitos alimenticios poco saludables, la búsqueda de productos alimenticios biológicamente activos y amigables con el medio ambiente está aumentando. Los subproductos agroindustriales han llamado especialmente la atención por ser una fuente disponible, rentable y sostenible de una amplia gama de compuestos bioactivos, con enorme potencial para proporcionar niveles suficientes de nutrientes al ser transformados como alimentos. Este trabajo de investigación tiene como propósito la elaboración de pan con la sustitución parcial de harina de trigo por harina de semillas de papaya (*Carica papaya*), que mejore el aporte nutricional, la aceptación sensorial en los parámetros de textura y sabor y la vida útil del producto final, siendo una propuesta para la industria de la panificación y una opción para las personas que cuidan de su salud, así como también disminuir la contaminación ambiental por subproductos de la industria transformadora de frutas.

4. Objetivos

4.1 Objetivo General

Evaluar el efecto de la sustitución parcial de harina de semillas de papaya (*Carica papaya*) en las propiedades nutricionales, texturales y sensoriales de un producto de panificación como propuesta para el aprovechamiento de subproductos útiles de la industria transformadora de alimentos.

4.2 Objetivos Particulares

1. Estimar la composición fisicoquímica de las semillas frescas y secas, así como también realizar el análisis químico proximal de la harina hecha con las semillas secas

de papaya (*Carica papaya*) y las propiedades funcionales para evaluar su viabilidad como materia prima en la elaboración de un pan.

2. Observar los cambios reológicos en masas y panes de harina de trigo, influenciados por la adición de harina de semillas de papaya utilizando las pruebas de extensibilidad biaxial, extensibilidad uniaxial, adhesividad de Chen-Hoseney y análisis de perfil de textura (APT).

3. Estimar el contenido de gluten en masas y obtener las fracciones proteicas en base al criterio de solubilidad de Osborne en harinas y masas con sustitución parcial de harinas de semillas de papaya, en una cinética de fermentación.

4. Mediante el uso de las técnicas FRAP, ABTS y Folin Ciocalteu determinar la capacidad antioxidante, el contenido de compuestos fenólicos y carotenoides en las harinas y pan durante el periodo de vida útil del pan.

5. Caracterizar electroforéticamente la harina de semillas de papaya y el efecto de la proteólisis de gluten en la sustitución parcial de masas elaboradas con harina de trigo, mediante la técnica de electroforesis en gel de poliacrilamida de dodecildisulfato de sodio (SDS-PAGE).

6. Analizar el efecto de la harina de semillas de papaya en la estructura de la miga, cantidad de alveolos y el color (RGB) usando la herramienta digital ImageJ.

7. Evaluar el efecto de la sustitución parcial de harina de semillas de papaya en las propiedades fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales de pan.

5. Hipótesis

La adición de semillas de papaya (*Carica papaya*) mejora las propiedades nutricionales, funcionales, microbiológicas y sensoriales de pan de caja elaborado con harina de trigo.

6. Referencias bibliográficas

Am, A. (2014). Proximate analysis, antioxidant and antiproliferative activities of different parts of *Carica papaya*. J. Nutr. Food Sci. 2014; 04:267. Doi: 10.4172/2155-9600.1000267.

Afendi, F.M., Okada, T., Yamazaki, M., Hirai-Morita, A., Nakamura, Y., Nakamura, K., Ikeda, S., Takahashi, H., Altaf-UI-Amin, M., Darusman, L.K. (2012). KNApSACk family databases: Integrated metabolite-plant species databases for multifaceted plant research. Plant Cell Physiol.53, e1. Doi: 10.1093/pcp/pcr165.

Ayoola, P.B., Adeyeye, A. (2010). Phytochemical and nutrient evaluation of *Carica papaya* (pawpaw) leaves. *Int. J. Recent Res. Appl. Stud.* 2010; 5:325–328. ID: 100788563

Baskar, V., Gururani, MA., Yu, JW., Park, SW. (2012). Engineering Glucosinolates in Plants: Current Knowledge and Potential Uses. *Appl Biochem Biotechnol* 168, 1694–1717. Doi:10.1007/s12010-012-9890-6.

Bennet, R.N., Kiddle, G., Wallsgrove, R.M. (1997). Biosynthesis of benzylglucosinolates, cyanogenic glucosides and phenylpropanoids in *Carica papaya*. *Phytochemistry* 45, 59–66. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(96\)00787-X](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(96)00787-X).

Budiarti, M., Maruzy, A., Mujahid, R., Sari, A.N., Jokopriyambodo, W., Widayat, T., Wahyono, S. (2020). The use of antimalarial plants as traditional treatment in Papua Island, Indonesia. *Heliyon.* 2020;6: e05562. Doi: 10.1016/j.heliyon. 2020.e05562.

Carneiro, CE., Cruz, JL., (2009). Caracterização anatômica de órgãos vegetativos do mamoeiro. *Ciênc Rural* 39(3):918–921. ISSN: 0103-8478. Doi: 10.1590/S0103-84782009005000011.

El Moussaoui, A., Nijs, M., Paul, C., Wintjens, R., Vincentelli, J., Azarkan, M., Looze, Y. (2011). Revisiting the enzymes stored in the laticifers of *Carica papaya* in the context of their possible participation in the plant defense mechanism. *Cell Mol Life Sci.* Apr;58(4):556-70. Doi: 10.1007/PL00000881. PMID: 11361091.

Gadhwal, AK., Ankit, BS., Chahar, C., Tantia, P., Sirohi, P., Agrawal, RP. (2016). Effect of *Carica papaya* Leaf Extract Capsule on Platelet Count in Patients of Dengue Fever with Thrombocytopenia. *J Assoc Physicians India.* 2016 Jun;64(6):22-26. PMID: 27739263. Doi: 10.1089/vim.2015.0083.

Gil, A.I. y Miranda, D. (2011). Aspectos anatómicos de la semilla de papaya (*Carica papaya* L.). *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 2(2), 145-156. DOI: 10.17584/rcch.2008v2i2.1183

Gunde, MC. y Amnerkar, ND. (2016). Nutritional, medicinal and pharmacological properties of papaya (*Carica papaya* L.): A review. *J Innov Pharm Biol Sci* , 3 (1), 162-169. ISSN: 2349-2759

Halkier, B. y Gershenzon, J. (2006). Biology and biochemistry of glucosinolates. *Ann Rev Plant Biol* 57: 303-333. Annual review of plant biology. 57. 303-33. Doi: 10.1146/annurev.arplant.57.032905.105228.

Hariono, M., Julianus, J., Djunarko, I., Hidayat, I., Adelya, L., Indayani, F., Auw, Z., Namba, G., Hariyono, P. (2021). The Future of *Carica papaya* Leaf Extract as an Herbal Medicine Product. *Molecules.* 2021 Nov 17;26(22):6922. Doi: 10.3390/molecules26226922. PMID: 34834014; PMCID: PMC8622926.

Harun, S., Abdullah-Zawawi, M.R., Goh, H.H., Mohamed-Hussein, Z.A. (2020). A comprehensive gene inventory for glucosinolate biosynthetic pathway in *Arabidopsis thaliana*. *J. Agric. Food Chem.* 68, 7281–7297. Doi: 10.1021/acs.jafc.0c01916.

Hernández-Salinas, G., Soto-Estrada, A., García-Pérez, E., Pérez-Vázquez, A., Rocandio-Rodríguez, M., Córdova-Téllez, L. (2019). Variación Morfológica in situ de *Carica papaya* L. Nativa de México. Revista fitotecnia mexicana, 42(1), 47-55. Epub 20 de agosto de 2019.

Hoa Vien, DT., Tran Van, LP. (2017). Extraction and Quantification of Carpaine from *Carica papaya* Leaves of Vietnam. International Journal of Environment Agriculture and Biotechnology (ISSN: 2456-1878).2(5), 2394-2397. Doi: 10.22161/ijeab/2.5.16

Hueso, J.J., I. Salinas, y J. Cuevas. 2015. El cultivo de la papaya. Grupo Cooperativo Cajamar, ESP.
<https://www.grupocooperativocajamar.es/recursosentidades/pdf/bd/agroalimentario/inovacion/investigacion/documentos-yprogramas/009-papaya-1441794549.pdf>
(consultado 9 ago. 2018)

Izawa, K., Amino, Y., Kohmura, M., Ueda, Y., Kuroda, M. (2010). Human-environment interactions—Taste. Compr. Nat. Prod. II Chem. Biol. 4, 631–671. Doi: 10.1016/B978-008045382-8.00108-8

Jiménez, V.M., E. Mora, M.V. Gutiérrez. (2014). Biology of the papaya plant. In: R. Ming, and P. Moore, editors, Genetics and genomics of papaya. Plant genetics and genomics: Crops and models. Vol 10. Springer, NY, USA. p. 17-34. DOI 10.1007/978-1-4614-8087-7_2

Jioe, I.P.J., Lin, H.-L., Shiesh, C.C. (2022). The investigation of phenylalanine, glucosinolate, benzylisothiocyanate (BITC) and cyanogenic glucoside of papaya fruits (*Carica papaya* L. cv. 'Tainung No. 2') under different development stages between seasons and their correlation with bitter taste. Horticulturae 8, 198. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8030198>

Juárez Rojop, IE, (2013). *Carica papaya*: una planta con efecto terapéutico. Horizonte Sanitario, 12 (2),35-36. ISSN: 1665-3262. DOI: 10.19136/hs.v12i2.224

Julianti, T., Oufir, M., Hamburger, M. (2014). Quantification of the antiplasmodial alkaloid Carpaine in papaya (*Carica papaya*) leaves. Planta Med. 2014; 80:1138–1142. Doi: 10.1055/s-0034-1382948.

Kovendan, K., Murugan, K., Kumar, A.N., Vincent, S., Hwang, J.-S. (2011). Bioefficacy of larvicide and pupicidal properties of *Carica papaya* (*Caricaceae*) leaf extract and bacterial insecticide, spinosad, against chikungunya vector, *Aedes aegypti* (*Diptera culicidae*) Parasitol. Res. 110:669–678. Doi: 10.1007/s00436-011-2540-z.

Length, OF. (2011). Physicochemical and nutritional qualities of *Carica papaya* seed products. J. Med. Plants Res. 2011; 5:3113–3117. ID: 98363895

Li, Z.Y., Wang, Y., Shen, W.T., Zhou, P. (2012). Content determination of benzyl glucosinolate and anti-cancer activity of its hydrolysis product in *Carica papaya* L. Asian Pac J Trop Med 5:231–233. Doi:10.1016/S1995-7645(12)60030-3

Maisarah, AM., Nurul, AB., Asmah, R., Fauziah, O. (2013). Antioxidant analysis of different parts of *Carica papaya* Int J Food Res, 20 (3), pp. 1043 - 1 048. ID: 56227366

Malacrida, C.R., Kimura, M., Jorge, N. (2011). Characterization of a high oleic oil extracted from papaya (*Carica papaya* L.) seeds. Food Sci. Technol. 2011; 31:929–934. Doi: 10.1590/S0101-20612011000400016.

Marfo, E.K., Oke, O.L., Afolabi, O.A. (1986). Chemical composition of papaya (*Carica papaya*) seeds. *Food Chemistry*, 22, 259-266. [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(86\)90084-1](https://doi.org/10.1016/0308-8146(86)90084-1)

Ming, R., Yu, Q., Moore, PH. (2007). Sex determination in papaya. *Semin Cell Dev Biol* 18(3):401–408. doi: 10.1016/j.semcd.2006.11.013. Doi: 10.1016/j.semcd.2006.11.013.

Moy, J.H. (2016). *Encyclopedia of Food and Health*. Elsevier; Amsterdam, The Netherlands. Nutrient Composition and Fruit Chemistry. ISBN: 9780123849472

Nakamura, Y., Yoshimoto, M., Murata, Y., Shimoishi, Y., Asai, Y., Park, EY., Sato, K., Nakamura, Y. (2007). Papaya seed represents a rich source of biologically active isothiocyanate. *J Agric Food Chem*. 2007 May 30;55(11):4407-13. doi: 10.1021/jf070159w. Epub 2007 May 1. PMID: 17469845.

Nakasone, H.Y., Paull, R.E., (1998). *Tropical Fruits*. CAB International, Oxford, UK. 443. ISBN 0851992544, 9780851992549

Nguyen, T.T.T., Shaw, P.N., Parat, M.-O., Hewavitharana, A.K. (2012). Anticancer activity of *Carica papaya*: A review. *Mol. Nutr. Food Res*. 2012; 57:153–164. Doi: 10.1002/mnfr.201200388.

OECD (Environment Directorate Joint Meeting of the Chemicals Committee and the Working Party on Chemicals, Pesticides and Biotechnology), (2005). Consensus Document on the Biology of Papaya (*Carica papaya*). Series on Harmonisation of Regulatory Oversight in Biotechnology No. 33.

O'Hare, T. J., Wong, L. S., Williams, D. J., Pun, S. (2009). Papaya (*Carica papaya*) as a source of glucotropaeolin and its active derivative, benzyl-isothiocyanate. In *Proceedings of the tropical fruits in human nutrition and health conference 2008*, Couran Cove Island Resort, Gold Coast, Australia, 8-11 November 2008 (pp. 197-201). The State of Queensland, Department of Employment, Economic Development and Innovation. ID: 20123103309

Pinnamaneni, R. (2017). Nutritional and medicinal value of papaya (*Carica papaya* Linn.) *World J. Pharm. Pharm. Sci*. 2017; 6:2559–2578. Doi: 10.20959/wjpps20178-9947.

Pino, JA., Almora, K., Marbot, R. (2003). Volatile components of papaya (*Carica papaya* L., Maradol variety) fruit. *Flavour Fragrance J* 18(6):492–496. Doi: 10.1002/ffj.1248

Possenti, M., Baima, S., Raffo, A., Durazzo, A., Giusti, A., Natella, F. (2016). Glucosinolates in Food. Doi:10.1007/978-3-319-26479-0_4-1.

Radojcic, R., I., Glivetic, T., Delonga, K., Furac, J. (2008). Glucosinolates and their potential role in plant. *Periodicum Biologorum*. 110. 297-309. <https://hrcak.srce.hr/35929>

Rai, A., Saito, K., Yamazaki, M. (2017). Integrated omics analysis of specialized metabolism in medicinal plants. *Plant J*. 90, 764–787. Doi: 10.1111/tpj.13485.

Reis, FO., Campostrini, E., Sousa, EF., Silva, MG. (2006). Sap flow in papaya plants: Laboratory calibrations and relationships with gas exchanges under field conditions. *Sci Hortic* 110(3):254–259. ISSN: 0304-4238

Rossetto, M.R.M., Do Nascimento J.R.O., Purgatto, E. (2008). Benzylglucosinolate, benzylisothiocyanate, and myrosinase activity in papaya fruit during development and ripening. *J Agric Food Chem* 56:9592–9599. Doi:10.1021/jf801934x

Ruhaizat-Ooi, I.-H., Zainal-Abidin, R.-A., Ab Ghani, NS, Afiqah-Aleng, N., Bunawan, H., Mohd-Assaad, N., Mohamed-Hussein, Z.-A., Harun, S. (2022). Understanding the Complex Functional Interplay between Glucosinolates and Cyanogenic Glycosides in *Carica papaya*. *Agronomía* 12, 2508. <https://doi.org/10.3390/agronomy12102508>

Saeed, F., Arshad, M.U., Pasha, I., Naz, R., Batool, R., Khan, A.A., Nasir, M.A., Shafique, B. (2014). Nutritional and Phyto-Therapeutic Potential of Papaya (*Carica papaya* Linn.): An Overview. *Int. J. Food Prop.* 2014; 17:1637–1653. Doi: 10.1080/10942912.2012.709210.

Saito, K. (2020). Editorial: The origin of plant chemodiversity—Conceptual and empirical insights. *Plant Cell Physiol*. 11, 890. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00890>

Sagadevan, P., Selvakumar, S., Raghunath, M., Megala, R., Janarthanan, P., Vinita Ebziba, C., Senthil Kumar, V. (2019). Medicinal properties of *Carica papaya* Linn: Review. *Madridge J Nov Drug Res*. 3(1): 120-125. Doi: 10.18689/mjndr-1000118

Sancho, L.E.G.-G., Yahia, E., González-Aguilar, G.A. (2011). Identification and quantification of phenols, carotenoids, and vitamin C from papaya (*Carica papaya* L., cv. Maradol) fruit determined by HPLC-DAD-MS/MS-ESI. *Food Res. Int.* 2011; 44:1284–1291. doi: 10.1016/j.foodres.2010.12.001.

Santamaría Basulto, F., Díaz Plaza, R., Sauri Duch, E., Espadas Gil, F., Santamaría Fernández, JM., Larqué Saavedra, A. (2009). Características de calidad de frutos de papaya maradol en la madurez de consumo. *Agricultura técnica en México*, 35(3), 347-353.

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), y Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). (Varios años). Estadísticas de Producción Agrícola <http://infosiap.siap.gob.mx/gobmx/datosAbiertos.php>

Singh, S.P., Kumar, S., Mathan, S.V., Tomar, M.S., Singh, R.K., Verma, P.K., Kumar, A., Kumar, S., Singh, R.P., Acharya A. (2020). Therapeutic application of *Carica papaya* leaf extract in the management of human diseases. DARU J. Pharm. Sci.; 28:735–744. Doi: 10.1007/s40199-020-00348-7.

Schweiggert, R., Steingass, C., Heller, A., Esquivel, P., Carle, R. (2011a). Characterization of chromoplasts and carotenoids of red- and yellow-fleshed papaya (*Carica papaya* L.). *Planta* 234(5):1031–1044. Doi: 10.1007/s00425-011-1457-1.

Schweiggert, R., Steingass, C., Mora, E., Esquivel, P., Carle, R. (2011b). Carotenogenesis and physico-chemical characteristics during maturation of red fleshed papaya fruit (*Carica papaya* L.). *Food Res Int* 44(5):1373–1380. Doi: 10.1016/j.foodres.2011.01.029.

Taiz, L., Zeiger, E. (2010). *Plant Physiology*, 5th ed.; Sinauer Associates, Inc.: Sunderland, MA, USA.

VanBuren, R., Zeng, F., Chen, C., Zhang, J., Wai, CM., Han, J., Aryal, R., Gschwend, AR., Wang, J., Na, JK., Huang, L., Zhang, L., Miao, W., Gou, J., Arro, J., Guyot, R., Moore, RC., Wang, ML., Zee, F., Charlesworth, D., Moore, PH., Yu, Q., Ming, R. (2015). Origin and domestication of papaya Yh chromosome. *Genome Res.* Apr;25(4):524-33. Doi: 10.1101/gr.183905.114. Epub 2015 Mar 11. PMID: 25762551; PMCID: PMC4381524.

Vij, T., Prashar, Y. (2015). A review on medicinal properties of *Carica papaya* Linn. *Asian Pac. J. Trop. Dis.* 2015; 5:1–6. Doi: 10.1016/S2222-1808(14)60617-4.

Wang, T., Liang, H., Yuan, Q. (2012). Separation of sinigrin from Indian mustard (*Brassica juncea* L.) seed using macroporous ion-exchange resin. *Korean J. Chem. Eng.* 29, 396–403. <https://doi.org/10.1007/s11814-011-0175-5>

Wang, S., Alseekh, S., Fernie, A.R., Luo, J. (2019). The structure and function of major plant metabolite modifications. *Mol. Plant* 12, 899–919. DOI: 10.1016/j.molp.2019.06.001

Williams, D.J., Pun, S., Chaliha, M., Scheelings, P., O'Hare, T. (2013) An unusual combination in papaya (*Carica papaya*): The good (glucosinolates) and the bad (cyanogenic glycosides) *J. Food Compos. Anal.* 29:82–86. Doi: 10.1016/j.jfca.2012.06.007.



Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo

CAPÍTULO

II



Análisis proximal, propiedades funcionales y reología de masas adicionadas con harina de semillas de *Carica papaya*

Resumen

Las semillas de papaya tienen un valor nutricional importante y propiedades funcionales adecuadas para su uso en la elaboración de productos de panadería. El objetivo de este estudio fue determinar la influencia de la sustitución de harina de semillas de *Carica papaya* por harina de trigo en la elaboración de pan blanco. Se determinó la composición química, las propiedades funcionales y el color de la harina. Se realizaron pruebas texturales de la masa (extensibilidad uniaxial y biaxial, análisis de perfil de textura -APT-, adhesividad). El APT y el color se midieron en pan blanco. Los resultados indican que la máxima dureza, firmeza, adhesividad, cohesividad, tenacidad y elasticidad, así como la calidad del color, se vieron afectados por la presencia de harina de semilla de papaya (HSPa) en masa y pan. Se observó una disminución en los valores de varias propiedades funcionales, como la densidad aparente y la capacidad de formación de espuma, de las muestras que contenían HSPa que se sometieron a diferentes tratamientos, en comparación con el tratamiento control (HT: 100% harina de trigo). El porcentaje de proteína en el HSPa tuvo un valor de 21.61% y para el HT de 12.27%, mientras que el del extracto etéreo fue de 22.22% y 1,07%. En cuanto a la fibra cruda, los valores fueron 24.46% y 0.061% respectivamente; mientras que los valores de ceniza fueron 9.18% y 0.27%, respectivamente.

Palabras clave: Harina compuesta, reología de la masa, propiedades funcionales, harina de semilla de papaya.

Abstract

Papaya seeds have important nutritional value and suitable functional properties for use in elaborating bakery products. The objective of this study was to determine the influence of substituting *Carica papaya* seeds flour for wheat flour in the preparation of white bread. Chemical composition, functional properties, and color were determined in flour. Dough's textural tests (Uniaxial and biaxial extensibility, texture profile analysis -TPA-, adhesiveness) were conducted. TPA and color were measured on white bread. The results indicate that the maximum hardness, firmness, adhesiveness, cohesiveness, tenacity, and elasticity, as well as color quality, were affected by the presence of papaya seed flour (HSPa) in dough and bread. A decrease in the values of several functional properties, such as bulk density and foam formation capacity, of the samples containing HSPa that underwent different treatments, was observed compared to the control treatment (HT: 100% wheat flour). The percentage of protein in the HSPa had a value of 21.61% and for the HT of 12.27%, while that of the ether

extract was 22.22% and 1.07%. Regarding crude fiber, the values were 24.46% and 0.061% respectively; while the values for ash were 9.18% and 0.27%, respectively.

Keywords: Composite flour, dough rheology, functional properties, papaya seed flour

1. Introducción

Las enfermedades no transmisibles (ENT) matan a 41 millones de personas cada año, lo que representa el 71% de las muertes en todo el mundo. Los factores de riesgo metabólicos contribuyen a cuatro cambios metabólicos fundamentales que aumentan el riesgo de ENT: aumento de la presión arterial, sobrepeso y obesidad, hiperglucemia e hiperlipidemia (OMS, 2016), todos causados por el consumo excesivo de alimentos altamente procesados. Actualmente, los consumidores buscan opciones más saludables y económicas en el mercado. Además, las industrias de procesamiento de alimentos están combinando nuevas tecnologías para encontrar nuevas formas de obtener y aplicar ingredientes de alta calidad. Se espera que estos ingredientes tengan un valor nutricional igual o mejor que los ingredientes convencionales y propiedades funcionales satisfactorias para el desarrollo de productos alimenticios. (Russo *et al.*, 2021). El procesamiento industrial y el consumo en fresco de la papaya generan grandes cantidades de residuos o subproductos que pueden ser aprovechados. Uno de estos es la semilla del fruto, que se desecha junto con parte de la pulpa y la cáscara. Las semillas tienen un alto contenido de componentes bioactivos como los fenoles que tienen muchos beneficios potenciales para la salud, incluidos efectos antiinflamatorios (Agah *et al.*, 2017), propiedades quimioprotectoras (Amatori *et al.*, 2016) y pueden reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares (Mendonca *et al.*, 2019). Los nutrientes contenidos en estos residuos pueden ser utilizados en la fabricación de ingredientes alimentarios de valor agregado, como pectina y aceites esenciales, entre otros. También se pueden utilizar en la producción de cosméticos, medicamentos y biocombustibles (Pulak y Annegowda, 2021). Un factor importante en la aceptación de nuevos productos alimenticios es la textura, la cual es un conjunto de características físico-sensoriales que están íntimamente relacionadas con las propiedades físico-químicas y funcionales de los componentes de una matriz alimentaria, así como con las variables de operación que se aplican en las diferentes etapas de su procesamiento (Hadradev *et al.*, 2011). La harina producida a partir de semillas de *Carica papaya* es rica en compuestos nutricionales como proteínas, grasa, fibra cruda y elementos minerales (Kure *et al.*, 2021). En las semillas de papaya se encuentran compuestos fenólicos como isotiocianato de bencilo, glucosinolatos, tocoferoles (α y δ), β -criptoxantina, β -caroteno y carotenoides. El aceite extraído de la semilla presenta principalmente ácido graso oleico seguido de palmítico, linoleico y esteárico (Santana *et al.*, 2019). Este residuo se ha utilizado como materia prima para diversos fines, desde la producción de biodiésel y aditivos dietéticos (Senrayan y Venkatachalam, 2018) hasta sustrato para levaduras (Pathak *et al.*, 2018). Las semillas de papaya

también presentan en su constitución diversos fitoquímicos como carpaína, glucotropacholina, bencilisotiocianato (BITC), caricina (sinigrina) y anzimemiosina (Vij y Prashar, 2015). Los fitoquímicos naturales presentes en las semillas son una buena fuente de sustancias antioxidantes, las cuales se han correlacionado con los metabolitos secundarios de la planta, como flavonoides, carotenoides, alcaloides, taninos, tocoferoles, fitoesteroles y compuestos fenólicos (Alotaibi *et al.*, 2017). Algunas investigaciones en el área de alimentos han utilizado harina de semilla de papaya para elaborar carnes como hamburguesas (Azevedo y Campagnol, 2014), o productos de panadería como pan (Kure *et al.*, 2021), obteniendo resultados satisfactorios. Así, el uso de residuos puede ser una alternativa para la suplementación dietética o su incorporación como harina en la preparación de alimentos nutritivos de manera segura y asequible, lo que a su vez contribuye a la estabilidad ambiental (Bursac Kovačević *et al.*, 2020). Por tanto, este trabajo tuvo como objetivo analizar la composición química proximal, el comportamiento tecno-funcional de la harina de semilla de papaya (HSPa) y sus diferentes mezclas, así como el análisis reológico de masas elaboradas con harina de trigo adicionada con HSPa para la elaboración de pan.

2. Materiales y métodos

2.1 Obtención de la materia prima

La semilla se obtuvo del consumo doméstico de frutas o jugos en el mercado municipal de la ciudad de Tulancingo, Hidalgo, México, fueron lavadas a chorro de agua para quitar los restos de mucilago y pulpa que pudieran contener. Se colocaron en charolas metálicas para ser secadas al sol. Una vez secas se guardaron en bolsas herméticas de plástico Ziploc® para su uso posterior en el laboratorio. También se empleó harina de trigo de la marca Osasuna® de los molinos Elizondo.

2.2 Elaboración de harina de semillas de papaya (*Carica papaya*)

Se obtuvieron 2.5 kg de semilla de papaya en base seca, las semillas fueron molturadas en un molino pulverizador monofásico marca semillas de vida modelo ME – 700Y (Semillas de vida, Cuernavaca, Morelos, México). La harina obtenida fue cernida en un tamiz Tyler No. 32 con diámetro de poro 0.425 mm (Tyler, Monterrey, NL, México). Una vez concluido el proceso de molienda y tamizado, se molió la harina 2 veces más para obtener un polvo fino, utilizando una malla Tyler No. 60 con un diámetro de poro de 0.246 mm (Tyler, Monterrey, NL, México). La harina obtenida fue guardada en bolsas herméticas de plástico ziploc®.

2.3 Análisis químico proximal de harina de semillas de papaya y harina de trigo

Se empleó la metodología oficial de la AOAC (2012) para determinar humedad (925.10), cenizas (923.03), extracto etéreo por Soxhlet (920.39), proteína (N x 6.25) por Kjeldahl (951.03) y fibra cruda (985.29), el contenido de carbohidratos se calculó por diferencia.

2.4 Diseño experimental

Se propusieron seis tratamientos con diferentes porcentajes de sustitución (tabla 1) de harina de trigo (HT) por harina de semilla de papaya (HSPa). Foschia *et al.* (2017), Kaur *et al.* (2017) mencionan que la incorporación de harinas alternativas en la elaboración de productos de panadería (galletas, pan, bizcochos, donas) utiliza diferentes porcentajes de sustitución del contenido de harina de trigo.

Tabla 1. Formulación de las mezclas de harina de trigo con sustitución de harinas de semillas de papaya.

Tratamiento	Formulación %	
	Harina de semillas de papaya	Harina de trigo
Control	0	100
Pap1	5	95
Pap2	10	90
Pap3	15	85
Pap4	20	80
Pap5	25	75
Pap6	30	70

2.5 Elaboración de pan

Se utilizaron los tratamientos propuestos en la tabla 1, con los siguientes ingredientes: 180 g de harina, 120 mL de agua, 4.5 g de levadura, 2 g de sal, 1 g de azúcar, 5 g de mantequilla y 2 g de leche en polvo (Güemes, 2002), incorporándolos homogéneamente hasta obtener una masa de 23 g. Se realizaron piezas redondas reposando en molde para hornear cupcake (Wilton 2105-6819 antiadherente 26.2 x 41.5 cm) previamente engrasado, la charola se cubrió con film transparente y se colocó en el fermentador (Infrico, F848, Madrid, España) a 40 °C por 30 min, se hornearon (Hornos América, H3mil, Edo. De México, México) a 180 °C hasta su cocción.

2.6 Determinación de propiedades funcionales en mezclas de harina de trigo con sustitución parcial de harina de semillas de papaya

Se utilizó la metodología descrita por Onwuka (2005), para la capacidad de formación de espuma (CFE), se pesaron 2 g de muestra de cada uno de los tratamientos y se colocaron en una probeta graduada de 100 mL y se agregaron 50 mL de agua destilada. La suspensión se mezcló y agitó vigorosamente para formar espuma, después de 30 seg se determinó el volumen final. En la densidad aparente (DA), las diferentes harinas fueron colocadas suavemente en una probeta graduada de 10 mL, previamente tarada. La parte inferior de la probeta se golpeó suavemente en una superficie plana 50 veces hasta que no hubo más disminución del nivel de la muestra, la densidad aparente se calculó como peso de muestra por unidad de volumen de muestra (g / cm^3). La capacidad de absorción de agua (CAAg), expresa la máxima cantidad de agua que puede ser retenida por gramo de materia seca en presencia de un exceso de agua bajo la acción de una fuerza patrón. Para esta prueba se pesaron 0.5 g de muestra en un tubo de ensayo, se adicionaron 10 mL de agua y se agitó durante 30 min. Luego se centrifugó a temperatura ambiente durante 10 min a 2.918 xg (Hermle z36k, Hermle LaborTechnik, Alemania); se retiró el sobrenadante y se pesó el sedimento, los resultados se expresaron en gramos de agua por gramos de muestra. Para determinar la capacidad de absorción de aceite (CAAc), se mezcló 1 g de las diferentes harinas con 10 mL de aceite de cártamo en un tubo de centrifuga y se dejó reposar a temperatura ambiente durante 1 h. Se centrifugo a temperatura ambiente (Hermle z36k, Hermle LaborTechnik, Alemania) a 81.05 xg por 30 min. Se registro el volumen de aceite libre y aceite decantado. Se expreso la capacidad de absorción de aceite como mL ligados a 100 g de harina seca. La densidad del aceite utilizado fue de 0.927 g/mL.

2.7 Evaluación instrumental del color en harinas de trigo con sustitución parcial de harina de semillas de papaya

Se utilizó un colorímetro Minolta modelo CM508d (Konica Minolta Ltd, Tokio, Japón) con una esfera integradora, geometría d/65 (iluminación de día / ángulo de visión de 8°) y apertura circular de 8 mm de diámetro para obtener las coordenadas de color CIE L^* (luminosidad), a^* (cromaticidad verde – rojo), b^* (cromaticidad azul- amarillo), a partir de estos valores se calculó croma C^* (ecuación 1) y el ángulo Hue (ecuación 2) para el iluminante D65 y un observador estándar de 10°. Para prevenir efectos de almohadillado y evitar ensuciar la esfera de integración interna del instrumento, todas las mediciones de las harinas se realizaron a través de una cubierta transparente de plástico protectora.

Ecuación 1.

$$C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$$

Ecuación 2.

$$h_{ab} = (\arctan(b^*/a^*)) (180/\Pi)$$

2.8 Análisis instrumental de textura en masas elaboradas con mezclas de harina de trigo con sustitución parcial de harinas de semillas de papaya

2.8.1 Análisis de Perfil de Textura (ATP)

Para esta prueba se pesaron 16 g de harina de cada tratamiento y 10 mL de agua destilada para obtener una bola de masa de 25 g que luego se colocó en vidrio acrílico y se dejó reposar por 20 min. La textura de la masa se determinó en un analizador de textura Brookfield CT3™ (Ametek Brookfield, Middleboro, EE. UU.). El proceso consistió en comprimir la masa dos veces consecutivas sobre la base TA-BT-KIT, con un émbolo de aluminio de 36 mm. de diámetro (Sonda: TA3/1000) así como una celda de carga de 4.5 Kg, una velocidad de 1 mm/s, y 20% de deformación. Las masas se dejaron reposar durante 5 seg entre cada compresión y los parámetros de dureza, adhesividad, resiliencia, cohesividad, elasticidad y masticabilidad se obtuvieron de las gráficas de deformación tiempo/fuerza, utilizando el software TexturePro CT (Bourne, 1978). Para las piezas de pan (64.5 D x 103.2 W x 6.5 H cm) se utilizó la misma metodología descrita.

2.8.2 Extensibilidad Biaxial

Se utilizó el texturómetro Texture Analyzer Corp., modelo TA.TX plus (Stable Micro Systems, Surrey, UK) acoplado al sistema de inflado de masas Dobraszczyk/Roberts modelo D/R2. Se preparó una solución de NaCl al 2.5% (p/v) y se pesaron 200 g de harina de cada tratamiento, más 121 mL de la solución salina, se mezclaron para formar una bola. La masa, fue extendida hasta obtener una placa de 8 mm de grosor. Se formaron 5 piezas redondas con ayuda de un cortador de acero inoxidable de 9 mm de diámetro. Cada círculo de masa se presionó 30 seg. Se apilaron en una torre las 5 muestras, tapando el primer retenedor con un disco de acrílico para evitar que la pieza de masa se deshidratara y se dejaron reposar por 30 min. Posteriormente fueron puestos en la plataforma de inflado del equipo, donde se inyectó aire a presión constante, para formar una burbuja hasta reventar (método 54 – 30.02 AACCC, 2000).

2.8.3 Extensibilidad Uniaxial

La extensibilidad en masas fue realizada con el Analizador de Textura Brookfield CT3™ (Ametek Brookfield, Middleboro, USA). Se tomaron 8 g de harina de los tratamientos más 5 mL de agua destilada para formar masas las cuales fueron colocadas en la prensa Kieffer (Kieffer et al., 1998) para dejarlas reposar por un periodo

de 30 min, pasado este tiempo, las tiras de masa fueron retiradas cuidadosamente de la prensa, para evitar su fractura, con ayuda de una espátula. Cada tira de masa fue colocada sobre la placa Kieffer para ser elongada mediante la sonda TA53, moviéndose a velocidad constante de 0.5mm/s hasta lograr su rompimiento, de acuerdo con el método reportado 54-10.01 (A.A.C.C.,2000).

2.8.4 Adhesividad de Chen-Hoseney

Para medir la pegajosidad de las masas, se mezclaron 4 g de harina de cada tratamiento y 2.5 mL de agua destilada y se transfirió a una celda de acero inoxidable. A continuación, la masa se extruyó a través de las aberturas del tamiz (malla 14) girando el émbolo. Se utilizó una espátula para limpiar la masa extrudida de la superficie de la celda. Luego se colocó una cubierta de acrílico sobre la celda para minimizar la pérdida de humedad de la masa. En esta prueba se utilizó el texturómetro Texture Analyzer Corp., modelo TA.TX plus (Stable Micro Systems, Surrey, UK). A la cual se le acoplo una sonda de acrílico de 25 mm de diámetro. La velocidad de prueba fue de 0.5 mm/s (Chen y Hoseney, 1995).

2.9 Análisis estadístico

Se realizó un análisis descriptivo de harina de semilla de papaya y harina de trigo, y los resultados del análisis proximal se expresan como media y desviación estándar. Se utilizó un diseño unidireccional para comparar propiedades funcionales, reología y valores de color, utilizando el modelo estadístico $Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$. Los resultados se analizaron mediante un ANOVA y una prueba de Tukey para demostrar las diferencias de medias, con un nivel de significación de $p < 0.05$, utilizando el software estadístico IBM SPSS Statistics.

3. Resultados y Discusión

3.1 Análisis proximal

Los resultados obtenidos de la composición fisicoquímica de la harina de trigo (HT) y de la harina de semillas de papaya (HSPa) se muestran en la tabla 1, valores que son muy parecido a los reportados por Kure *et al.*, (2021) y Azebedo y Campagnol (2014), quienes reportaron que el contenido de humedad está en un rango de 8.15% a 9.83%, cenizas de 6.43% a 7.46%, proteínas de 25.36% a 28.18%, grasa cruda de 20.97% a 25.41%, fibra cruda de 5.44% a 24.31% y carbohidratos de 13.10% a 25.38%. El contenido de proteínas en la HSPa es comparable con el de las leguminosas que van del 20% – 35% (Jahreis *et al.*, 2016). La harina producida a partir de semillas de *Carica papaya* es rica en compuestos nutricionales como proteínas, aceite, fibra cruda y

elementos minerales (Adesuyi e Ipinmoroti, 2011; Malacrida *et al.*, 2011; Samia *et al.*, 2012; dos Santos *et al.*, 2014; Kadiri, 2017; Kure *et al.*, 2021).

Tabla 2. Composición fisicoquímica (%) de harina de semillas de papaya (*Carica papaya*) y harina de trigo (*Triticum vulgare*).

Parámetro (%)	Harina de trigo	Harina de semillas de papaya
Humedad	10.38 ± 0.55	9.18 ± 0.41
Cenizas	0.27 ± 0.12	6.59 ± 0.05
Proteína	12.27 ± 0.05	21.61 ± 0.21
Extracto etéreo	1.07 ± 0.61	22.22 ± 0.20
Fibra cruda	0.061 ± 0.02	24.46 ± 0.21
Carbohidratos ¹	75.93 ± 0.91	15.92 ± 1.01

Valores promedio de tres repeticiones (n=3) con desviación estándar (±). ¹ valor de los carbohidratos obtenidos por diferencia.

3.2 Propiedades funcionales en mezclas de harina de trigo con sustitución parcial de harina de semillas de papaya

Las propiedades funcionales se han definido como cualquier propiedad fisicoquímica de las proteínas que afecta el comportamiento y las características de los alimentos en los que se encuentran o se añaden y que contribuye a la calidad final del producto. Estas características pueden ser sensoriales, nutricionales y bioquímicas. Las moléculas mencionadas anteriormente también pueden contribuir a determinar la percepción de la calidad y las propiedades organolépticas de los alimentos que dependen principalmente de estas propiedades funcionales (Ifeanyi *et al.*, 2021).

La capacidad de formación de espuma mide la cantidad de área interfacial creada por la proteína durante la formación de espuma (Zhu *et al.*, 2017). De acuerdo con los resultados obtenidos (tabla 3), a medida que aumentó el porcentaje de reposición de HSPa ($p < 0.05$) en los tratamientos, los valores de capacidad espumante disminuyeron (3.84 - 0%) a pap1-pap6 ($p < 0.05$) respectivamente, y el valor más bajo lo obtuvo el tratamiento con pap6 ($p < 0,05$). Esto muestra que habría efectos negativos si se usara HSPa en formulaciones donde se requiere espuma, ya que las espumas se usan para mejorar la textura, consistencia y apariencia de los alimentos. Existen otros factores que influyen en la formación de espuma, como la interacción con los compuestos fenólicos, que a su vez afectan la capacidad de formación de espuma (Pham *et al.*, 2019). Estos intermedios altamente reactivos podrían reaccionar con residuos de aminoácidos nucleofílicos (metionina, lisina, tirosina y cisteína) en cadenas polipeptídicas, generando enlaces cruzados covalentes entre proteínas y compuestos

fenólicos (Sui *et al.*, 2018), lo que podría haber afectado la formación de espuma de los tratamientos utilizados en este estudio.

La densidad aparente es una propiedad física valiosa en la producción a gran escala de un material. Existen diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$) entre la harina de trigo (HT= 0,947 g/mL) y la harina de semilla de papaya (HSPa= 0.726 g/mL) y las harinas compuestas pap1-pap6 (0.734 – 0.612 g/mL). Los valores presentados en este parámetro fueron superiores a los reportados en un estudio realizado por Kure *et al.* (2021), que se centró en la elaboración de pan a base de harina de semilla de papaya. Se encontraron valores de 0.41-0.69 g/cm³ ya que su estudio estableció cinco tratamientos con menores porcentajes de sustitución utilizando harina de semilla de papaya.

La capacidad de absorción de agua (WAC) es un parámetro que da una idea de la absorción de agua de la harina y es un indicador del rendimiento de la masa fresca. Los tratamientos de harina compuesta mostraron un incremento gradual a medida que aumentaba el porcentaje de sustitución de HSPa, con valores entre 1.59 y 2.07 g/g (pap1 – Pap6) mostrando diferencias significativas ($p < 0,05$). La WAC de los tratamientos presentados en este estudio (tabla 3) puede estar relacionada con la disminución del porcentaje de harina de trigo en cada uno de ellos y probablemente se puede atribuir al incremento en el contenido de fibra de la harina de semilla de papaya (HSPa). Afzal *et al.* (2016) determinaron que los altos contenidos de fibra son responsables de una mayor absorción de agua y de la capacidad de unión intramolecular de la harina. Ajjata *et al.* (2016) han sugerido que en la formulación de productos de panadería se pueden utilizar harinas con alta capacidad de absorción de agua, lo que reduce la pérdida de humedad, manteniendo así la frescura en pan, pasteles y embutidos. Los autores afirmaron que estas harinas también podrían usarse como espesante de sopa.

La capacidad de absorción de aceite (OAC) es el atrapamiento físico del aceite por la proteína, a través de sus cadenas laterales no polares, y es importante en la retención del sabor de los alimentos (Iwe *et al.*, 2016). De acuerdo con los resultados obtenidos (Cuadro 3), a medida que aumentó el porcentaje de reemplazo de HSPa en los tratamientos, los valores de retención de aceite disminuyeron (1.604 – 1.478 g/g) a pap1-pap6 ($p < 0.05$) respectivamente y se obtuvo el valor más alto por el tratamiento HT (1.850 g/g). Los resultados obtenidos en esta prueba sugieren la naturaleza lipofílica de los componentes de la harina de semilla de papaya. El aumento del contenido de proteínas hidrofóbicas, exponiendo así más aminoácidos no polares a la grasa, mejora su hidrofobicidad (Adeyeye *et al.*, 2017). Esto podría ser potencialmente útil en la interacción estructural en alimentos que requieren retención de sabor, mejora en la palatabilidad y extensión de la vida útil de productos de panadería, donas, productos horneados o productos cárnicos (Kaushik *et al.*, 2021).

Tabla 3. Propiedades funcionales en mezclas de harina de trigo con sustitución parcial de harina de semillas de papaya.

Tratamiento	Capacidad de formación de espuma (%)	Densidad aparente (g/mL)	Capacidad de absorción de agua (g/g)	Capacidad de absorción de aceite (g/g)
HT	29.23 ± 0.93 ^a	0.947±0.005 ^a	1.56 ± 0.0470 ^b	1.850±0.002 ^a
HSPa	17.57 ± 0.64 ^b	0.726±0.030 ^b	1.70 ± 0.0910 ^b	1.741±0.009 ^a
Pap1	3.84 ± 0.00 ^c	0.734±0.008 ^b	1.59 ± 0.0940 ^b	1.604±0.172 ^a
Pap2	3.84 ± 0.00 ^c	0.707±0.004 ^b	1.69 ± 0.0007 ^b	1.604±0.087 ^a
Pap3	3.21 ± 0.88 ^c	0.694±0.003 ^b	1.79 ± 0.0940 ^b	1.602±0.085 ^{ab}
Pap4	3.21 ± 0.88 ^c	0.687±0.004 ^b	1.99 ± 0.0005 ^a	1.544±0.087 ^b
Pap5	1.96 ± 0.00 ^{cd}	0.680±0.015 ^{bc}	2.04 ± 0.0810 ^a	1.541±0.087 ^b
Pap6	0 ± 0.00 ^d	0.612± 0.028 ^c	2.07 ± 0.1030 ^a	1.478±0.001 ^b

HT= harina de trigo, HSPa= harina de semilla de papaya. Pap1= 95 % HT 5 % HSPa. Pap2= 90 % HT 10 % HSPa. Pap3= 85 % HT 15 % HSPa. Pap4= 80 % HT 20 % HSPa. Pap5= 75 % HT 25 % HSPa. Pap6= 70 % HT 30 % HSPa. Valores con letras diferentes en la misma columna son significativamente diferentes $p < 0,05$ (n=3).

3.3 Evaluación instrumental del color en harinas de trigo con sustitución parcial de harina de semillas de papaya (*Carica papaya*)

Los resultados obtenidos de esta prueba se ven afectados por la presencia de harina de semilla de papaya (HSPa). En la tabla 4 se puede observar que la luminosidad (L^*) en los tratamientos testigo y aquellos con 5% de HSPa tienen valores cercanos a 100 indicando su aproximación a la coloración blanca. Los valores en el resto de los tratamientos disminuyen secuencialmente a medida que aumenta el porcentaje de sustitución de HSPa con tendencia a una coloración negra (valor de 0). Valores superiores a 90 en el parámetro L^* indican un grado satisfactorio de blancura/pureza en las harinas, y que las diferencias con la harina se pueden explicar por la presencia de antocianinas y carotenoides (Wang *et al.*, 2021). En consecuencia, los diferentes tratamientos en esta investigación pueden reconocerse fácilmente por su color (figura 1). La coordenada a^* define la desviación del punto acromático hacia una coloración roja con todos los valores registrados como positivos (Tabla 4). Asimismo, la coordenada b^* define la desviación hacia una coloración amarilla con todos los tratamientos con valores positivos. Los valores de C^* y h_{ab}^* permiten una representación más intuitiva del color, siendo C^* la fuerza del color o la intensidad para un tono diferente. Los tonos más intensos se encuentran en HSPa (9.66).

Tabla 4. Parámetros de color en harinas y pan con sustitución parcial de harina de trigo por harina de semillas de papaya.

Tratamiento	Variable				
	L^*	a^*	b^*	C^*	h_{ab}^*
HSPa	35.90 ± 0.40 ^a	3.53 ± 0.07 ^g	8.80 ± 0.09 ^f	9.66 ± 0.10 ^e	68.60 ± 0.27 ^a
HT	85.30 ± 2.54 ^f	0.61 ± 0.08 ^b	7.61 ± 0.24 ^c	7.63 ± 0.25 ^c	85.48 ± 0.52 ^f
Pap1	81.00 ± 0.95 ^e	0.50 ± 0.09 ^a	6.12 ± 0.14 ^b	6.14 ± 0.15 ^b	85.39 ± 0.66 ^f
Pap2	85.40 ± 0.66 ^e	0.71 ± 0.05 ^b	5.72 ± 0.18 ^a	5.80 ± 0.18 ^a	82.94 ± 0.56 ^e
Pap3	72.60 ± 1.72 ^d	1.08 ± 0.08 ^c	6.25 ± 0.12 ^b	6.40 ± 0.12 ^b	80.17 ± 0.79 ^d
Pap4	70.08 ± 0.17 ^d	1.30 ± 0.05 ^d	6.18 ± 0.17 ^b	6.32 ± 0.17 ^b	78.11 ± 0.50 ^c
Pap5	61.10 ± 1.03 ^c	2.18 ± 0.10 ^e	7.46 ± 0.16 ^c	7.80 ± 0.18 ^c	73.74 ± 0.41 ^b

Pap6	51.326 ± 0.60 ^b	3.30 ± 0.07 ^f	8.65 ± 0.16 ^e	9.26 ± 0.17 ^d	69.12 ± 0.24 ^a
B-control	82.10 ± 0.57 ^f	0.76 ± 0.16 ^a	20.79 ± 0.74 ^a	20.81 ± 0.74 ^a	87.92 ± 0.45 ^c
B-pap1	40.65 ± 1.01 ^e	8.55 ± 0.24 ^b	28.69 ± 0.73 ^b	29.94 ± 0.73 ^b	73.41 ± 0.50 ^{ab}
B-pap2	29.17 ± 2.31 ^d	10.09 ± 0.57 ^b	34.70 ± 1.44 ^d	31.80 ± 3.63 ^{bc}	73.81 ± 0.33 ^{ab}
B-pap3	28.40 ± 1.34 ^{cd}	9.59 ± 0.88 ^b	32.57 ± 2.19 ^{cd}	33.40 ± 2.34 ^{cd}	73.63 ± 0.51 ^{ab}
B-pap4	26.68 ± 1.92 ^c	9.68 ± 0.70 ^b	32.45 ± 1.65 ^{cd}	33.86 ± 1.75 ^{cd}	73.40 ± 0.65 ^{ab}
B-pap5	24.28 ± 1.35 ^b	8.83 ± 2.63 ^b	32.60 ± 0.66 ^{cd}	33.90 ± 0.94 ^{cd}	74.94 ± 4.39 ^b
B-pap6	19.24 ± 2.23 ^a	9.84 ± 1.02 ^b	30.20 ± 3.78 ^{bc}	36.14 ± 1.54 ^d	71.79 ± 2.69 ^a

B= pan. Pap1= 95 % HT 5 % HSPa. Pap2= 90 % HT 10 % HSPa. Pap3= 85 % HT 15 % HSPa. Pap4= 80 % HT 20 % HSPa. Pap5= 75 % HT 25 % HSPa. Pap6= 70 % HT 30 % HSPa L*(luminosidad con L = 100 para luminosidad y L = cero para oscuridad), a*[(cromaticidad sobre un verde (-) a rojo (+)], b*[(cromaticidad sobre un azul (-) a amarillo (+)]. C = índice de saturación de color. hab = ángulo de tono [(ángulo de matiz donde 0° = rojo a púrpura, 90° = amarillo, 180° = azulado a verde y 270° = escala azul Valores con letras diferentes en la misma columna son significativamente diferentes p < 0,05 (n=10).

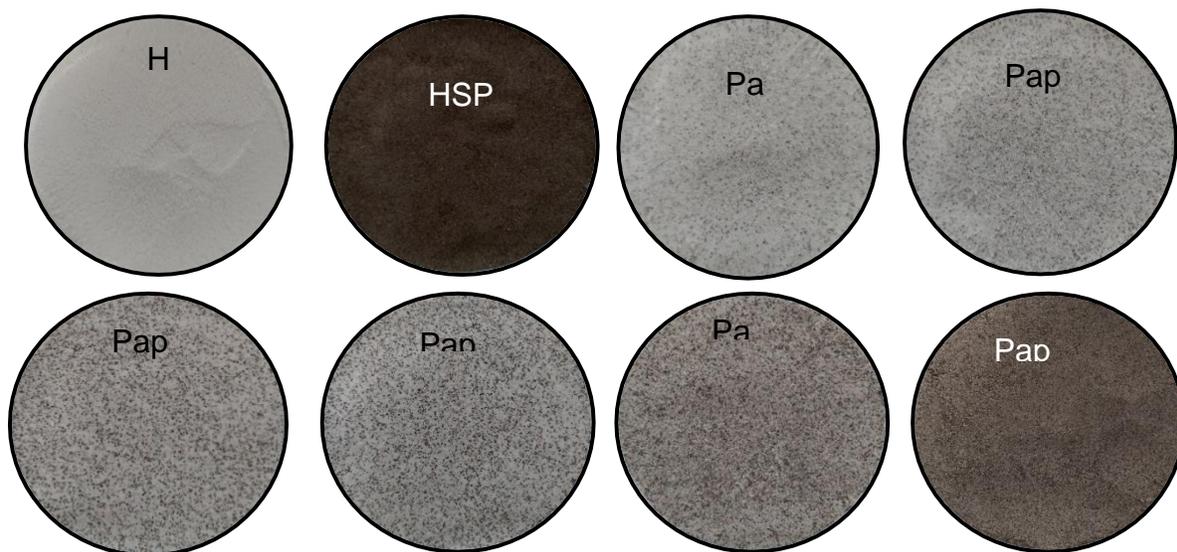


Figura 1. Color de las diferentes harinas. HT= harina de trigo, HSPa= harina de semillas de papaya, Pap1= 95 % HT+ 5 % HSPa. Pap2=90 % HT+ 10 % HSPa. Pap3= 85 % HT+ 15 % HSPa. Pap4= 80 % HT+ 20 % HSPa. Pap5= 75 % HT+ 25 % HSPa. Pap6= 70 % HT+ 30 % HSPa.

3.4 Análisis de Perfil de Textura en masas y panes elaboradas con mezclas de harina de trigo con sustitución parcial de harinas de semillas de papaya.

Los resultados obtenidos en el parámetro de dureza muestran (tabla 5) que la fuerza máxima producida durante la primera compresión aumenta a medida que aumenta el porcentaje de sustitución de HSPa, siendo el tratamiento control el que presenta los valores más bajos de 1.386 N para masa y 1.846 N para pan. Sin embargo, en el parámetro de resiliencia la recuperación de la altura original fue como la masa control (0.099) en los tratamientos pap1 (0.103), pap2 (0.094), pap3 (0.089) y pap6 (0.090) ($p < 0.05$). En el caso del pan blanco, los tratamientos más parecidos al testigo (0.147) fueron los tratamientos B-pap1 (0.162), B-pap2 (0.142), B-pap5 (0.133) y B-pap6 (0.125). Según los resultados de la masa en cohesividad, hubo diferencia significativa entre el control (0.393) y el tratamiento pap5 (0.488) con 25 % de sustitución de HSPa, presentando la mayor cohesión, esta masa será más tolerante a los esfuerzos de fabricación del producto final. A diferencia de los panes que presentaron menor cohesión fueron los tratamientos B-pap5 y B-pap6 (0.353), no se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre el tratamiento B-control (0.461) y el B-pap1 (0.442), B-pap2 (0.421), B-pap3 (0.485). En la recuperación elástica relativa entre los tratamientos hubo diferencias significativas ($p < 0.05$) entre la masa testigo (0.486) y el resto de los tratamientos (0.516 a 0.550), en los tratamientos pan no se encontraron diferencias significativas entre el testigo B (0.582) y los tratamientos B-pap2 (0.617) y B-pap6 (0.624). En cuanto a la masticabilidad, hubo diferencias significativas ($p < 0.05$) entre la masa control (0.264) y los demás tratamientos (0.330 a 0.575), para pan el control B presentó el valor más bajo (0.495) y el valor más alto fue para el B -tratamiento pap4 (2.258). Este aumento en el porcentaje de sustitución de la harina de semilla de papaya afectó el comportamiento textural de la masa y el pan. El estudio de Sanju y Kawaliit (2018) sugiere que este aumento podría deberse a la disminución del gluten.

Tabla 5. Análisis de perfil de textura (ATP) en masas elaboradas con mezclas de harina de trigo con sustitución parcial de harina de semillas de papaya.

Tratamiento	Dureza (N)	Resiliencia	Cohesividad	Elasticidad	Masticabilidad
Control	1.386±0.18 ^a	0.099± 0.01 ^{bc}	0.393 ± 0.02 ^a	0.486 ± 0.03 ^b	0.264 ± 0.05 ^a
Pap1	1.654±0.29 ^{ab}	0.103± 0.01 ^c	0.391± 0.02 ^a	0.533 ± 0.02 ^a	0.330 ± 0.10 ^b

Pap2	1.869±0.29 ^{ab}	0.094± 0.01 ^{bc}	0.391± 0.04 ^a	0.543 ± 0.09 ^a	0.478 ± 0.04 ^b
Pap3	2.177±0.39 ^{bc}	0.089± 0.01 ^b	0.396± 0.03 ^a	0.550± 0.06 ^a	0.525 ± 0.02 ^b
Pap4	2.626±0.50 ^{cd}	0.078± 0.01 ^a	0.410± 0.05 ^a	0.517± 0.08 ^a	0.536 ± 0.04 ^b
Pap5	2.767±0.29 ^d	0.077± 0.01 ^a	0.488 ± 0.05 ^b	0.532± 0.06 ^a	0.575 ± 0.01 ^b
Pap6	2.443 ±0.46 ^{cd}	0.090± 0.01 ^b	0.426 ± 0.03 ^a	0.516± 0.04 ^a	0.502 ± 0.12 ^c
B-control	1.846 ± 0.42 ^a	0.147 ± 0.02 ^{ab}	0.461 ± 0.02 ^{bc}	0.582± 0.02 ^a	0.495 ± 0.11 ^a
B-pap1	2.476 ± 0.21 ^{ab}	0.162 ± 0.02 ^b	0.442 ± 0.03 ^{bc}	0.700 ± 0.03 ^b	0.765 ± 0.07 ^{bc}
B-pap2	2.646 ± 0.23 ^b	0.142 ± 0.02 ^{ab}	0.421 ± 0.04 ^b	0.617 ± 0.02 ^a	0.689 ± 0.10 ^{ab}
B-pap3	3.092± 0.28 ^b	0.198 ± 0.02 ^c	0.485 ± 0.03 ^c	0.707 ± 0.03 ^b	1.062 ± 0.12 ^d
B-pap4	5.413 ± 0.23 ^d	0.270 ± 0.02 ^d	0.578 ± 0.04 ^d	0.808 ± 0.03 ^c	2.528 ± 0.20 ^e
B-pap5	4.163 ± 0.46 ^c	0.133± 0.01 ^a	0.353± 0.03 ^a	0.675 ± 0.03 ^b	0.988 ± 0.09 ^{cd}
B-pap6	4.215 ± 0.89 ^c	0.125± 0.01 ^a	0.353 ± 0.03 ^a	0.624 ± 0.03 ^a	0.937 ± 0.25 ^{cd}

B=pan. Pap1= 95 % HT 5 % HSPa. Pap2= 90 % HT 10 % HSPa. Pap3= 85 % HT 15 % HSPa. Pap4= 80 % HT 20 % HSPa. Pap5= 75 % HT 25 % HSPa. Pap6= 70 % HT 30 % HSPa. Valores con letras diferentes en la misma columna son significativamente diferentes

3.5 Extensibilidad Biaxial en mezclas de masas de harina de trigo con sustitución parcial de harina de semillas de papaya.

Los resultados obtenidos en el ensayo de extensibilidad biaxial (tabla 6) muestran que cuando se mezcló el HSPa en los diferentes tratamientos, hubo un incremento estadísticamente significativo ($p < 0.05$) en la tenacidad con respecto al control. Tiwari *et al.* (2008) concluyeron que, si la masa presenta mayor extensibilidad, se producirá un aumento del tamaño del pan, debido a una menor probabilidad de que la red glutínica se rompa durante la fermentación. En cuanto a la extensibilidad (L), esta disminuyó significativamente en todos los tratamientos con respecto al testigo. Esto indica que, en general, agregar HSPa aumenta la tenacidad y disminuye la extensibilidad. Serna-Saldívar (2000) explica que la estabilidad de la masa y la máxima consistencia durante el amasado están influenciadas principalmente por el contenido proteico, la calidad del gluten y la resistencia a las fuerzas de amasado. Cuando los valores de P/L son superiores a 1 (tenaz) hay más glutelinas y menos gliadinas. Cuando los valores son inferiores a 1 (extensible) hay más gliadinas y menos glutelinas. Cuando estos valores son iguales a 1 (equilibrado) existe un contenido equilibrado entre glutelinas y gliadinas (Serna-Saldívar, 2012). Estadísticamente, el trabajo de deformación W no se vio afectado por la presencia de HSPa ($p < 0.05$), ya que todos los tratamientos requirieron menos de 200×10^{-4} J para deformarse hasta romperse, lo que indica que se trataba de harinas débiles.

Tabla 6. Extensibilidad Biaxial en masas elaboradas con mezclas de harina de trigo con sustitución parcial de harina de semillas de papaya.

Tratamiento	Variable			
	P(mm) \bar{x}	L(mm) \bar{x}	P/ \bar{L}	W (10^{-4} J) \bar{x}
Control	128.7 \pm 1.108 ^a	33.05 \pm 7.182 ^c	0.40 \pm 0.098 ^a	121.18 \pm 10.34 ^a
Pap1	156.3 \pm 2.843 ^a	16.30 \pm 2.868 ^b	0.97 \pm 0.179 ^a	121.90 \pm 7.30 ^a
Pap2	197.9 \pm 3.645 ^{ab}	14.12 \pm 3.393 ^{ab}	1.42 \pm 0.167 ^a	143.59 \pm 6.10 ^b
Pap3	301.7 \pm 4.880 ^{bc}	8.62 \pm 1.078 ^a	3.60 \pm 1.072 ^b	156.41 \pm 10.98 ^{bc}
Pap4	347.4 \pm 5.482 ^d	12.35 \pm 2.871 ^{ab}	3.50 \pm 0.514 ^b	176.94 \pm 13.13 ^{cd}

Pap5	323.7 ± 4.032 ^d	9.37 ± 1.608 ^{ab}	3.49 ± 0.455 ^b	180.60 ± 8.60 ^d
Pap6	246.6 ± 2.995 ^e	8.81 ± 0.791 ^a	2.79 ± 0.131 ^b	190.85 ± 13.31 ^d

Pap1= 95 % HT 5 % HSPa. Pap2= 90 % HT 10 % HSPa. Pap3= 85 % HT 15 % HSPa. Pap4= 80 % HT 20 % HSPa. Pap5= 75 % HT 25 % HSPa. Pap6= 70 % HT 30 % HSPa. \bar{P} =dureza de la masa, \bar{L} = extensibilidad de la masa, \bar{P}/\bar{L} = relación de configuración de la curva, \bar{W} = resistencia al horneado de la masa. Valores con letras diferentes en la misma columna son significativamente diferentes $p \leq 0.05$ (n=5).

3.6 Extensibilidad Uniaxial en mezclas de masas de harina de trigo con sustitución parcial de harina de semillas de papaya (*Carica papaya*)

La compresión uniaxial simple mide el estrés y las deformaciones en cargas de fuerza específicas y es el tipo de prueba fundamental más utilizado en alimentos. Con este ensayo se analizan los parámetros de máxima resistencia a la extensión (Rm) y máxima extensibilidad (Em). Se puede observar (tabla 7) que el tratamiento testigo (100% HT= 55.80 mm) presenta la mayor extensibilidad. Además, la resistencia al estiramiento aumenta a medida que aumenta el porcentaje de HSPa añadido ($p < 0.05$). En cuanto a la extensibilidad máxima, se puede observar que disminuye a medida que aumentan los porcentajes de HSPa. Se ha informado que Em y Rm dependen, en diferentes grados, de la composición proteica, mientras que la extensibilidad depende de la cantidad total de glutenina en la harina, con Rm relacionado con la proporción de proteínas poliméricas a monoméricas (MacRitchie, 1992).

Tabla 7. Extensibilidad Uniaxial en masas elaboradas con mezclas de harina de trigo con sustitución parcial de harina de semillas de papaya.

Tratamiento	Variable	
	\bar{R}_m (N)	\bar{E}_m (mm)
Control	0.148 ± 0.041 ^a	55.80 ± 19.639 ^c
Pap1	0.173 ± 0.023 ^{ab}	35.80 ± 9.324 ^b
Pap2	0.208 ± 0.035 ^b	29.44 ± 3.158 ^b
Pap3	0.260 ± 0.054 ^c	20.30 ± 4.922 ^a

Pap4	0.346 ± 0.036 ^d	16.84 ± 2.262 ^a
Pap5	0.302 ± 0.076 ^{cd}	14.11 ± 4.594 ^a
Pap6	0.278 ± 0.054 ^c	14.10 ± 2.289 ^a

Pap1= 95 % HT 5 % HSPa. Pap2= 90 % HT 10 % HSPa. Pap3= 85 % HT 15 % HSPa. Pap4= 80 % HT 20 % HSPa. Pap5= 75 % HT 25 % HSPa. Pap6= 70 % HT 30 % HSPa. $\bar{R}m$ = máxima resistencia a la extensión, $\bar{E}m$ = máxima extensión. Valores con letras diferentes en la misma columna son significativamente diferentes $p<0.05$ (n=17).

3.7 Adhesividad de Chen-Hoseney en mezclas de masas de harina de trigo con sustitución parcial de harina de semillas de papaya.

La adición de harina de semilla de papaya (HSPa) modificó los parámetros de pegajosidad, adhesividad y cohesividad de las masas (tabla 8) encontrando diferencias significativas ($p<0.05$) entre los tratamientos con una sustitución del 15 – 30% y el testigo el tratamiento con el valor más alto, por lo tanto, tuvo la mayor cantidad de adherencia. La pegajosidad de la masa preparada con harina de semillas de papaya conduce a la pérdida de calidad de la masa durante el amasado. Finalmente, es probable que los valores de pegajosidad de las masas preparadas a partir de harina de semilla de papaya encontrados en la prueba de pegajosidad de Hoseney conduzcan a una pérdida de calidad durante el amasado. Banjade *et al.* (2019), determinaron que la pegajosidad de la masa puede causar problemas en la fabricación a gran escala.

Tabla 8. Prueba de adhesividad de Chen-Hoseney en masas elaboradas con mezclas de harina de trigo con sustitución parcial de harina de semillas de papaya.

Tratamiento	Variable		
	Pegajosidad (g)	Adhesividad (g.s)	Cohesividad (mm)
Control	24.372 ± 4.094 ^d	1.555 ± 0.526 ^c	1.334 ± 0.688 ^c
Pap1	23.777 ± 3.102 ^{cd}	1.163 ± 0.706 ^{bc}	1.157 ± 0.671 ^c
Pap2	23.660 ± 2.340 ^{cd}	1.090 ± 0.342 ^b	1.031 ± 0.492 ^{bc}
Pap3	20.873 ± 1.684 ^{bc}	0.645 ± 0.235 ^a	0.577 ± 0.387 ^{ab}
Pap4	18.938 ± 2.018 ^b	0.540 ± 0.074 ^a	0.445 ± 0.062 ^a
Pap5	15.314 ± 1.861 ^a	0.322 ± 0.042 ^a	0.312 ± 0.039 ^a
Pap6	14.791 ± 2.379 ^a	0.318 ± 0.177 ^a	0.298 ± 0.149 ^a

Pap1= 95 % HT 5 % HSPa. Pap2= 90 % HT 10 % HSPa. Pap3= 85 % HT 15 % HSPa. Pap4= 80 % HT 20 % HSPa. Pap5= 75 % HT 25 % HSPa. Pap6= 70 % HT 30 % HSPa. Valores con letras diferentes en la misma columna son significativamente diferentes $p < 0.05$ (n=14).

4. Conclusiones

Los resultados obtenidos muestran que HSPa tiene un mayor contenido de nutrientes en comparación con la harina de trigo. La proteína y la fibra inciden en las propiedades funcionales analizadas ya que mejoran la capacidad de retención de agua. Sin embargo, no es adecuado utilizar esta harina compuesta en productos alimenticios donde se requiera la necesaria incorporación de aire en su formulación (helados, repostería), aunque es posible utilizarla en alimentos rebozados o fritos cuanto mayor sea la porcentaje de HSPa utilizado, menor será la absorción de aceite durante la fritura. Los tratamientos con 5 % y 10 % de sustitución de harina de semilla de papaya fueron los que más se asemejaron al tratamiento control en cuanto a propiedades texturales, demostrando que pueden ser utilizados en la elaboración de ciertos

productos de panadería, como pan blanco e incluso muffins o donas. Los resultados preliminares obtenidos en este estudio brindan una base para innovar en el diseño y formulación de productos de panadería además de ofrecer al consumidor alimentos saludables ya que HSPa es bajo en carbohidratos y alto en fibra y proteína.

5. Referencias bibliográficas

Adesuyi, A.O., y. Ipinmoroti, K.O (2011). The Nutritional and Functional Properties of the Seed Flour of Three Varieties of *Carica papaya*. *Current Research in Chemistry*, 3: 70-75. DOI: 10.3923/crc.2011.70.75

Adeyeye, S., Adebayo-Oyetero, Abiodun., Omoniyi, S. (2017). Quality and sensory properties of maize flour cookies enriched with soy protein isolate. *Cogent Food and Agriculture*. 2. DOI:10.1080/23311932.2017.1278827.

Afzal, B., Pasha, I., Zahoor, T., Nawaz, H. (2016). Nutritional potential of fenugreek supplemented bread with special preference to antioxidant profiling. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 53(1): 217-223. DOI: 10.21162/PAKJAS/16.4664

Agah, S., Kim, H., Mertens-Talcott, SU., Awika, JM. (2017). Complementary cereals and legumes for health: Synergistic interaction of sorghum flavones and cowpea flavonols against LPS-induced inflammation in colonic myofibroblasts. *Molecular Nutrition and Food Research*, 61(7). DOI: 10.1002/mnfr.201600625.

Ajjata, M.A., Akinola, S.A., Osundahunsi, O.F. (2016). Proximate, functional, and pasting properties of composite flours made from wheat, breadfruit and cassava starch. *Appl. Trop. Agric.* 21 (3), 158–165. <https://journals.futa.edu.ng/home/paperd/98/5/1>

Alotaibi, A., Perry, L., Gholizadeh, L., & Al-Ganmi, A. (2017). Incidence and prevalence rates of diabetes mellitus in Saudi Arabia: An overview. *Journal of Epidemiology and Global Health*, 7(4), 211– 218. DOI: 10.1016/j.jegh.2017.10.001.

Amatori, S., Mazzoni, L., Alvarez-Suarez, JM., Giampieri, F., Gasparrini, M., Forbes-Hernandez, TY., Battino, M. (2016). Polyphenolrich strawberry extract (PRSE) shows in vitro and in vivo biological activity against invasive breast cancer cells. *Scientific Reports*, 6, 30917. DOI: 10.1038/srep30917.

American Association of Cereal Chemists. (2000). *Approved Methods of the AACC*, 10th Ed. The Association: St.Paul, MN, USA.

Association of Official Analytical Chemists (AOAC). (2012). *Official Methods of Analysis of AOAC International*. 19th edition. AOAC International, Gaithersburg, Maryland, USA.

Azevedo, L. A., y Campagnol, P. C. B. (2014). Papaya seed flour (*Carica papaya*) affects the technological and sensory quality of hamburgers. *International Food Research Journal*, 21(6), 2141.

Banjade, JD., Tyl, CE., Schoenfuss, T. (2019). Effect of dough conditioners and refinement on intermediate wheatgrass (*Thinopyrum intermedium*) bread. LWT -Food Science and Technology, volume 115, Article 108442 ISSN 0023-6438, DOI: /10.1016/j.lwt.2019.108442.

Bourne, MC. (1978). Texture Profile Analysis. Food Technology, 32, 62-66, 72.

Bursać Kovačević, D., Brdar, D., Fabečić, P., Barba, JF., Lorenzo JM, Putnik, P. (2020). Strategies to achieve a healthy and balanced diet: fruits and vegetables as a natural source of bioactive compounds, Strategies of the agri-food industry for healthy eating Diets and Sustainability. DOI:10.1016/B978-0-12-817226-1.00002-3, (51-88).

Chen, WZ. and Hosney, RC. (1995). Wheat Flour Compound that Produces Sticky Dough: Isolation and Identification, J. Food Sci., 60(3):434-437. DOI: 10.1111/j.1365-2621.1995.tb09797.x

Foschia, M., S.W. Horstmann, E. K. Arendt and E. Zannini. (2017). Legumes as functional ingredients in gluten-free bakery and pasta products. Annual Review of Food Science and Technology 8: 75–96. DOI: 10.1146/annurev-food-030216-030045.

Güemes, N. (2002). Tesis "Características Reológicas, Sensoriales y nutricionales de masas y productos de panificación fortificados con *lupinus mutabilis*". México: IPN.

Hadnadev TD, Torbica A, Hadnadev M. (2011). Rheological properties of wheat flour substitutes/alternative crops assessed by Mixolab. Procedia Food Sci. 1 (0): 328-334. DOI: 10.1016/j.profoo.2011.09.051.

Ifeanyi, D., Nwachukwu, R., Aluko, E. (2021). CHAPTER 1: Food Protein Structures, Functionality and Product Development, in Food Proteins and Peptides: Emerging Biofunctions, Food and Biomaterial Applications, pp. 1-33 From Book Series: Food Chemistry, Function and Analysis. DOI: 10.1039/9781839163425-00001 SBN: 978-1-83916-342-5

Iwe, MO., Onyeukwu, U. and Agiriga, NA. (2016). Proximate, functional & pasting properties of faro 44 rice, African yam bean and brown cowpea seeds composite flour. Cogent Food & Agriculture, 2: 1142409. DOI: 10.1080/23311932.2016.1142409.

Jahreis, G., Brese, M., Leiterer, M., Schäfer, U., Böhm, V. (2016). Legume flours: Nutritionally important sources of protein and dietary fiber. Ernährungs Umschau. 63. 36-42. DOI: 10.4455/eu.2016.007.

Kadiri OP. (2017). Studies on the chemical composition, functional and antioxidant properties of *Carica papaya* (Pawpaw) seed flour, protein concentrate and protein isolate. M.Sc. thesis. Department of food science and technology. Obafemi Awolowo University, Ile-ife, Nigeria.157 DOI: 10.13140/RG.2.2.17265.28005

Kaur, PJ, Sharma, P., Kumar, V., Panghal, A., Kaur, J. y Gat, Y. (2017). Effect of addition of flaxseed flour on phytochemical, physicochemical, nutritional, and textural

properties of cookies. Journal of the Saudi Society for Agricultural Sciences. DOI: 10.1016/j.jssas.2017.12.004.

Kaushik, N., Yadav, P., Khandal, KR. and Aggarwal, M. (2021). Review of ways to enhance the nutritional properties of millets for their value-addition. Journal of Food Processing and Preservation, 1-18. DOI: 10.1111/jfpp.15550.

Kieffer, RH., Wieser, MH., Henderson, AG. Correlations of the breadmaking performance of wheat flour with rheological measurements on a micro-scale. J. Cer. Sci. 27:53-60. (1998). DOI: 10.1006/JCRS.1997.0136.

Kure, OA., Inelo, ED., and Donaldben, NS. (2021). Effects of Pawpaw (*Carica papaya*) Seed Flour Addition on the Quality of Wheat Bread. Asian Food Science Journal, 20(4), 51-63. DOI: 10.1006/JCRS.1997.0136.

Malacrida C.R., Kimura M., Jorge N. (2011). Characterization of a high oleic oil extracted from papaya (*Carica papaya* L.) seeds. Food Sci. Technol. 2011; 31:929–934. Doi: 10.1590/S0101-20612011000400016.

MacRitchie, F. (1992). Physicochemical properties of wheat proteins in relation to functionality. In: Advances in Food and Nutrition Research, Volume 36. J E Kinsella (ed.) Academic Press, Inc. NY.pp:1-87. DOI: 10.1016/S1043-4526(08)60104-7.

Mendonca, RD., Carvalho, NC., Martin-Moreno, JM., Pimenta, AM., Lopes, ACS., Gea, A., Bes-Rastrollo, M. (2019). Total polyphenol intake, polyphenol subtypes and incidence of cardiovascular disease: The SUN cohort study. Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases, 29(1), 69–78. DOI: 10.1016/j.numecd.2018.09.012.

Onwuka GI (2005). Food analysis and instrument (theory and practice). Department of Food Science and Technology, Michael Okpara University of Agriculture.

Organización Mundial de la Salud Reporte. (2016). Risk Factors Collaborators. Global, regional, and national comparative risk assessment of 79 behavioral, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks, 1990–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. Lancet, 2016; 388(10053):1659-1724.

Pathak, G., Das, D., Rajkumari, K., & Rokhum, S. L. (2018). Exploiting waste: towards a sustainable production of biodiesel using *Musa acuminata* peel ash as a heterogeneous catalyst. Green Chemistry, 20(10), 2365-2373. DOI: 10.1039/C8GC00071A.

Pham, LB., Wang, B., Zisu, B., Adhikari, B. (2019). Covalent modification of flaxseed protein isolates by phenolic compounds and the structure and functional properties of the adducts. Food Chem., 293, 463–471. DOI: 10.1016/j.foodchem.2019.04.123.

Pulak, M., Annegowda, HV. (2021). Fruit and vegetable by-products: novel ingredients for a sustainable society, Recovery of waste and agri-food by-products, DOI: 10.1016/B978-0-12-824044-1.00006-4, (133-156).

- Russo, C., Maugeri, A., Lombardo, GE., Musumeci, L., Barreca, D., Rapisarda, A., Cirimi, S., Navarra, M. (2021). The Second Life of Citrus Fruit Waste: A Valuable Source of Bioactive Compounds, *Molecules*, DOI:10.3390/molecules26195991, 26, 19, (5991).
- Sanju, BD., Kawaljit, SS. (2018). Wheat-Fenugreek Composite Flour Noodles: Effect on Functional, gelatinization, Cooking and Sensory Properties. *Curr. Res. Food Nutr.* 2018, 6, 174–182. DOI:10.12944/CRNFSJ.6.1.20.
- Santana LF, Inada AC, Espirito Santo BLS, Filiú WFO, Pott A, Alves FM, Guimarães RCA, Freitas KC, Hiane PA. (2019). Nutraceutical Potential of *Carica papaya* in Metabolic Syndrome. *Nutrients*. 2019 Jul 16;11(7):1608. DOI: 10.3390/nu11071608. PMID:31315213; PMCID: PMC6682863.
- dos Santos, C. Abreu, C. Freire, J. Queiroz, E. and Mendonça, M. (2014). Chemical characterization of the flour of peel and seed from two papaya cultivars. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 34. DOI:10.1590/fst.2014.0048.
- Samia FE, Rabab HS, Abd-El-Ghany ME. (2012). Chemical and nutritional evaluation of different seed flours as novel sources of protein. *World Journal of Dairy and Food Sciences*. 7(1):59-65. DOI: 10.5829/idosi.wjdfs.2012.7.1.61215
- Senrayan, J. and Venkatachalam, S. (2018). Solvent-assisted extraction of oil from papaya (*Carica papaya* L.) seeds: evaluation of its physicochemical properties and fatty-acid composition. *Separation Science and Technology*. 53. 1-8. DOI:10.1080/01496395.2018.1480632.
- Serna-Saldívar, SO. (2000). *Manual of Science and Technology of Cereals* 2nd edition. CRC Press. ISBN 9780429116605.
- Serna-Saldívar, SO. (2012). *Cereal Grains: Laboratory Reference and Procedures Manual*. CRC Press. ISBN 978-1-4398-5565-2. Retrieved May 08, 2022.
- Sui, X., Sun, HB., Qi, M., Zhang, Li, Y., and Jiang, L. (2018). Functional and conformational changes to soy proteins accompanying anthocyanins: Focus on covalent and non-covalent interactions. *Food Chemistry* 245:871–8. DOI: 10.1016/j.foodchem.2017.11.090.
- Tiwari, BK., Tiwari, U., Mohan, RJ., and Alagusundaram, K. (2008). Effects of various pre-treatments on functional, physicochemical, and cooking properties of pigeon pea (*Cajanus cajan* L.). *Food Sci. Technol.* 14:487–495. DOI: 10.1177/1082013208101023.
- Vij, T. and Prashar, Y. (2015). A review on medicinal properties of *Carica papaya* Linn., *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, Volume 5, Issue 1. Pages 1-6, ISSN 2222-1808, DOI: 10.1016/S2222-1808(14)60617-4.
- Wang, H., Yang, Q., Gao, L., Gong, X., Qu, Y., Feng, B. (2021). Functional and physicochemical properties of flours and starches from different tuber crops.

International Journal of Biological Macromolecules, 148, 324-332. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2020.01.146. PMid:31954784.

Zhu, SM., Lin, SL., Ramaswamy, HS., Yu, Y. and Zhang, QT. (2017). Enhancement of functional properties of rice bran proteins by high pressure treatment and their correlation with Surface hydrophobicity. Food Bioprocess Technology, 10, 317–327. DOI: 10.1007/s11947-016 -1818-7.



Contents lists available at ScienceDirect

International Journal of Gastronomy and Food Science

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ijgfs

Proximate chemical, functional, and texture characterization of papaya seed flour (*Carica papaya*) for the preparation of bread

Elizabeth Mérida Lira, Sergio Soto Simental, Víctor Manuel Martínez Juárez, Aurora Quintero Lira, Javier Piloni Martini*

Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Rancho Universitario, Avenida Universidad Km. 1, Ex-Hacienda de Aquetzalpa, Tulancingo, Hidalgo, CP. 43600, Mexico

ARTICLE INFO

Keywords:

Composite flour
Dough rheology
Functional properties
Papaya seed flour

ABSTRACT

Papaya seeds have important nutritional value and suitable functional properties for use in elaborating bakery products. The objective of this study was to determine the influence of substituting *Carica papaya* seeds flour for wheat flour in the preparation of white bread. Chemical composition, functional properties, and color were determined in flour. Dough's textural tests (Uniaxial and biaxial extensibility, texture profile analysis -TPA-, adhesiveness) were conducted. TPA and color were measured on white bread. The results indicate that the maximum hardness, firmness, adhesiveness, cohesiveness, tenacity, and elasticity, as well as color quality, were affected by the presence of papaya seed flour (HSPa) in dough and bread. A decrease in the values of several functional properties, such as bulk density and foam formation capacity, of the samples containing HSPa that underwent different treatments, was observed compared to the control treatment (HT: 100 % wheat flour). The percentage of protein in the HSPa had a value of 21.61 % and for the HT of 12.27 %, while that of the ether extract was 22.22 % and 1.07 %. Regarding crude fiber, the values were 24.46 % and 0.061 % respectively; while the values for ash were 9.18 % and 0.27 %, respectively.

1. Introduction

Non-communicable diseases (NCDs) kill 41 million people each year, which accounts for 71 % of deaths worldwide. Metabolic risk factors contribute to four fundamental metabolic changes that increase the risk of NCD: increased blood pressure, overweight, and obesity, hyperglycemia, and hyperlipidemia (World Health Organization World Health Report, 2016) all of which are caused by excessive consumption of highly processed foods. Consumers are currently looking for healthier and cheaper options on the market. Furthermore, food processing industries are combining new technologies to find new ways of obtaining and applying high-quality ingredients. These ingredients are expected to have equal or better nutritional value than conventional ingredients, and satisfactory functional properties for the development of food products. (Russo et al., 2021). The industrial processing and fresh consumption of papaya generate large amounts of waste or by-products that can be used. One of these is the seed of the fruit, which is discarded along with part of the pulp and peel. The seed has a high content of bioactive components such as phenols that have many potential health benefits, including anti-inflammatory effects (Agah et al., 2017),

chemoprotective properties (Amatori et al., 2016), and can reduce the risk of cardiovascular diseases (Mendonca et al., 2019). The nutrients contained in these residues can be used in the manufacture of value-added food ingredients, such as pectin and essential oils, among others. They can also be used in the production of cosmetics, drugs and biofuels (Pulak and Annegowda, 2021). An important factor in the acceptance of new food products is texture, which is a set of physical-sensory characteristics that are closely related to the physico-chemical and functional properties of the components of a food matrix, as well as the operating variables that are applied in the different stages of its processing (Hahnadev et al., 2011). The flour produced from *Carica papaya* seeds is rich in nutritional compounds such as proteins, fat, crude fiber and mineral elements (Kure et al., 2021). Phenolic compounds such as benzyl isothiocyanate, glucosinolates, tocopherols (α and δ), β -cryptoxanthin, β -carotene and carotenoids are found in papaya seeds. The oil extracted from the seed mainly presents oleic fatty acid followed by palmitic, linoleic, and stearic (Santana et al., 2019). This residue has been used as raw material for various purposes, from the production of biodiesel and dietary additives (Senrayan and Venkatachalam, 2018) to substrate for yeast (Pathak et al., 2018). Papaya

* Corresponding author.

E-mail address: javier_piloni7632@uaeh.edu.mx (J. Piloni Martini).

<https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2023.100675>

Received 31 October 2022; Received in revised form 24 January 2023; Accepted 25 January 2023

Available online 26 January 2023

1878-450X/© 2023 Elsevier B.V. All rights reserved.

seeds also present in their constitution various phytochemicals such as carpain, glucotropacholin, benzylisothiocyanate (BITC), caricin (sini-grin) and anzymemyosin (Vij and Prashar, 2015). The natural phytochemicals present in the seeds are a good source of antioxidant substances, which have been correlated with the plant's secondary metabolites, such as flavonoids, carotenoids, alkaloids, tannins, tocopherols, phytosterols, and phenolic compounds (Alotaibi et al., 2017). Some research in the food area has used papaya seed flour to make meat such as hamburgers (Azevedo and Campagnol, 2014), or bakery products such as bread (Kure et al., 2021), obtaining satisfactory results. Therefore, the use of residues can be an alternative for dietary supplementation or its incorporation as flour in the preparation of nutritious foods in a safe and affordable manner, which in turn contribute to environmental stability (Bursac Kovacevic et al., 2020). Therefore, the objective of this work was to analyze the techno-functional behavior of papaya seed flour (HSPa) and its different mixtures as well as the rheological analysis of different formulations of wheat flour dough added with HSPa for bread making.

2. Materials and methods

2.1. Raw material

The seed was obtained from domestic fruit consumption or juice shops in the municipal market of the city of Tulancingo, Hidalgo, Mexico. They were washed with a water jet to remove any remaining mucilage and pulp, later placed in metal trays to be dried in the sun and once dry, were stored in airtight Ziploc® plastic bags for future use in the laboratory. The Osasuna® wheat flour brand from Elizondo mills was also used.

2.2. Papaya (*Carica papaya*) seed flour

Papaya seed flour was obtained from 2.5 kg of papaya seed on dry basis. The seeds were ground in a ME - 700Y single-phase pulverizer mill (Semillas de vida, Cuernavaca, Morelos, Mexico). The ground material obtained was sieved through a Tyler No. 32 sieve with a pore diameter of 0.425 mm (Tyler, Monterrey, NL, Mexico). To reduce the particle size, the flour was milled twice more and sieved using a Tyler No. 60 mesh sieve with a pore diameter of 0.246 mm (Tyler, Monterrey, NL, Mexico). For subsequent analysis, the flour obtained was stored in airtight ziploc® plastic bags at room temperature (25 °C) in a dry and dark place. All the experiments were carried out at the Institute of Agricultural Sciences of the Autonomous University of the State of Hidalgo, in the municipality of Tulancingo de Bravo, Hidalgo, Mexico.

2.3. Proximate analysis of papaya seed flour and wheat flour

The proximate analysis of flours was performed following the indications of AOAC (2012) to determine moisture (925.10), ash (923.03), ether extract by Soxhlet (920.39), protein (N x 6.25) by Kjeldahl (951.03) and crude fiber (985.29), while the carbohydrate content was calculated by difference.

2.4. Experimental design

Six treatments were proposed with different replacement percentages (Table 1) of wheat flour (HT) by papaya seed flour (HSPa). Foschia et al. (2017), Kaur et al. (2017) mention that the incorporation of alternative flours in the preparation of bakery products (cookies, bread, biscuits, donuts) uses different substitution percentages for the wheat flour content.

2.4.1. Bread making

The treatments proposed in Table 1 were used. The following ingredients were used: 180 g of flour, 120 mL water, 4.5 g yeast, 2 g salt, 1

Table 1

Treatment approaches with a percentage of replacement of wheat flour (HT) by papaya seed flour (HSPa).

Treatment	HT (%)	HSPa (%)
Control	100	0
Pap1	95	5
Pap2	90	10
Pap3	85	15
Pap4	80	20
Pap5	75	25
Pap6	70	30

Own elaboration.

g sugar, 5 g butter, and 2 g milk powder (Güemes 2002), incorporating them homogeneously until obtaining a dough, 23 g round pieces were made resting in bakeware cupcake (Wilton 2105–6819 non-stick 26.2 × 41.5 cm) previously greased, the tray was covered with plastic wrap and placed into the fermenter (Infrico, F848, Madrid, España) at 40 °C for 30 min, they were baked (Hornos América, H3mil, Edo. De México, México) at 180 °C until its cooking.

2.5. Determination of functional properties in mixtures of wheat flour with partial substitution of papaya seed flour

Foam capacity was determined according to Onwuka (2005). Samples of 2 g from each of the treatments were weighed and placed in a 100 mL graduated cylinder and 50 mL of distilled water. The suspension was mixed and shaken vigorously to form a foam and after 30 s the final volume was determined. In bulk density, the different flours were gently placed in a 10 mL graduated cylinder that had been, previously tared. The bottom of the cylinder was gently tapped on a flat surface 50 times until there was no further decrease in the level of the sample. The bulk density was calculated as the weight of the sample per unit volume of sample (g/cm³).

The water absorption capacity (WAC); expresses the maximum amount of water that can be retained per gram of dry matter in the presence of an excess of water under the action of a standard force. For this test, 0.5 g of sample was weighed in a test tube, 10 mL of water was added, and then stirred for 30 min. It was then centrifuged at room temperature for 10 min at 2918×g (Hermle z36 k, Hermle LaborTechnik, Germany). The supernatant was removed, and the sediment was weighed, with the results expressed in grams of water per gram of sample.

To determine the oil absorption capacity (OAC), 1 g of the different flours was mixed with 10 mL of safflower oil in a centrifuge tube and allowed to stand at room temperature (25 °C) for 1 h. The mixture was centrifuged at room temperature (25 °C) (Hermle z36 k, Hermle LaborTechnik, Germany) at 81.05×g for 30 min. The volume of free oil and decanted oil was recorded, with the oil absorption capacity expressed as mL linked to 100 g of dry flour. The density of the oil used was 0.927 g/mL.

2.6. Instrumental evaluation of color in wheat flours and bread with partial substitution of papaya seed flour

A Minolta model CM508d colorimeter (Konica Minolta Ltd, Tokyo, Japan) with an integrating sphere, d/65 geometry (daylight/8° viewing angle), and 8 mm diameter circular aperture was used to obtain the coordinates for CIE color L* (lightness), a* (redness), as well as b* (yellowness) and from these values chroma C* (equation (1)) and hue angle (equation (2)) h_{ab} (Hue) were calculated. To prevent cushioning effects and to avoid fouling the internal integrating sphere of the instrument, all flours measurements were carried out through a protective transparent plastic cover.

$$C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$$

Equation 1

$$h_{ab} = (\arctan(b^*/a^*)) (180/\pi) \quad \text{Equation 2}$$

2.7. Instrumental analysis of texture in doughs and bread made with mixtures of wheat flour with partial substitution of papaya seed flours

2.7.1. Texture profile analysis (TPA)

For this test, 16 g of flour from each treatment and 10 mL of distilled water were weighed to obtain a 25 g ball of dough which was then placed in acrylic glass and set aside letting to rest for 20 min. The texture of the dough was determined in a Brookfield CT3™ Texture Analyzer (Ametek Brookfield, Middleboro, USA). The process involved compressing the dough twice consecutively on the TA-BT-KIT base, with a 36 mm aluminum plunger. Diameter (Probe: TA3/1000) as well as a load cell of 4.5 Kg, a speed of 1 mm/s, and 20 % deformation. The doughs were left to rest for 5 s between each compression and the parameters for hardness, adhesiveness, resilience, cohesiveness, elasticity, and chewiness were obtained from the time/force deformation graphs, using the TexturePro CT software (Bourne, 1978). For pieces of bread, (64.5 D x 103.2 W x 6.5 H cm) same methodology described was used.

2.7.2. Biaxial extensibility

The Texture Analyzer Corp., model TA.TX plus (Stable Micro Systems, Surrey, UK) texture meter coupled to the Dobraszczyk/Roberts model D/R2 dough inflation system was used. A 2.5 % (w/v) NaCl solution was prepared along with 200 g of flour from each treatment, as well as 121 mL of the saline solution, all of which were weighed and mixed to form a ball. The dough was extended until obtaining an 8 mm thick plate. Five round pieces were formed with the help of a 9 mm diameter stainless steel cutter and each circle of dough was pressed for 30 s. The 5 samples were then stacked in a tower and the first retainer was covered with an acrylic disk to prevent the pieces of dough from dehydrating. The samples were then left to rest for 30 min. Subsequently, they were placed on the equipment's inflation platform, where constant air pressure was injected to form a bubble until it burst (method 54–30.02 AACC, 2000).

2.7.3. Uniaxial extensibility

Dough extensibility was performed with the Brookfield CT3™ Texture Analyzer (Ametek Brookfield, Middleboro, USA). An 8 g sample of flour from the treatments along with 5 mL of distilled water were taken to form doughs which were placed in the Kieffer press (Kieffer et al., 1998) to let them rest for a period of 30 min. After this period, the strips of dough were carefully removed from the press, with a spatula to avoid breaking. Each strip of dough was placed on the Kieffer plate to be elongated using the TA53 probe, moving at a constant speed of 0.5 mm/s until breaking, according to the reported method 54–10.01 (AACC, 2000).

2.7.4. Chen–Hoseney stickiness

To measure the stickiness of the dough, 4 g of flour from each treatment and 2.5 mL of distilled water were mixed and transferred to a stainless-steel cell. The dough was then extruded through the screen openings (14 mesh) by turning the plunger. A spatula was used to clean the extrudate from the surface of the cell. An acrylic cover was then placed over the cell to minimize moisture loss from the dough. The Texture Analyzer Corp. Texture meter, model TA.TX plus (Stable Micro Systems, Surrey, UK) was used for this test, to which a 25 mm diameter acrylic probe was attached. The test speed was 0.5 mm/s (Chen and Hoseney 1995).

2.8. Statistical analysis

A descriptive analysis of papaya seed flour and wheat flour was

carried out, and the results of the proximal analysis are expressed as mean and standard deviation. A one-way design was used to compare functional properties, rheology, and color values, using the statistical model $Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$. The results were analyzed by means of an ANOVA and a Tukey's test to demonstrate the differences in means, with a level of significance of $p < 0.05$, using the statistical software, IBM SPSS Statistics.

3. Results and discussion

3.1. Proximate analysis

The results obtained from the proximate analysis of wheat flour (HT) and papaya seed flour (HSPa) are shown in Table 2. Standing out the ash content of 6.59 %, protein 21.61 %, fat 22.22 %, and fiber 24.46 % with a low content of carbohydrates 15.92 %, compared to wheat flour that contains 0.27 % ash, 12.27 % protein, 1.07 % fat, 0.061 % fiber and a high carbohydrate content of 75.93 %. The proximal composition of the HSPa obtained in this study coincides with the values found by Azevedo and Campagnol (2014); Kure et al. (2021) who reported that the ashes content ranges from 6.43 % to 7.46 %, proteins from 25.36 % to 28.18 %, crude fat from 20.97 % to 25.41 %, crude fiber from 5.44 % to 24.31 % and carbohydrates from 13.10 % to 25.38 %. Santos et al. (2014) analyzed the physicochemical composition of 2 papaya cultivars Havai and Calimosa finding ash values of 6.94–7.53 %, protein 28.55–28.09 %, crude fat 29.72 %–27.99 %, crude fiber 8.78 %–7.75% and carbohydrates 20.73–22.94 % respectively. The protein content in HSPa is comparable to that of legumes ranging from 20 to 35 % (Jahreis et al., 2016).

3.2. Functional properties in mixtures of wheat flour with partial replacement of papaya seed flour

Functional properties have been defined as any physicochemical property of proteins that affects the behavior and characteristics of the foods in which they are found or added and that contributes to the final quality of the product. These characteristics can be sensory, nutritional, and biochemical. The above-mentioned molecules may also contribute to determining the perception of quality and organoleptic properties of foods which depend mainly on these functional properties (Ifeanyi et al., 2021).

Foaming capacity measures the amount of interfacial area created by the protein during foaming (Zhu et al., 2017). According to the results obtained (Table 3), as the HSPa replacement percentage increased ($p < 0.05$) in the treatments, the values for foaming capacity decreased (3.84–0 %) to pap1–pap6 ($p < 0.05$) respectively, and the lowest value was obtained by the pap6 treatment ($p > 0.05$) treatment. This shows that there would be negative effects if HSPa were used in formulations where foaming is required since foams are used to improve the texture, consistency, and appearance of foods. There are other factors that influence foaming such as the interaction with phenolic compounds, which in turn affect foaming capacity (Pham et al., 2019). These highly reactive intermediates could react with nucleophilic amino acid residues

Table 2
Proximate analysis (%) of papaya (*Carica papaya*) seed flour and wheat (*Triticum vulgare*) flour.

Parameter (%)	Wheat flour (HT)	Papaya seed flour (HSPa)
Moisture	10.38 ± 0.55	9.18 ± 0.41
Ashes	0.27 ± 0.12	6.59 ± 0.05
Protein	12.27 ± 0.05	21.61 ± 0.21
Fat	1.07 ± 0.61	22.22 ± 0.20
Fiber	0.061 ± 0.02	24.46 ± 0.21
Carbohydrates ¹	75.93 ± 0.91	15.92 ± 1.01

Average values of three repetitions (n = 3) with standard deviation (±). ¹ value of carbohydrates obtained by difference.

Table 3
Functional properties in mixtures of wheat flour with partial replacement of papaya seed flour.

Treatment	FC (%)	Bulk density g/mL	WAC (g/g)	OAC (g/g)
HT	29.23 ± 0.93 ^a	0.94 ± 0.01 ^a	1.56 ± 0.05 ^b	1.850 ± 0.00 ^a
HSPa	17.57 ± 0.64 ^b	0.73 ± 0.03 ^b	1.70 ± 0.09 ^b	1.741 ± 0.01 ^a
Pap1	3.84 ± 0.00 ^f	0.73 ± 0.01 ^b	1.59 ± 0.09 ^b	1.604 ± 0.17 ^a
Pap2	3.84 ± 0.00 ^f	0.71 ± 0.00 ^b	1.69 ± 0.00 ^b	1.604 ± 0.08 ^a
Pap3	3.21 ± 0.88 ^f	0.69 ± 0.00 ^b	1.79 ± 0.09 ^b	1.602 ± 0.09 ^{ab}
Pap4	3.21 ± 0.88 ^f	0.69 ± 0.00 ^b	1.99 ± 0.00 ^a	1.544 ± 0.09 ^b
Pap5	1.96 ± 0.00 ^{cd}	0.68 ± 0.01 ^{bc}	2.04 ± 0.08 ^a	1.541 ± 0.09 ^b
Pap6	0 ± 0.00 ^d	0.61 ± 0.03 ^c	2.07 ± 0.10 ^a	1.478 ± 0.00 ^b

HT = wheat flour, HSPa = papaya seed flour. Pap1 = 95 % HT 5 % HSPa. Pap2 = 90 % HT 10 % HSPa. Pap3 = 85 % HT 15 % HSPa. Pap4 = 80 % HT 20 % HSPa. Pap5 = 75 % HT 25 % HSPa. Pap6 = 70 % HT 30 % HSPa.

FC = foam capacity. WAC = water absorption capacity. OAC = oil absorption capacity. Values with different letters in the same column are significantly different $p < 0.05$ ($n = 3$).

(i.e., Met, Lys, Try, and Cys) in polypeptide chains, generating covalent cross-links between proteins and phenolic compounds (Sui et al., 2018), which could have affected the foam formation of the treatments used in this study.

Bulk density is a valuable physical property in the large-scale production of a material. There are significant statistical differences ($p < 0.05$) between wheat flour (HT = 0.947 g/mL) and papaya seed flour (HSPa = 0.726 g/mL) and the pap1-pap6 composite flours (0.734–0.612 g/mL). The values presented in this parameter were higher than those reported in a study carried out by Kure et al. (2021), which focused on the preparation of bread based on papaya seed flour. Values of 0.41–0.69 g/cm³ were found as their study established five treatments with lower substitution percentages using papaya seed flour.

The water absorption capacity (WAC) is a parameter that gives an idea of the water absorption of flour and is an indicator of fresh dough yield. The composite flour treatments showed a gradual increase as the percentage of HSPa substitution increased, with values between 1.59 and 2.07 g/g (pap1 – Pap6). The WAC of the treatments presented in this study (Table 3) may be related to the decrease in the percentage of wheat flour in each of them and can probably be attributed to the increase in fiber content from papaya seed flour (HSPa). Afzal et al. (2016) determined that high fiber contents are responsible for greater water absorption and the intramolecular binding capacity of flour. Ajjata et al. (2016) have suggested that flours with a high-water absorption capacity can be used in the formulation of bakery products, which reduces moisture loss, thereby maintaining freshness in bread, cakes, and sausages. The authors stated that these flours could also be used as a soup thickener.

The oil absorption capacity (OAC) is the physical entrapment of oil by protein, through its non-polar side chains and, it is important in food flavor retention (Iwe et al., 2016). According to the results obtained (Table 3), as the HSPa replacement percentage increased in the treatments, the values for oil retention decreased (1.604–1.478 g/g) to pap1-pap6 respectively and the highest value was obtained by the HT (1.850 g/g) treatment. The results obtained in this test suggest the lipophilic nature of the papaya seed flour components. The increase in hydrophobic protein contents, thereby exposing more non-polar amino acids to fat, improves its hydrophobicity (Adeyeye et al., 2017). This could potentially be useful in the structural interaction in foods that require flavor retention, improvement in palatability, and shelf-life

extension of bakery products, donuts, baked goods, or meat products (Kaushik et al., 2021).

3.3. Instrumental evaluation of color in composite flours and bread with partial substitution of papaya seed flour

The results obtained from this test are affected by the presence of papaya seed flour (HSPa) (see Figs. 1-3). In Table 4, it can be observed that the lightness (L^*) in the control treatments and those with 5 % HSPa have values close to 100 indicating its approximation to white coloration. The values in the remaining treatments decrease sequentially as the percentage of HSPa substitution increases with a tendency towards a black coloration (value of 0). Values greater than 90 in the L^* parameter indicate a satisfactory degree of whiteness/purity in flours, and that the differences with flour can be explained by the presence of anthocyanins and carotenoids (Wang et al., 2021). Consequently, the different treatments in this investigation can be easily recognized by their color. The a^* coordinate defines the deviation of the achromatic point towards a red coloration with all values recorded as positive (Table 4). Likewise, the b^* coordinate defines the deviation towards a yellow coloration with all the treatments containing positive values. The values for C^* and h_{ab}^* allow a more intuitive representation of the color with C^* being the strength of the color or the intensity for a different tone. The most intense tones are found in HSPa (9.66).

3.4. Texture profile analysis in doughs and bread made with mixtures of wheat flour with partial substitution of papaya seed flour

The results obtained in the hardness parameter show (Table 5) that the maximum force produced during the first compression increases as the HSPa substitution percentage increases, with the control treatment presenting the lowest values of 1386 N for dough, and 1846 N for bread. However, in the resilience parameter, the recovery of the original height was like the control dough (0.099) in the pap1 (0.103), pap2 (0.094), pap3 (0.089), and pap6 (0.090) treatments. In the case of white bread, the treatments most like the control (0.147) were the treatments B-pap1 (0.162), B-pap2 (0.142), B-pap5 (0.133) and B-pap6 (0.125). According to the results of the dough in cohesiveness, there was a significant difference between the control (0.393) and the pap5 treatment (0.488)



Fig. 1. *Carica papaya* seed flour.

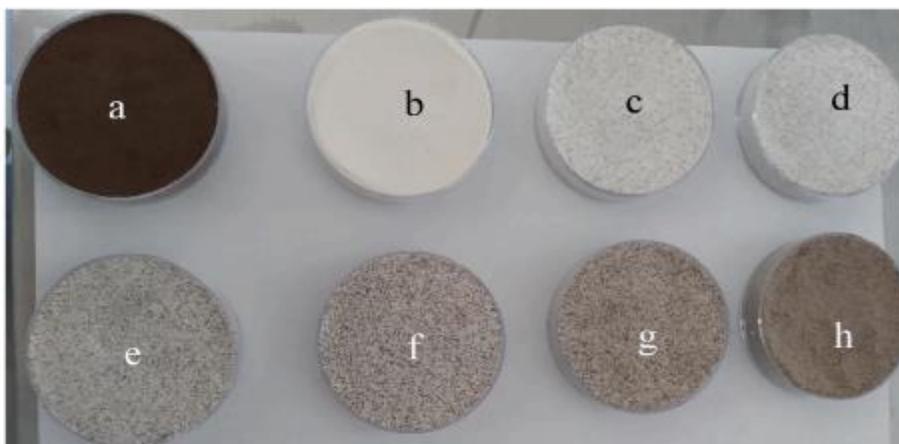


Fig. 2. a) Papaya seed flour = HSPa. b) Wheat flour = HT. c) Flour pap1 = 95 % HT 5 % HSPa. d) Flour pap2 = 90 % HT 10 % HSPa. e) Flour pap3 = 85 % HT 15 % HSPa. f) Flour pap4 = 80 % HT 20 % HSPa. g) Flour pap5 = 75 % HT 25 % HSPa. h) Flour pap6 = 70 % HT 30 % HSPa.

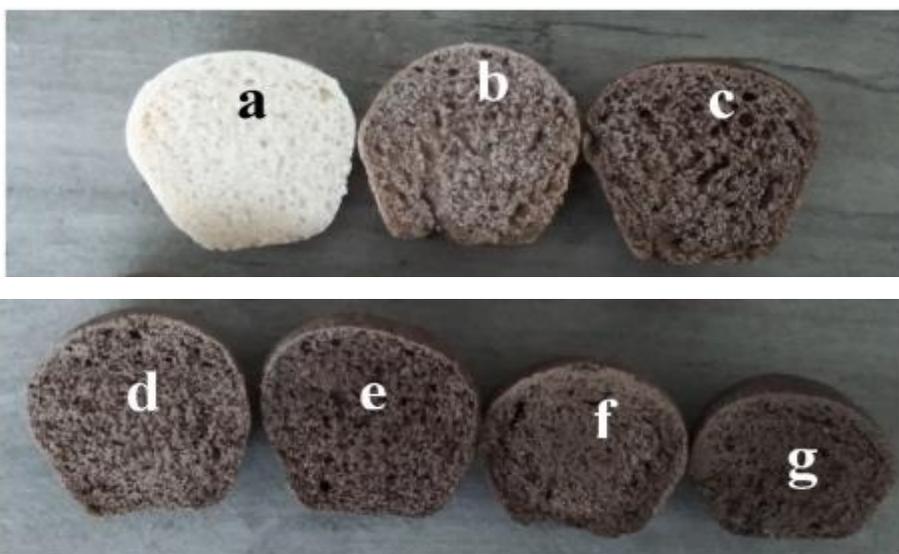


Fig. 3. a) Bread-control = 100 % HT. b) Bread-pap1 = 95 % HT 5 % HSPa. c) Bread-pap2 = 90 % HT 10 % HSPa. d) Bread-pap3 = 85 % HT 15 % HSPa. e) Bread-pap4 = 80 % HT 20 % HSPa. f) Bread-pap5 = 75 % HT 25 % HSPa. g) Bread-pap6 = 70 % HT 30 % HSPa.

with 25 % substitution of HSPa, presenting the highest cohesion, this dough will be more tolerant to manufacturing stresses of the final product. Unlike the loaves that presented less cohesiveness were the B-pap5 and B-pap6 (0.353) treatments, no significant differences were found between the B-control treatment (0.461) and the B-pap1 (0.442), B-pap2 (0.421), B-pap3 (0.485). In the relative elastic recovery between the treatments, there were significant differences ($p < 0.05$) between the control dough (0.486) and the remaining treatments (0.516–0.550), in bread treatments no significant differences were found between the B-control (0.582) and treatments B-pap2 (0.617) and B-pap6 (0.624). Regarding chewiness, there were significant differences between the control dough (0.264) and the other treatments (0.330–0.575), for bread the B-control presented the lowest value (0.495) and the highest value was for the B-pap4 treatment (2,258). This increase in the substitution percentage of papaya seed flour affected the textural behavior of the dough and bread. The study by [Dhull and Sandhu \(2018\)](#) suggests that this increase could be due to the decrease in gluten.

3.5. Biaxial extensibility in wheat flour dough mixtures with partial substitution of papaya seed flour

The results obtained in the biaxial extensibility test ([Table 6](#)) show that when the HSPa was mixed in the different treatments, there was a statistically significant increase in toughness compared to the control. [Tiwari et al. \(2008\)](#) concluded that, if the dough presents greater extensibility, an increase in bread size will occur, due to a lower probability of the glutinic network being broken during fermentation. Regarding extensibility (L), it was significantly decreased in all treatments compared to the control. This indicates that, in general, adding HSPa increases toughness and decreases extensibility. [Serna-Saldívar \(2000\)](#) explains that the stability of the dough and the maximum consistency during kneading are mainly influenced by the protein content, the quality of the gluten, and the resistance to the kneading forces. When the P/L values are greater than 1 (tenacious) there are more glutelins and fewer gliadins. When the values are less than 1 (extensible) there are more gliadins and fewer glutelins. When these values are equal to 1 (balanced) there is a balanced content between glutelins and gliadins

Table 4
Color parameters in flours and bread with partial replacement of wheat flour by papaya seed flour.

Treatment	Variable				
	L*	a*	b*	C ⁻	h _{ab} ⁻
HSPa	35.90 ± 0.40 ^a	3.53 ± 0.07 ^a	8.80 ± 0.09 ^f	9.66 ± 0.10 ^g	68.60 ± 0.27 ^a
HT	85.30 ± 2.54 ^f	0.61 ± 0.08 ^b	7.61 ± 0.24 ^e	7.63 ± 0.25 ^e	85.48 ± 0.52 ^f
Pap1	81.00 ± 0.95 ^e	0.50 ± 0.09 ^a	6.12 ± 0.14 ^b	6.14 ± 0.15 ^b	85.39 ± 0.66 ^f
Pap2	85.40 ± 0.66 ^e	0.71 ± 0.05 ^b	5.72 ± 0.18 ^a	5.80 ± 0.18 ^a	82.94 ± 0.56 ^e
Pap3	72.60 ± 1.72 ^d	1.08 ± 0.08 ^c	6.25 ± 0.12 ^b	6.40 ± 0.12 ^b	80.17 ± 0.79 ^d
Pap4	70.08 ± 0.17 ^d	1.30 ± 0.05 ^d	6.18 ± 0.17 ^b	6.32 ± 0.17 ^b	78.11 ± 0.50 ^e
Pap5	61.10 ± 1.03 ^c	2.18 ± 0.10 ^e	7.46 ± 0.16 ^c	7.80 ± 0.18 ^c	73.74 ± 0.41 ^b
Pap6	51.326 ± 0.60 ^b	3.30 ± 0.07 ^f	8.65 ± 0.16 ^c	9.26 ± 0.17 ^d	69.12 ± 24 ^a
B-control	82.10 ± 0.57 ^f	0.76 ± 0.16 ^a	20.79 ± 0.74 ^a	20.81 ± 0.74 ^a	87.92 ± 0.45 ^c
B-pap1	40.65 ± 1.01 ^e	8.55 ± 0.24 ^b	28.69 ± 0.73 ^b	29.94 ± 0.73 ^b	73.41 ± 0.50 ^{ab}
B-pap2	29.17 ± 2.31 ^d	10.09 ± 0.57 ^b	34.70 ± 1.44 ^d	31.80 ± 3.63 ^{bc}	73.81 ± 0.33 ^{ab}
B-pap3	28.40 ± 1.34 ^{cd}	9.59 ± 0.88 ^b	32.57 ± 2.19 ^{cd}	33.40 ± 2.34 ^{cd}	73.63 ± 0.51 ^{ab}
B-pap4	26.68 ± 1.92 ^c	9.68 ± 0.70 ^b	32.45 ± 1.65 ^{cd}	33.86 ± 1.75 ^{cd}	73.40 ± 0.65 ^{ab}
B-pap5	24.28 ± 1.35 ^b	8.83 ± 2.63 ^b	32.60 ± 0.66 ^{cd}	33.90 ± 0.94 ^{cd}	74.94 ± 4.39 ^b
B-pap6	19.24 ± 2.23 ^a	9.84 ± 1.02 ^b	30.20 ± 3.78 ^{bc}	36.14 ± 1.54 ^d	71.79 ± 2.69 ^a

B = bread. Pap1 = 95 % HT 5 % HSPa. Pap2 = 90 % HT 10 % HSPa. Pap3 = 85 % HT 15 % HSPa. Pap4 = 80 % HT 20 % HSPa. Pap5 = 75 % HT 25 % HSPa. Pap6 = 70 % HT 30 % HSPa. L* (lightness with L = 100 for lightness, and L = zero for darkness), a* [(chromaticity on a green (-) to red (+))], b* [(chromaticity on a blue (-) to yellow (+))]. C⁻ = color saturation index. h_{ab}⁻ = pitch angle [(hue angle where 0° = red to purple, 90° = yellow, 180° = bluish to green and 270° = blue scale). Values with different letters in the same column are significantly different p < 0.05 (n = 10).

(Serna-Saldívar, 2012). Statistically, the work of deformation W was not affected by the presence of HSPa (p < 0.05), as all treatments required less than 200 × 10⁻⁴ J to deform until breaking, indicating that, they were aware of weak flours.

3.6. Uniaxial extensibility in dough mixtures of wheat flour with partial substitution of papaya seed flour

Simple uniaxial compression measures stress and strains at specific force loads and is the most widely used type of fundamental test in foods. With this test, the parameters of maximum resistance to extension (R_m) and maximum extensibility (E_m) are analyzed. It can be seen (Table 7) that the control treatment (100 % HT = 55.80 mm) has the highest extensibility. Furthermore, the resistance to stretching increases as the percentage of added HSPa increases. Regarding maximum extensibility, it can be observed that it decreases as the percentages of HSPa increase. It has been reported that E_m and R_m depend, to different degrees, on protein composition, while extensibility depends on the total amount of glutenin in the flour, with R_m related to the ratio of polymeric to monomeric proteins (MacRitchie, 1992).

3.7. Chen-Hoseney adhesiveness in wheat flour dough mixtures with partial substitution of papaya seed flour

The addition of papaya seed flour (HSPa) modified the stickiness, adhesiveness, and cohesiveness parameters of the doughs (Table 7),

Table 5
Texture profile analysis (TPA) in doughs and bread made with mixtures of wheat flour with partial substitution of papaya seed flour.

Treatment	Hardness (N)	Resilience	Cohesiveness	Elasticity	Chewiness
Pap1	1.654 ± 0.29 ^{ab}	0.103 ± 0.01 ^c	0.391 ± 0.02 ^a	0.533 ± 0.02 ^a	0.330 ± 0.10 ^b
Pap2	1.869 ± 0.29 ^{ab}	0.094 ± 0.01 ^{bc}	0.391 ± 0.04 ^a	0.543 ± 0.09 ^a	0.478 ± 0.04 ^b
Pap3	2.177 ± 0.39 ^{bc}	0.089 ± 0.01 ^b	0.396 ± 0.03 ^a	0.550 ± 0.06 ^a	0.525 ± 0.02 ^b
Pap4	2.626 ± 0.50 ^{cd}	0.078 ± 0.01 ^a	0.410 ± 0.05 ^a	0.517 ± 0.08 ^a	0.536 ± 0.04 ^b
Pap5	2.767 ± 0.29 ^d	0.077 ± 0.01 ^a	0.488 ± 0.05 ^b	0.532 ± 0.06 ^a	0.575 ± 0.01 ^b
Pap6	2.443 ± 0.46 ^{cd}	0.090 ± 0.01 ^b	0.426 ± 0.03 ^a	0.516 ± 0.04 ^a	0.502 ± 0.12 ^c
B-control	1.846 ± 0.42 ^a	0.147 ± 0.02 ^{ab}	0.461 ± 0.02 ^{bc}	0.582 ± 0.02 ^a	0.495 ± 0.11 ^a
B-pap1	2.476 ± 0.21 ^{ab}	0.162 ± 0.02 ^b	0.442 ± 0.03 ^{bc}	0.700 ± 0.03 ^b	0.765 ± 0.07 ^{bc}
B-pap2	2.646 ± 0.23 ^b	0.142 ± 0.02 ^{ab}	0.421 ± 0.04 ^{bc}	0.617 ± 0.02 ^a	0.689 ± 0.10 ^{ab}
B-pap3	3.092 ± 0.28 ^b	0.198 ± 0.02 ^c	0.485 ± 0.03 ^c	0.707 ± 0.03 ^b	1.062 ± 0.12 ^d
B-pap4	5.413 ± 0.23 ^d	0.270 ± 0.02 ^d	0.578 ± 0.04 ^d	0.808 ± 0.03 ^c	2.528 ± 0.20 ^e
B-pap5	4.163 ± 0.46 ^c	0.133 ± 0.01 ^a	0.353 ± 0.03 ^a	0.675 ± 0.03 ^b	0.988 ± 0.09 ^{cd}
B-pap6	4.215 ± 0.89 ^c	0.125 ± 0.01 ^a	0.353 ± 0.03 ^a	0.624 ± 0.03 ^a	0.937 ± 0.25 ^{cd}

B = bread. Pap1 = 95 % HT 5 % HSPa. Pap2 = 90 % HT 10 % HSPa. Pap3 = 85 % HT 15 % HSPa. Pap4 = 80 % HT 20 % HSPa. Pap5 = 75 % HT 25 % HSPa. Pap6 = 70 % HT 30 % HSPa. Values with different letters in the same column are significantly different p < 0.05 (n = 10).

Table 6
Biaxial extensibility in doughs made with mixtures of wheat flour with partial substitution of papaya seed flour.

Treatment	Variable			
	~P(mm)	~L(mm)	~P/L	~W (10 ⁻⁴ J)
Control	128.7 ± 1.11 ^a	33.05 ± 7.18 ^f	0.40 ± 0.01 ^a	121.18 ± 10.34 ^a
Pap1	156.3 ± 2.84 ^a	16.30 ± 2.87 ^b	0.97 ± 0.18 ^a	121.90 ± 7.30 ^a
Pap2	197.9 ± 3.65 ^{ab}	14.12 ± 3.39 ^{ab}	1.42 ± 0.17 ^a	143.59 ± 6.10 ^b
Pap3	301.7 ± 4.88 ^{bc}	8.62 ± 1.08 ^a	3.60 ± 1.07 ^b	156.41 ± 10.98 ^{bc}
Pap4	347.4 ± 5.48 ^d	12.35 ± 2.87 ^{ab}	3.50 ± 0.51 ^b	176.94 ± 13.13 ^{cd}
Pap5	323.7 ± 4.03 ^d	9.37 ± 1.61 ^{ab}	3.49 ± 0.46 ^b	180.60 ± 8.60 ^d
Pap6	246.6 ± 2.10 ^e	8.81 ± 0.79 ^a	2.79 ± 0.13 ^b	190.85 ± 13.31 ^d

Pap1 = 95 % HT 5 % HSPa. Pap2 = 90 % HT 10 % HSPa. Pap3 = 85 % HT 15 % HSPa. Pap4 = 80 % HT 20 % HSPa. Pap5 = 75 % HT 25 % HSPa. Pap6 = 70 % HT 30 % HSPa. ~P = Dough toughness, ~L = dough extensibility, ~P/L = curve configuration ratio, ~W = dough baking strength. Values with different letters in the same column are significantly different p ≤ 0.05 (n = 5).

while significant differences were found between the treatments with a substitution of 15–30 % and the control treatment with the highest value, therefore, had the greatest amount of adhesion. The stickiness of dough prepared from papaya seed flour leads to the loss of dough quality during kneading. Finally, it is probable that the stickiness values of the doughs prepared from papaya seed flour found in the Hoseney stickiness test led to a loss of quality during kneading. Banjade et al. (2019) determined that the stickiness of the dough can cause problems in

Table 7

Uniaxial extensibility and Chen and Hosney adhesiveness test in doughs made with mixtures of wheat flour with partial substitution of papaya seed flour.

Treatment	Variable				
	\bar{R}_m (N)	\bar{E}_m (mm)	Stickiness (g)	Adhesiveness (g.s)	Cohesiveness (mm)
Control	0.148 ± 0.04 ^a	55.80 ± 19.64 ^c	24.372 ± 4.09 ^d	1.555 ± 0.53 ^c	1.334 ± 0.69 ^c
Pap1	0.173 ± 0.02 ^{ab}	35.80 ± 9.32 ^b	23.777 ± 3.10 ^{cd}	1.163 ± 0.70 ^{bc}	1.157 ± 0.67 ^c
Pap2	0.208 ± 0.04 ^b	29.44 ± 3.16 ^b	3.660 ± 2.34 ^{cd}	1.090 ± 0.34 ^b	1.031 ± 0.49 ^{bc}
Pap3	0.260 ± 0.05 ^c	20.30 ± 4.92 ^a	20.873 ± 1.68 ^{bc}	0.645 ± 0.24 ^a	0.577 ± 0.39 ^{ab}
Pap4	0.346 ± 0.04 ^d	16.84 ± 2.26 ^a	18.938 ± 2.02 ^b	0.540 ± 0.07 ^a	0.445 ± 0.06 ^a
Pap5	0.302 ± 0.08 ^{cd}	14.11 ± 4.59 ^a	15.314 ± 1.86 ^a	0.322 ± 0.04 ^a	0.312 ± 0.04 ^a
Pap6	0.278 ± 0.05 ^c	14.10 ± 2.29 ^a	14.791 ± 2.38 ^a	0.318 ± 0.17 ^a	0.298 ± 0.15 ^a

Pap1 = 95 % HT 5 % HSPa. Pap2 = 90 % HT 10 % HSPa. Pap3 = 85 % HT 15 % HSPa. Pap4 = 80 % HT 20 % HSPa. Pap5 = 75 % HT 25 % HSPa. Pap6 = 70 % HT 30 % HSPa. \bar{R}_m = maximum resistance to extension, \bar{E}_m = maximum extension. Values with different letters in the same column are significantly different $p < 0.05$ ($n = 17, 14$).

large-scale manufacturing.

4. Conclusions

The results obtained show that HSPa has a higher nutrient content compared to wheat flour. Protein and fiber have an impact on the functional properties analyzed since they improve the water retention capacity. However, it is not appropriate to use this composite flour in food products where the required incorporation of air into its formulation is required (ice cream, confectionery), although it is possible to use it in foods that are battered or fried as the higher the percentage of HSPa used, the lower the absorption of oil during frying. The treatments with 5 % and 10 % substitution of papaya seed flour were the most like the treatment control in terms of textural properties, showing that they can be used in the production of certain bakery products, such as white bread and even muffins or donuts. The preliminary results obtained in this study provide a basis for innovating the design and formulation of bakery products as well as offering the consumer healthy since HSPa is low in carbohydrates and high in fiber and protein.

Author's contributions

Javier Piloni Martini conceived the experiment. Elizabeth Mérida Lira carried out the experiments and wrote the manuscript. Sergio Soto Simental, Victor Manuel Martínez Juárez and Aurora Quintero Lira supervised the work and edited the manuscript.

Declarations

Conflicts of interest/Competing interests all authors declare that they have no competing interests.

Ethics approval Not applicable.

Consent to participate all authors have read and approved the MS; Everyone agrees to submission.

Consent for publication all authors agree to the publication the MS.

Availability of data and material Code availability Not applicable.

Implications for gastronomy

The agricultural industry is one of the most economically important in the world, one of its objectives is to provide high quality and safe food to a growing population, however, in the industrial and domestic processing chains, organic waste is generated that they represent decreases in the transit of nutrients in the trophic network, in view of this scenario, the use of these agro-industrial residues is of increasing interest, an example of this is the seeds of fruits such as papaya, which results in an excellent non-conventional source of protein and other bioactive compounds, which can be integrated into a wide variety of food matrices. For this reason, the present study evaluates the feasibility of integrating papaya seed flour in the elaboration of artisanal white bread, in search of improvements in the elaboration of bakery products and in the nutritional quality of high consumption in the human diet.

Data availability

No data was used for the research described in the article.

Acknowledgements

Funding to Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) from Mexican government.

References

- Adeyeye, S., Adebayo-Oyetoro, Abiodun, Omoniyi, S., 2017. Quality and sensory properties of maize flour cookies enriched with soy protein isolate. *Cogent Food and Agric.* 2 <https://doi.org/10.1080/23311932.2017.1278827>.
- Afzal, B., Pasha, I., Zahoor, T., Nawaz, H., 2016. Nutritional potential of fenugreek supplemented bread with special preference to antioxidant profiling. *Pakistan J. Agric. Sci.* 53 (1), 217–223. <https://doi.org/10.21162/PAKJAS/16.4664>.
- Agah, S., Kim, H., Mertens-Talcott, S.U., Awika, J.M., 2017. Complementary cereals and legumes for health: synergistic interaction of sorghum flavones and cowpea flavonols against LPS-induced inflammation in colonic myofibroblasts. *Mol. Nutr. Food Res.* 61 (7) <https://doi.org/10.1002/mnfr.201600625>.
- Ajjata, M.A., Akinola, S.A., Osundahunsi, O.F., 2016. Proximate, functional, and pasting properties of composite flours made from wheat, breadfruit and cassava starch. *Appl. Trop. Agric.* 21 (3), 158–165. <https://journals.futa.edu.ng/home/paperd/98/5/11>.
- Alotaibi, A., Perry, L., Gholizadeh, L., Al-Ganmi, A., 2017. Incidence and prevalence rates of diabetes mellitus in Saudi Arabia: an overview. *J. Epidemiol. Glob. Health* 7 (4), 211–218. <https://doi.org/10.1016/j.jegh.2017.10.001>.
- Amatori, S., Mazzoni, L., Alvarez-Suarez, J.M., Giampieri, F., Gasparrini, M., Forbes-Hernandez, T.Y., Battino, M., 2016. Polyphenol-rich strawberry extract (PRSE) shows in vitro and in vivo biological activity against invasive breast cancer cells. *Sci. Rep.* 6, 30917 <https://doi.org/10.1038/srep30917>.
- American Association of Cereal Chemists, 2000. *Approved Methods of the AACC*, tenth ed. The Association, St. Paul, MN, USA.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC), 2012. *Official Methods of Analysis of AOAC International*, nineteenth ed. AOAC International, Gaithersburg, Maryland, USA.
- Azevedo, L.A., Campagnol, P.C.B., 2014. Papaya seed flour (*Carica papaya*) affects the technological and sensory quality of hamburgers. *Int. Food Res. J.* 21 (6), 2141. [http://www.ifrj.upm.edu.my/21%20\(06\)%202014/12%20IFRJ%2021%20\(06\)%202014%20Paulo%20176.pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/21%20(06)%202014/12%20IFRJ%2021%20(06)%202014%20Paulo%20176.pdf).
- Banjade, J.D., Tyl, C.E., Schoenfeld, T., 2019. Effect of dough conditioners and refinement on intermediate wheatgrass (*Thinopyrum intermedium*) bread. *LWT-Food Sci. Technol.* 115 <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108442>. Article 108442 ISSN 0023-6438.
- Bourne, M.C., 1978. Texture profile analysis. *Food Technol.* 32, 62–66, 72.
- Bursać Kovačević, D., Brdar, D., Fabčić, P., Barba, J.F., Lorenzo, J.M., Putnik, P., 2020. Strategies to achieve a healthy and balanced diet: fruits and vegetables as a natural source of bioactive compounds. *Strat. agri-food ind. healthy eat. Diets Sustain.* 51–88. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817226-1.00002-3>.
- Chen, W.Z., Hosney, R.C., 1995. Wheat flour compound that produces sticky dough: isolation and identification. *J. Food Sci.* 60 (3), 434–437. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1995.tb09797.x>.
- Dhull, S.B., Sandhu, K.S., 2018. Wheat-Fenugreek composite flour noodles: effect on functional, gelatinization, cooking and sensory properties. *Curr. Res. Food Nutr.* 6, 174–182. <https://doi.org/10.12944/CRNFNSJ.6.1.20>.
- Foschia, M., Horstmann, S.W., Arendt, E.K., Zannini, E., 2017. Legumes as functional ingredients in gluten-free bakery and pasta products. *Annu. Rev. Food Sci. Technol.* 8, 75–96. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-030216-030045>.
- Güemes, N., 2002. Tesis "Características Reológicas, Sensoriales y nutricionales de masas y productos de panificación fortificados con *lupinus mutabilis*". IPN, México.

- Hadnadev, T.D., Torbica, A., Hadnadev, M., 2011. Rheological properties of wheat flour substitutes/alternative crops assessed by Mixolab. *Proc Food Sci* 1, 328–334. <https://doi.org/10.1016/j.profoo.2011.09.051>, 0.
- Ifeanyi, D., Nwachukwu, R., Aluko, E., 2021. Chapter 1: food protein structures, functionality and product development. In: *Food Proteins and Peptides: Emerging Biofunctions, Food and Biomaterial Applications*. From Book Series: Food Chemistry, Function and Analysis, pp. 1–33. <https://doi.org/10.1039/9781839163425-00001ISBN:978-1-83916-342-5>.
- Iwe, M.O., Onyeukwu, U., Agiriga, N.A., 2016. Proximate, functional & pasting properties of faro 44 rice, African yam bean and brown cowpea seeds composite flour. *Cogent Food & Agric.* 2, 1142409 <https://doi.org/10.1080/23311932.2016.1142409>.
- Jahreis, G., Brese, M., Leiterer, M., Schäfer, U., Böhm, V., 2016. Legume flours: nutritionally important sources of protein and dietary fiber. *Ernährungs Umsch.* 63, 36–42. <https://doi.org/10.4455/eu.2016.007>.
- Kaur, P.J., Sharma, P., Kumar, V., Panghal, A., Kaur, J., y Gat Y., 2017. Effect of addition of flaxseed flour on phytochemical, physicochemical, nutritional, and textural properties of cookies. *J. Saudi Soc. Agric. Sci.* <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2017.12.004>.
- Kaushik, N., Yadav, P., Khandal, K.R., Aggarwal, M., 2021. Review of ways to enhance the nutritional properties of millets for their value-addition. *J. Food Process. Preserv.* 1–18 <https://doi.org/10.1111/jfpp.15550>.
- Kieffer, R.H., Wieser, M.H., Henderson, A.G., 1998. Correlations of the breadmaking performance of wheat flour with rheological measurements on a micro-scale. *J. Cereal. Sci.* 27, 53–60. <https://doi.org/10.1006/JCRS.1997.0136>.
- Kure, O.A., Inelo, E.D., Donaldben, N.S., 2021. Effects of pawpaw (*Carica papaya*) seed flour addition on the quality of wheat bread. *Asian Food Sci. J.* 20 (4), 51–63. <https://doi.org/10.1006/JCRS.1997.0136>.
- MacRitchie, F., 1992. Physicochemical properties of wheat proteins in relation to functionality. In: Kinsella, J.E. (Ed.), *Advances in Food and Nutrition Research*, umc 36. Academic Press, Inc., NY, pp. 1–87. [https://doi.org/10.1016/S1043-4526\(08\)60104-7](https://doi.org/10.1016/S1043-4526(08)60104-7).
- Mendonca, R.D., Carvalho, N.C., Martin-Moreno, J.M., Pimenta, A.M., Lopes, A.C.S., Gea, A., Bes-Rastrollo, M., 2019. Total polyphenol intake, polyphenol subtypes and incidence of cardiovascular disease: the SUN cohort study. *Nutr. Metabol. Cardiovasc. Dis.* 29 (1), 69–78. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2018.09.012>.
- Onwuka, G.I., 2005. *Food Analysis and Instrument (Theory and Practice)*. Department of Food Science and Technology, Michael Okpara University of Agriculture.
- Pathak, G., Das, D., Rajkumari, K., Rokhum, S.L., 2018. Exploiting waste: towards a sustainable production of biodiesel using *Musa acuminata* peel ash as a heterogeneous catalyst. *Green Chem.* 20 (10), 2365–2373. <https://doi.org/10.1039/C8GC00071A>.
- Pham, L.B., Wang, B., Zisu, B., Adhikari, B., 2019. Covalent modification of flaxseed protein isolates by phenolic compounds and the structure and functional properties of the adducts. *Food Chem.* 293, 463–471. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.04.123>.
- Pulak, M., Annegowda, H.V., 2021. Fruit and vegetable by-products: novel ingredients for a sustainable society. Recovery of waste and agri-food by-prod. 133–156. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-824044-1.00006-4>.
- Russo, C., Maugeri, A., Lombardo, G.E., Musumeci, L., Barreca, D., Rapisarda, A., Cirmi, S., Navarra, M., 2021. The second life of citrus fruit waste: a valuable source of bioactive compounds. *Molecules.* <https://doi.org/10.3390/molecules26195991>, 26, 19, (5991).
- Santana, L.F., Inada, A.C., Espírito Santo, B.L.S.D., Filiú, W.F.O., Pott, A., Alves, F.M., Guimarães, R.C.A., Freitas, K.C., Hiane, P.A., 2019. Nutraceutical potential of *Carica papaya* in metabolic syndrome. *Nutrients* 11 (7), 1608. <https://doi.org/10.3390/nu11071608>, 2019 Jul 16, PMID:31315213; PMCID: PMC6682863.
- Santos, C., Abreu, C., Freire, J., Queiroz, E., Mendonça, M., 2014. Chemical characterization of the flour of peel and seed from two papaya cultivars. *Ciência Tecnol. Aliment.* 34 <https://doi.org/10.1590/ftst.2014.0048>.
- Senrayan, J., Venkatachalam, S., 2018. Solvent-assisted extraction of oil from papaya (*Carica papaya* L.) seeds: evaluation of its physicochemical properties and fatty-acid composition. *Separ. Sci. Technol.* 53, 1–8. <https://doi.org/10.1080/01496395.2018.1480632>.
- Serna-Saldívar, S.O., 2000. *Manual of Science and Technology of Cereals*, second ed. CRC Press, ISBN 9780429116605.
- Serna-Saldívar, S.O., 2012. *Cereal Grains: Laboratory Reference and Procedures Manual*. CRC Press, ISBN 978-1-4398-5565-2. Retrieved May 08, 2022.
- Sui, X., Sun, H.B., Qi, M., Zhang, Li, Y., Jiang, L., 2018. Functional and conformational changes to soy proteins accompanying anthocyanins: focus on covalent and non-covalent interactions. *Food Chem.* 245, 871–878. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.090>.
- Tiwari, B.K., Tiwari, U., Mohan, R.J., Alagusundaram, K., 2008. Effects of various pre-treatments on functional, physicochemical, and cooking properties of pigeon pea (*Cajanus cajan* L.). *Food Sci. Technol.* 14, 487–495. <https://doi.org/10.1177/1082013208101023>.
- Vij, T., Prashar, Y., 2015. A review on medicinal properties of *Carica papaya* Linn. *Asian Pacif. J. Trop. Dis.* 5 (1), 1–6. [https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(14\)60617-4](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(14)60617-4). ISSN 2222-1808.
- Wang, H., Yang, Q., Gao, L., Gong, X., Qu, Y., Feng, B., 2021. Functional and physicochemical properties of flours and starches from different tuber crops. *Int. J. Biol. Macromol.* 148, 324–332. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.01.146>. PMID31954784.
- World Health Organization World Health Report, 2016. Risk Factors Collaborators. Global, regional, and national comparative risk assessment of 79 behavioral, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks, 1990–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet* 388 (10053), 1659–1724, 2016.
- Zhu, S.M., Lin, S.L., Ramaswamy, H.S., Yu, Y., Zhang, Q.T., 2017. Enhancement of functional properties of rice bran proteins by high pressure treatment and their correlation with Surface hydrophobicity. *Food Bioprocess Technol.* 10, 317–327. <https://doi.org/10.1007/s11947-016-1818-7>.



Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo

CAPÍTULO

III



Extracción secuencial y caracterización de fracciones proteicas de semillas de papaya (*Carica papaya*)

Resumen

En la actualidad existe una tendencia a consumir alimentos ricos en proteínas no animales por sus beneficios para la salud y la sostenibilidad ambiental. Hay un gran interés en explorar nuevas fuentes de proteínas vegetales, como las semillas de papaya (*Carica papaya*), que son consideradas como un subproducto agroindustrial, conteniendo una gran cantidad de compuestos que pueden ser utilizados como ingredientes en la industria alimentaria o farmacéutica. Se han realizado investigaciones para que estas semillas puedan ser usadas como fuente alternativa de nutrientes y compuestos bioactivos. Se utilizó harina de semillas de papaya (HSPa) con un contenido de proteína de 21.61 % y harina de trigo Osasuna con un contenido de proteína de 12.27 % como control negativo. Las proteínas presentes en la HSPa están constituidas por 48.28 % de albuminas, 24.21 % de globulinas, 3.41 % de prolaminas y 28.27 % de glutelinas.

Palabras clave: Harina de semillas de papaya (*Carica papaya*), fraccionamiento de proteínas, albuminas, globulinas, prolaminas, glutelinas

Abstract

Papaya seeds (*Carica papaya*) are considered an agro-industrial by-product, containing many valuable compounds that can be used as ingredients in the food or pharmaceutical industry. Research has been carried out so that these seeds can be used as an alternative source of macro and micronutrients and bioactive compounds. Papaya seed flour (HSPa) with a protein content of 21.61 % and Osasuna wheat flour with a protein content of 12.27 % were used as a negative control. The proteins present in the HSPa are made up of 48.28% albumins, 24.21% globulins, 3.41% prolamins and 28.27% glutelins.

Key words: Papaya (*Carica papaya*) seed flour, protein fractionation, albumins, globulins, prolamins, glutelin.

1. Introducción

Las proteínas alimentarias son nutrientes esenciales para la salud humana de especial interés debido a sus múltiples roles en el cuerpo para formar huesos, músculos, enzimas, hormonas y regular la función inmunológica (Zambrowicz *et al.*, 2013;

Mitchell *et al.*, 2015; Groen *et al.*, 2015; Dougkas y Ostman 2016). En la actualidad, las dietas ricas en proteínas son cada vez más populares, con más conciencia sobre la fuente de proteína que se está consumiendo (Banovic *et al.*, 2018; Sokolowski *et al.*, 2020). Las proteínas no animales se derivan de una amplia selección de fuentes vegetales como semillas, nueces, leguminosas, cereales y otras fuentes alternativas (hongos, bacterias y algas) (Grasso *et al.*, 2019).

El fraccionamiento de las proteínas de fuentes alimenticias tiene gran importancia ya que permite explicar la contribución de cada fracción a la calidad nutricional a las propiedades funcionales y por ende las aplicaciones en la elaboración de ciertos productos alimenticios (Chen y Diosady, 2003). La extracción o fraccionamiento de proteínas de nueces, cereales y leguminosas ha sido realizada por diferentes autores en base a su solubilidad en diferentes solventes (Lei *et al.*, 2021; Liu *et al.*, 2023). Una de las clasificaciones que se emplean en análisis de proteínas es la clasificación Osborne, que se basa en la solubilidad de una proteína en una solución determinada de interés especial en el análisis de proteína proveniente de cereales (Sardari *et al.*, 2019).

La papaya (*Carica papaya* L.) es una planta dicotiledónea (Gil y Miranda, 2011) conocida por sus propiedades nutricionales y medicinales en todo el mundo (Devi y Kumar, 2017). Los principales subproductos de la papaya son la cáscara y las semillas, estos desechos consisten en aproximadamente 20-25 % del peso total de la fruta entera (Pathak *et al.*, 2019). La semilla de papaya, tal como muchas otras semillas de frutos frescos, es desechada a la hora de consumir el fruto. También se desecha a la hora de preparar productos procesados, siendo esta de escaso valor alimenticio o comercial para el ser humano, excepto el de volver a sembrar plantas (Yogiraj *et al.*, 2014). En la semilla de papaya, los lípidos y proteínas se encuentran mayoritariamente dentro del endospermo, almacenados en los oleosomas y los granos de aleurona, respectivamente (Gil y Miranda, 2011). La harina producida a partir de semillas de *Carica papaya* es rica en compuestos nutricionales como proteínas (25.63 % a 28.30 %), grasa (28.3 % a 31.13 %), fibra cruda (19.1 % a 30.51 %) y elementos minerales (3.20 % a 8.27 %) y baja en carbohidratos (10.69 % a 25.60 %) (Malacrida *et al.*, 2011; Bouanga-Kalou *et al.*, 2011; Kure *et al.*, 2021). Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue obtener, extraer, clasificar y caracterizar las fracciones proteicas de las semillas de papaya.

2. Materiales y métodos

2.1 Materia prima

Las semillas de papaya se obtuvieron de consumo doméstico de la fruta y de las juguerías del mercado municipal de la ciudad de Tulancingo, Hidalgo, México. Se

lavaron a chorro de agua para eliminar los restos de mucílago y pulpa, posteriormente se colocaron en charolas metálicas para ser secadas al sol, una vez secas se almacenaron en bolsas plásticas Ziploc® herméticas para su uso futuro en el laboratorio. Como testigo se utilizó harina de trigo de la marca de Osasuna® de Molinos Elizondo.

2.2 Harina de semillas de papaya (*Carica papaya*)

Las semillas se molieron en un molino pulverizador monofásico ME - 700Y (Semillas de vida, Cuernavaca, Morelos, México). El material molido obtenido se tamizó a través de un tamiz Tyler No. 32 con un diámetro de poro de 0.425 mm (Tyler, Monterrey, NL, México). Para reducir el tamaño de partícula, la harina se molió dos veces más y se tamizó utilizando un tamiz de malla Tyler No. 60 con un diámetro de poro de 0.246 mm (Tyler, Monterrey, NL, México). Para su posterior análisis, la harina obtenida se almacenó en bolsas plásticas ziploc® herméticas a temperatura ambiente (25 °C) en un lugar seco y oscuro. Todos los experimentos se realizaron en el Instituto de Ciencias Agrícolas de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, en el municipio de Tulancingo de Bravo, Hidalgo, México.

2.3 Determinación de proteínas

La concentración de proteínas en las harinas de semillas de papaya (HSPa) y trigo se determinó por Kjeldahl (951.3) método oficial de la AOAC (2012) con un factor de conversión N x 6.25.

2.4 Fraccionamiento de proteínas

Las proteínas de la harina de semillas de papaya (HSPa) y de harina de trigo fueron extraídas de acuerdo con su solubilidad (Sardari *et al.*, 2019) según el esquema de la figura 1. Realizando la prueba por triplicado. Primer paso: obtención de albuminas se utilizaron 2 g de cada harina más 10 mL de agua destilada que fueron colocados en un tubo Falcón de 15 mL, se agitaron con ayuda de un vortex por 10 min, posteriormente se centrifugaron a 1,800 xg por 15 min, el sobrenadante se vació en un matraz aforado de 25 mL, se repitió el proceso una vez más y se aforó con agua destilada. Segundo paso: para la fracción de globulinas, al sedimento de la primera extracción se le agregaron 10 mL de solución de NaCl 1% se llevaron a agitación en vortex por 10 min, se realizó la centrifugación a 1,800 xg por 15 min, el sobrenadante se vació en un matraz aforado de 25 mL, se repitió el proceso una vez más y se aforó con la solución salina al 1%. Tercer paso: para extraer las prolaminas, el sedimento obtenido de la segunda extracción se le agregaron 10 mL de solución de EtOH al 75% los tubos se agitaron en vortex por 10 min posteriormente se llevaron a baño María a

60°C por 3 min pasado este tiempo se realizó la centrifugación a 1,800 xg por 15 min, el sobrenadante se vació en un matraz aforado de 25 mL, el lavado se repitió una vez más y se aforó con la solución de EtOH al 75%. Cuarto paso: en la obtención de las glutelinas, el sedimento obtenido de la extracción anterior se le agregaron 10 mL de solución de NaOH 0.1M se agitaron los tubos por 10 min en un vortex y la centrifugación (Hermle z206a) se realizó durante 15 min a 1,800 xg, el sobrenadante se vació en un matraz aforado de 25 mL, el lavado se repitió una vez más y se aforó con la solución de NaOH 0.1M (Feng *et al.*, 2021). Las extracciones con las fracciones proteicas se reservaron para determinar el contenido de cada una de ellas por espectrofotometría.

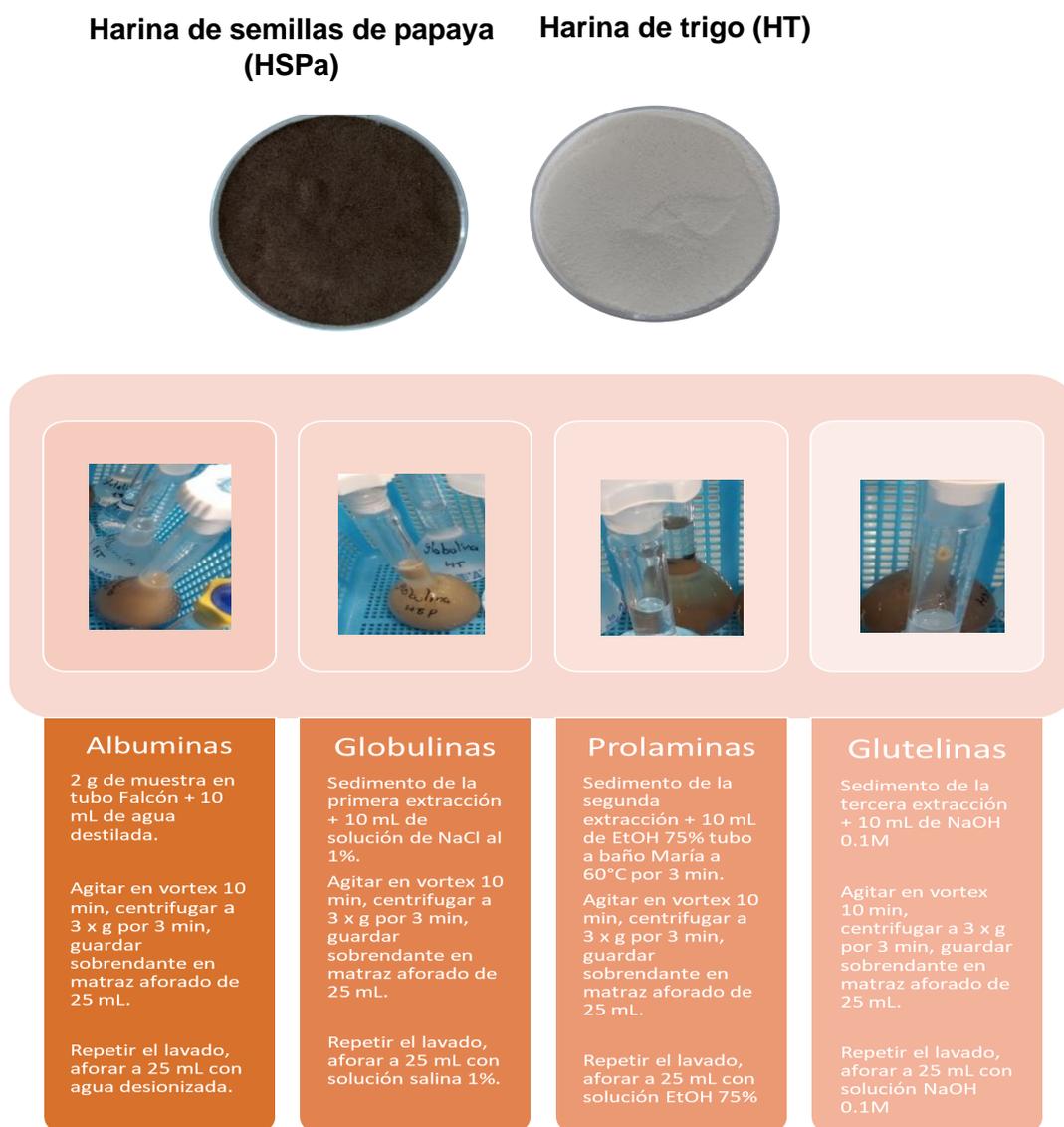


Figura 1. Proceso de extracción de las fracciones proteicas, por solubilidad Osborne (Feng *et al.*, 2021), en harina de semillas de papaya (HSPa) y harina de trigo (HT).

2.5 Cuantificación de fracciones proteicas en harinas de semillas de papaya (HSPa) y trigo (HT) por espectrofotometría

Para llevar a cabo la cuantificación de las fracciones proteicas se realizó una curva de calibración con una solución patrón de albumina de huevo para correlacionar la absorbancia. Para la solución patrón en un tubo de ensayo limpio y seco se colocan 100 mg de albumina de huevo y 5 mL de agua desionizada, se agito y se transfirió a un matraz aforado de 10 mL posteriormente se aforó con agua destilada. Para las fracciones de albuminas y glutelinas fue necesario realizar una dilución 1:10. De la fracción de albuminas, se tomó una alícuota de 0.5 mL y se llevó a un matraz aforado de 5 mL, se aforo con agua destilada. Igualmente, se tomó una alícuota de 0.5 mL de la fracción de glutelinas y se aforó a 5 mL, con solución de NaOH 0.1 M.

Para la preparación de las muestras se utilizaron 15 tubos de ensayo limpios y secos, marcados con números del 1 al 14 y un tubo para el blanco (B), se completaron los volúmenes de cada tubo como lo indica el esquema de la tabla 1.

Tabla 1. Esquema de ensayos para el método de Biuret.

Fracción	Tubos de ensayo (mL)														
	B	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Sol. Patrón		0.1	0.3	0.5	0.7	0.9	1.2								
Albuminas								0.5	1.0						
Globulinas										0.5	1.0				
Prolaminas												0.5	1.0		
Glutelinas														0.5	1.0
Agua destilada	2	1.9	1.7	1.5	1.3	1.1	0.8	0.5	1.0	1.5	1.0	1.5	1.0	1.5	1.0
R. Biuret	4														

Los tubos se agitaron en un vortex y se dejaron en reposo por 30 min a temperatura ambiente. Para acelerar la reacción, se pueden colocar los tubos en un baño de María a 30°C por 10 min. Al finalizar el tiempo, se debe observar desarrollo de color. Las lecturas de las absorbancias se realizaron en un espectrofotómetro con una longitud de onda de 540 nm. Se ajusto el equipo para la lectura del blanco con agua destilada.

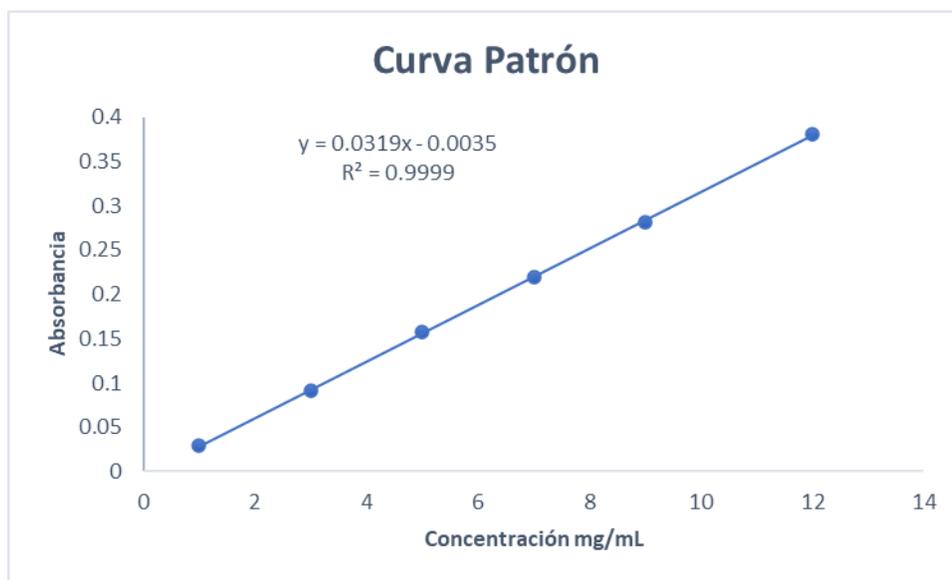


Figura 2. Curva patrón, utilizada para determinar la concentración de las fracciones proteicas en harina de semillas de papaya (HSPa) y harina de trigo (HT).

El cálculo de cada fracción de proteína en cada tiempo de fermentación y de cada tratamiento se realizó con la siguiente ecuación, obtenida de la curva estándar de albúmina de huevo:

Ecuación 1.

$$y = 0.0319x - 0.0035$$

Donde:

$$y = \textit{densidad óptica en nm}$$

$$x = \textit{intercepto}$$

$$\textit{intercepto} = (y + 0.0035)/0.0319$$

Ecuación 2.

$$\text{Contenido de fracción proteica en } \frac{\text{mg}}{100\text{g}} = \frac{[(\text{intercepto})(\text{volumen de dilución})]}{[(\text{volumen de alícuota})(\text{peso de la muestra})]}$$

2.6 Determinación del rendimiento y concentración de proteínas

El rendimiento de cada fracción de proteína extraída de las semillas de papaya se determinó de acuerdo con la Ec. (3) (Kaushik *et al.*, 2016).

Ecuación 3.

$$\text{Rendimiento (\%)} = \left[\frac{P}{S} \right] * 100$$

Donde:

P= peso de la fracción proteica (g)

S= peso seco de la harina de semillas de papaya utilizada para la extracción

2.7 Análisis estadístico

Se realizó el promedio de tres repeticiones (n=3) de cada muestra con desviación estándar.

3. Resultados y discusión

Se obtuvo una concentración de 21.61% de proteínas en la harina de semillas de papaya (HSPa) y 12.27% en la harina de trigo (HT). Existen investigaciones donde reportan altos contenidos de proteínas en las semillas de papaya de 24.3% a 31.9% (Adesuyi e Ipinmoroti, 2011; Oyeleke *et al.*, 2013; Kadiri, 2017; Makanjuola y Makanjuola, 2018; Kure *et al.*, 2021). Comparando el aporte de proteínas vegetales como las provenientes de plantas comestibles como cereales, nueces o tubérculos (Ahmad *et al.*, 2021), las semillas de papaya tienen un mayor contenido. Cao *et al.* (2022), mencionan que las semillas de gramíneas, por ejemplo, maíz (*Zea mays*) y el trigo (*Triticum aestivum*), son fuentes importantes de almidón y tienen menos del 16 % de contenido proteico, este resultado es muy similar a lo obtenido en este estudio, la harina de trigo utilizada tuvo 12.27% de proteínas. Lesmana *et al.* (2022), realizaron una revisión comparativa de aporte de proteínas entre varias harinas elaboradas con subproductos agroindustriales como semillas y cáscaras, se destacó *Carica papaya*

por su elevado contenido proteico. Por otra parte, Saptashish *et al.* (2022), evaluaron el contenido de proteína en cáscara de plátano encontrando 10.16%.

En tabla 2 se puede observar que la fracción de albuminas fue la más abundante en la HSPa, seguida de las glutelinas mientras que, en la HT, las fracciones de prolaminas y glutelinas se encontraron en cantidades similares. El porcentaje total de proteína (% de rendimiento) extraída en la HSPa fue de 97.15% y para la HT fue de 91.51%.

Tabla 2. Fracciones proteicas (g/100g) en harinas de semillas de papaya y trigo.

Fracción proteica	Harina de trigo (HT)	Harina de semillas de papaya (HSPa)
Albuminas	19.21 ± 0.149	44.61 ± 0.028
Globulinas	1.06 ± 0.01	23.21 ± 0.539
Prolaminas	35.08 ± 0.091	3.40 ± 0.039
Glutelinas	36.16 ± 0.056	25.93 ± 0.745

Valores promedio de tres repeticiones (n= 3) con desviación estándar.

El mayor contenido de albuminas y glutelinas marca la diferencia entre la harina de semillas de papaya (HSPa) con otras harinas compuestas como por ejemplo leguminosas que son ricas principalmente en globulinas y albuminas siendo el caso de las harinas hechas con frijol (Karaman *et al.*, 2022) y lupino (Mane *et al.*, 2018). Mir *et al.* (2018), realizaron un aislado de proteína de quinoa, determinaron que las albuminas contenidas en estas semillas presentaron un mejor perfil nutricional y valores biológicos, reemplazando las proteínas de la carne. Szemilao y Sathe (2000), realizaron un estudio en proteínas de nuez reportaron un contenido total de 16.66% y analizaron las fracciones proteicas, indicaron que la albúmina, la globulina, la prolamina y la glutelina representaron respectivamente el 6.81, 17.57, 5.33 y 70.11 g del total de proteínas de la nuez. En este estudio se obtuvieron 25.93 g de glutelinas en las semillas de papaya que también se diferencia de la harina de trigo usada en este análisis por su bajo contenido en prolaminas, esta fracción proteica ha sido relacionada con reacciones alérgicas en la enfermedad celiaca (Asri y Rostami–Nejad 2022).

Marfo *et al.*, (1986) realizaron algunos estudios sobre las proteínas de semillas de papaya, encontrando un mayor contenido de globulinas (53.90%), en su metodología utilizaron mayores concentraciones de NaCl (5%), etanol al 70% obteniendo 3% de prolaminas, la misma concentración de etanol se utilizó en esta investigación, obteniéndose similares resultados para esta fracción. Para las glutelinas ocuparon NaOH al 0.25% para extraer 5.7%.

Los resultados obtenidos en la harina de semillas de papaya probablemente se deben a que las semillas siendo tejidos vegetales suelen contener altas cantidades de proteínas compuestas de almacenamiento sustanciales como reservas de alimentos para el crecimiento temprano de las plántulas (He *et al.*, 2021). Los compuestos de almacenamiento incluyen además de proteínas, lípidos (triacilgliceroles) y carbohidratos (almidón) (Ibl y Stoger, 2012).

4. Conclusiones

En la harina obtenida a partir de semillas de papaya se encontró una mayor concentración de albuminas y globulinas (proteínas metabólicas) fisiológicamente estructurales, utilizadas como reguladores metabólicos y enzimas protectoras de las plantas.

Del mismo modo, las semillas de papaya que son consideradas como un subproducto en la cadena alimentaria pueden ser una alternativa promisorio por su gran contenido de proteínas, contribuyendo al desarrollo de nuevos productos alimentarios, reduciendo la contaminación por residuos y el consumo excesivo de proteínas animales.

5. Referencias bibliográficas

Adesuyi AO, Ipinmoroti KO. (2011). The nutritional and functional properties of the seed flours of three varieties of *Carica papaya*. *Current Research in Chemistry*.3:70-75. Doi: 10.3923/crc.2011.70.75

Ahmad, N., Anwar, Ali., Riaz, S., Ahmad, A., Aqib Mehmood, M. (2021). Vegetable Proteins: Nutritional Value, Sustainability, and Future Perspectives. Doi: 10.5772/intechopen.100236.

Asri, N., Rostami-Nejad, M. (2022). Chapter 4 - Gluten-related disorders definition, Editor(s): Mohammad Rostami-Nejad, *Gluten-Related Disorders*, Academic Press, Pages 49-57, ISBN 9780128218464, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821846-4.00003-6>.

Banovic, M., L. Lahteenmaki, A. Arvola, K. Pennanen, D. E. Duta, M. Bruckner-Guhmann, and K. G. Grunert. (2018). Foods with increased protein content: A qualitative study on European consumer preferences and perceptions. *Appetite* 125:233–43. Doi: 10.1016/j.appet.2018.01.034

Bouanga-Kalou, G., Kimbonguila, A., Nzikou, J., Ganongo, F., Moutoula, F., Panyoo-Akdowa, E., Desobry, S. (2011). Extraction and characteristics of seed oil from Papaya (*Carica papaya*) in Congo-Brazzaville. *Asian Journal of Agricultural Sciences*, 3(2), 132-137. ISSN: 2041-3890. ID: 38818159.

Cao H, Duncan O, Millar AH. (2002). The molecular basis of cereal grain proteostasis. *Essays Biochem.* Aug 5;66(2):243-253. Doi: 10.1042/EBC20210041. PMID: 35818971; PMCID: PMC9400069. Doi: 10.1042/EBC20210041.

Chen, B.K., Diosady, L.L. (2003). Enzymatic Aqueous Processing of Coconuts. *International Journal of Applied Science and Engineering*, 1, 55–61. [https://doi.org/10.6703/IJASE.2003.1\(1\).55](https://doi.org/10.6703/IJASE.2003.1(1).55)

Devi, PSS., Kumar, N. (2017). The surprising health benefits of papaya seeds: A review. 6. 424-429. E-ISSN: 2278 -4136 P-ISSN: 2349- 8234

Dougkas, A., and E. Ostman. (2016). Protein-enriched liquid preloads varying in macronutrient content modulate appetite and appetiteregulating hormones in healthy adults. *The Journal of Nutrition* 146 (3):637–45. DOI: 10.3945/jn.115.217224.

Feng Y, Zhang H, Wang J, Chen H. (2021). Dynamic Changes in Glutenin Macropolymer during Different Dough Mixing and Resting Processes. *Molecules*. 2021; 26(3):541. <https://doi.org/10.3390/molecules26030541>

Gil, A., y Miranda. (2011). Aspectos anatómicos de la semilla de papaya (*Carica papaya* L.). *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 2(2), 145-156. <https://doi.org/10.17584/rcch.2008v2i2.1183>

Grasso, A. C., Y. Hung, M. R. Olthof, W. Verbeke, and I. A. Brouwer. (2019). Older consumers' readiness to accept alternative, more sustainable protein sources in the European union. *Nutrients* 11 (8):1904. DOI: 10.3390/nu1108

Groen, B. B. L., A. M. Horstman, H. M. Hamer, M. de Haan, J. van Kranenburg, J. Bierau, M. Poeze, W. K. W. H. Wodzig, B. B. Rasmussen, and L. J. C. van Loon. (2015). Post-prandial protein handling: You are what you just ate. *PLoS ONE* 10 (11): e0141582. DOI: 10.1371/journal.pone.0141582.

He W., Wang L., Lin Q.L. and Yu F. (2021) Rice seed storage proteins: biosynthetic pathways and the effects of environmental factors. *J. Integr. Plant Biol.* 63, 1999–2019 10.1111/jipb.13176. Doi: 10.1111/jipb.13176.

Ibl V, Stoger E. (2012). The formation, function and fate of protein storage compartments in seeds. *Protoplasma*. 2012 Apr;249(2):379-92. Doi: 10.1007/s00709-011-0288-z. Epub 2011 May 26. PMID: 21614590.

Kadiri OP. (2017). Studies on the chemical composition, functional and antioxidant properties of *Carica papaya* (Pawpaw) seed flour, protein concentrate and protein Isolate. M.Sc. Thesis. Department of Food Science and Technology. Obafemi Awolowo University, Ile-ife, Nigeria.157. Doi: 10.13140/RG.2.2.17265.28005

Karaman, K., Bekiroglu, H., Kaplan, M., Çiftci, B., Yürürdurmaz, C., Sagdic, O. (2022). A detailed comparative investigation on structural, technofunctional and bioactive characteristics of protein concentrates from different common bean genotypes, *International Journal of Biological Macromolecules*, Volume 200, Pages 458-469, ISSN 0141-8130, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.12.170>.

Kaushik, P., Dowling, K., McKnight, S., Barrow, C. J., Wang, B., Adhikari, B. (2016). Preparation, characterization and functional properties of flax seed protein isolate. *Food Chemistry*, 197, 212–220. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.106>

Kure, OA., Inelo, ED., and Donaldben, NS. (2021). Effects of Pawpaw (*Carica papaya*) Seed Flour Addition on the Quality of Wheat Bread. *Asian Food Science Journal*, 20(4), 51-63. DOI: 10.1006/JCRS.1997.0136.

Lei, Y., Gao, S., Xiang, X., Li, X., Yu, X., Li, S. (2021). Physicochemical, structural and adhesion properties of walnut protein isolate-xanthan gum composite adhesives using walnut protein modified by ethanol. *Int. J. Biol. Macromol.*192, 644–653. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.10.022>

Lesmana, D., Vianney, YM., Goenawan, YA., Natalie, K., Sukweenadhi, J., Buschle-Diller, G., Mukti, YP., Erawati, CM and Purwanto, MGM. (2022). Valorization of Peel-Based Agro-Waste Flour for Food Products: A Systematic Review on Proximate Composition and Functional Properties. *ACS Food Science & Technology* 2 (1), 3-20. DOI: 10.1021/acsfoodscitech.1c00353

Liu, Y., Lei, Y., Kang, X., Ouyang, H., Li, X., Yu, X., Gu, Q., Li, S. (2023). Walnut Protein Isolate-κ-Carrageenan Composite Gels Improved with Synergetic Ultrasound-Transglutaminase: Gelation Properties and Structure. *Gels*. 9(2):91. <https://doi.org/10.3390/gels9020091>

Makanjuola OM, Makanjuola JO. (2018). Proximate and selected mineral composition of ripe pawpaw (*Carica papaya*) Seeds and Skin. *Journal of Scientific and Innovative Research*. 7(3):75-77. ISSN 2320-4818. Doi: 10.31254/jsir.2018.7304

Mane, SP., Johnson, SK., Duranti, M., Pareek, VK., Utikar, RP., (2018). Lupin seed γ-conglutin: Extraction and purification methods - A review, *Trends in Food Science & Technology*, Volume 73, Pages 1-11, ISSN 0924-2244, <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.12.008>.

Malacrida, CR., Kimura, M., y Jorge, N. (2011). Characterization of a high oleic oil extracted from papaya (*Carica papaya* L.) seeds. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 31(4), 929- 934. [fecha de Consulta 20 de febrero de 2023]. ISSN: 0101-2061.

Marfo, E.K., Oke, O.L., Afolabi. O.A. (1986). Some studies on the proteins of *Carica papaya* seeds, *Food Chemistry*, Volume 22, Issue 4, 1986, Pages 267-277, ISSN 0308-8146, [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(86\)90085-3](https://doi.org/10.1016/0308-8146(86)90085-3).

Mir, N. A., Riar, C. S., Singh, S. (2018). Nutritional constituents of pseudo cereals and their potential use in food systems: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 75, 170–180. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.03.016>

Mitchell, C. J., R. A. McGregor, R. F. D'Souza, E. B. Thorstensen, J. F. Markworth, A. C. Fanning, S. D. Poppitt, and D. Cameron-Smith. (2015). Consumption of milk protein or whey protein results in a similar increase in muscle protein synthesis in middle aged men. *Nutrients* 7 (10):8685–99. DOI: 10.3390/nu7105420.

Oyeleke GO, Isola AD, Salam MA, Ajao FD. (2013). Evaluation of some chemical composition of pawpaw (*Carica papaya*) seeds under normal storage ripening. *IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology*. 4(6):18-21. Doi: 10.9790/2402-0461821

Pathak, P.D., Mandavgane, S.A. and Kulkarni, B.D. (2019). "Waste to Wealth: A Case Study of Papaya Peel", *Waste Biomass Valoriz.*, vol. 10, no. 6, pp. 1755-1766, <http://dx.doi.org/10.1007/s12649-017-0181-x>

Saptashish, D., Yogesh, K., Saxena, D.C. (2022). Functional, thermal and structural properties of fractionated protein from waste banana peel, *Food Chemistry: X*, Volume 13, 100205, ISSN 2590-1575, <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100205>.

Sardari, RRR., Sutiono, S., Azeem, HA., Galbe, M., Larsson, M., Turner, C., Nordberg Karlsson, E. (2019). Evaluation of Sequential Processing for the Extraction of Starch, Lipids, and Proteins From Wheat Bran. *Front Bioeng Biotechnol*. 7:413. DOI: 10.3389/fbioe.2019.00413. PMID: 31921817; PMCID: PMC6923635.

Sokolowski, C. M., Higgins, S., Vishwanathan, M., Evans. E. M. (2020). The relationship between animal and plant protein intake and overall diet quality in young adults. *Clinical Nutrition* 39 (8): 2609–16. DOI: 10.1016/j.clnu.2019.11.035

Szemilao, K.W.C.; Sathe, S.K. (2000). Walnuts (*Juglans regia* L): Proximate composition, protein solubility, protein amino acid composition and protein in vitro digestibility. *J. Sci. Food Agr.* 80, 1393–1401. [https://doi.org/10.1002/1097-0010\(200007\)80:9<1393::AID-JSFA653>3.0.CO;2-F](https://doi.org/10.1002/1097-0010(200007)80:9<1393::AID-JSFA653>3.0.CO;2-F)

Yogiraj, V., Goyal, P. K., Chauhan, C. S., Goyal, A. and Vyas, B. (2015). *Carica papaya* Linn: an overview", *Int. J. Herb. Med*, vol. 2, no. 5 Part A, pp. 1-8. ISSN: 2321-2187. ID: 31853724.

Zambrowicz, A., M. Timmer, A. Polanowski, G. Lubec, and T.Trziszka. (2013). Manufacturing of peptides exhibiting biological activity. *Amino Acids* 44 (2):315–20. DOI: 10.1007/s00726-012-1379-7.

CAPÍTULO

IV

Cuantificación de gliadinas y glutelinas en una cinética de fermentación de masas elaboradas con harina de trigo y sustitución parcial de harina de semillas de papaya

Resumen

El gluten es un componente importante de la proteína en la harina de trigo, tiene un rol fundamental en el desarrollo de la masa durante la fermentación y la calidad del pan. Este estudio investigó los cambios en el contenido de gluten, el volumen de fermentación al adicionar harina de semillas de papaya (HSPa) durante las etapas de mezclado y reposo del procesamiento de la masa. La etapa de fermentación de la masa es un paso importante para obtener pan de buena calidad porque las células de levadura, que liberan CO₂, influyen en la reología de la masa, el volumen, la textura y el sabor del producto final. El volumen del pan es una característica visual importante y proporciona valores cuantitativos de la capacidad de la red de gluten para retener el gas producido durante la fermentación y del rendimiento de horneado. Los resultados mostraron que el desarrollo de la red de gluten fue óptimo entre el minuto 15 y 30; a partir del minuto 45 de fermentación empieza a disminuir la cantidad de gluten, está relacionado con los parámetros estudiados de volumen de fermentación y el contenido de gliadinas y gluteninas.

Palabras clave: Harina de semillas de papaya (*Carica papaya*), cinética de fermentación, gluten, prolaminas, glutelinas, masas.

Abstract

Gluten is an important component of the protein in wheat flour, it has a fundamental role in the development of the dough during fermentation and the quality of the bread. This study investigated the changes in gluten content, fermentation volume by adding papaya seed flour (HSPa) during the mixing and resting stages of dough processing. The dough fermentation stage is an important step in obtaining good quality bread because the yeast cells, which release CO₂, influence the rheology of the dough, volume, texture and flavor of the final product. The volume of the bread is an important visual characteristic and provides quantitative values of the ability of the gluten network to retain the gas produced during fermentation and of the baking performance. The results showed that the development of the gluten network was optimal between 15 and 30 minutes; from the 45th minute of fermentation the amount of gluten begins to decrease, it is related to the parameters studied of fermentation volume and the content of gliadins and glutenins.

Keywords: Papaya (*Carica papaya*) seed flour, fermentation kinetics, gluten, prolamines, glutelins, doughs.

1. Introducción

En la industria alimentaria y más específicamente en la fabricación de productos a base de harina de trigo, el gluten desempeña un papel clave en la determinación de la calidad de alimentos leudados ya que le confiere a la masa propiedades biofísicas únicas, formando una red continua cuando la harina de trigo se hidrata y se amasa proporcionándole cohesividad, elasticidad y extensibilidad (Pico *et al.*, 2019) permitiendo que se use para hacer pan, y pastas (Zhang *et al.*, 2021). El gluten es el termino general que forma parte de las fracciones proteicas presentes en varios cereales incluidos trigo, centeno, cebada, espelta y Kalmut, representan el 80% del total de estas proteínas, y está compuesto por gliadinas (prolamina) y gluteninas (glutelina) (Fassano y Catassi, 2012). Cuando se requiere aislar gluten, la masa de trigo se somete a lavado y se eliminan los constituyentes solubles en agua como el almidón, albuminas y globulinas, quedando una masa gomosa húmeda (Lafiandra y Shewry, 2022) que se utiliza como material análogo a la carne (Guo *et al.*, 2023), por su bajo costo de obtención y sus propiedades funcionales, el gluten también se utiliza en la industria alimentaria como aglutinante, como fijador de colorantes, aditivos y aromas a los alimentos (Asrarkulova y Bulushova, 2018), en el área no alimentaria se usa en la fabricación de medicamentos como excipientes (Shah *et al.*, 2018), cosméticos y en productos de higiene personal (Verma *et al.*, 2019), inclusive se han fabricado envases, platos y cubiertos biodegradables (Dybka-Stępień *et al.*, 2021).

En la elaboración de pan leudado el proceso de fermentación de la masa es un paso importante para obtener pan de buena calidad debido a que las levaduras, liberan CO₂, tienen una gran influencia en la reología de la masa, el volumen, la textura y el sabor del producto final. La velocidad de fermentación de la masa está fuertemente influenciada por el rendimiento fermentativo de la levadura y las condiciones de fermentación de la masa (Munteanu *et al.*, 2019). El objetivo de esta investigación fue cuantificar gliadinas y glutelinas presentes en las mezclas y evaluar si la adición porcentual de harina de semillas de papaya (HSPa) tuvo algún efecto negativo en el proceso de fermentación de las masas de trigo a diferentes tiempos.

2. Materiales y métodos

2.1 Materia prima

Se utilizó harina de trigo (HT) comercial Osasuna® de los molinos Elizondo (10.38% humedad, 0.27% cenizas, 12.27% proteína, 1.07% extracto etéreo, 0.061% fibra cruda, 75.93% carbohidratos). La harina de trigo fue sustituida parcialmente por harina de semillas de papaya (6.59% humedad, 9.18% cenizas, 21.61% proteína, 22.22% extracto etéreo, 24.46% fibra cruda, 15.92% carbohidratos) en porcentajes del 5 % – 30 %, para la obtención de 6 tratamientos y un tratamiento control 100% HT.

2.2 Preparación de la masa para la cinética de fermentación

Para elaborar las masas se utilizaron 250 g de harina, 160 mL de agua destilada tibia (22°C), 4.5 g de levadura seca activa (marca Tradipan), 1 g de sal (La Fina), 4 g azúcar (estándar), 25 g de mantequilla (La Gloria sin sal) y 5 g de leche en polvo (Nido, Nestlé). La harina de trigo (HT) fue reemplazada en porcentajes del 5% – 30% respectivamente con harina de semillas de papaya (HSPa) para obtener los siguientes tratamientos: Pap1= 5% HSPa + 95% HT; Pap2= 10% HSPa + 90% HT; Pap3= 15% HSPa + 85% HT; Pap4= 20% HSPa + 80% HT; Pap5= 25% HSPa + 75% HT; Pap6= 30% HSPa + 70% HT y el tratamiento control= 100% HT. Todos los ingredientes en cada tratamiento fueron mezclados y amasados manualmente por 10 min aproximadamente hasta obtener una bola de masa, haciendo porciones para obtener pequeñas bolas de 16 g, como se aprecia en la figura 1. Las masas fueron fermentadas en una estufa de secado, acoplado un bowl de acero inoxidable con agua destilada a 36°C y 80% de humedad relativa. Se midió el volumen de fermentación con un vernier digital, al detener el proceso de fermentación cada bola fermentada se colocó en un vaso de precipitados con 200 mL de agua destilada fría (4°C), se guardaron en refrigeración para realizar su posterior lavado como lo indica el método de la AACC 38.10.01. Este procedimiento se realizó por triplicado en cinco tiempos de fermentación (0,15, 30, 45 y 60 min).



Figura 1. Extracción de gluten método 38.10.01 AACC.

2.3 Cuantificación de gluten seco y gluten húmedo

El contenido de gluten húmedo se determinó siguiendo el método de 38.10.01 (AACC, 2000). Se utilizaron bolas de 16 g de masa, la determinación comienza después de la primera fermentación de los tratamientos. Todos los análisis fueron realizados por

triplicado. La masa se dejar reposar en agua a temperatura ambiente 20-60 min. Posteriormente se amasa la muestra suavemente en la corriente de agua del grifo sobre el paño de atornillado hasta que se elimine el almidón y toda la materia soluble (figura 1). Cuando gran parte del almidón se ha eliminado, la bola de gluten se volverá más oscura y tomará una estructura similar a una red. Esta operación generalmente toma de 20 a 30 minutos. El uso de un paño o un tamiz de malla 100 debajo de la mano, mientras se lava, evita que la masa se afloje y entre en el desagüe, es más fácil realizar el lavado si se agrega NaCl al agua de lavado. Para determinar si el gluten está aproximadamente libre de almidón, se dejan caer 1 o 2 gotas de agua de lavado, obtenidas por apretar, a un vaso de precipitados que contenga agua perfectamente clara. Si el almidón está presente, aparece nubosidad, se tienen que prensar lo más posible entre las manos para dejarlo lo más seco posible, pesarlo como gluten húmedo. Se deja secar a peso constante a 100°C por 12 h y enfriar en un desecador por 30 min y se pesa como gluten seco. El contenido de gluten húmedo se calculó de la siguiente manera:

Ecuación 1.

$$A = \frac{[a - (a * 10.38)]}{100}$$

Donde:

a = peso de la bola de masa

10.38% humedad de la harina de trigo Osasuna

Ecuación 2.

$$\text{Contenido de gluten húmedo (\%)} = 100 - \left(\frac{A - B}{A}\right) * 100$$

Donde:

A = porcentaje de humedad (Ec. 1)

B = peso de gluten húmedo

Ecuación 3.

$$\text{Contenido de gluten seco (\%)} = 100 - (A - C)/A * 100$$

Donde:

A = porcentaje de humedad (Ec. 1)

$C = \text{peso de gluten seco}$

2.4 Extracción y cuantificación de prolaminas y glutelinas durante la fermentación de masas elaboradas con harina de trigo y sustitución parcial de harina de semillas de papaya

Se realizó un proceso de fraccionado secuencial con el gluten obtenido por lavado para asegurar la extracción solamente de prolaminas y glutelinas. Se pesó 1 g del gluten obtenido y se llevó a un tubo de centrifuga, agregando 3 mL de agua destilada, se agitó 1 minuto en el vórtex y se centrifugó la suspensión a 1.800 xg por 15 min, se desechó el sobrenadante. Se repitió el procedimiento una vez más. En el tubo de centrifuga con pellet residual, se agregaron 3 mL de solución de NaCl al 1% (p/v), se agitó por 1 minuto en el vórtex y se centrifugó a 1.800 xg por 15 min, se desecha el sobrenadante. Se repitió el procedimiento con 3 mL de solución salina. Se desecha el sobrenadante. Al pellet restante se le agregaron 3 mL de alcohol etílico al 75%, se agitó por 1 min y se colocó el tubo de centrifuga baño María a 60°C por 3 min, se centrifugó la suspensión por 15 min a 1.800 xg. Se transfirió el sobrenadante a un matraz aforado de 10 mL y se repitió el proceso con 3 mL de etanol más. Se aforó con etanol. Al resto sólido se agregaron 3 mL de solución de NaOH 0.1 M, el tubo de centrifuga se agitó con ayuda de un vórtex por 1 min y se centrifugo a 1.800 xg por 15 min. Se transfirió el sobrenadante a un matraz aforado de 10 mL. Se repitió el procedimiento y se aforó el matraz con la solución de hidróxido de sodio (0.1 M), finalmente se guardaron las muestras a -6°C para su análisis posterior (Feng *et al.*, 2021).

La cuantificación de prolaminas y gluteninas se realizó por espectrofotometría utilizando el método de Biuret. Se emplearon las ecuaciones 4 y 5 para calcular la concentración de estas dos fracciones (Rekowski *et al.*, 2019).

Ecuación 4.

$$y = 0.0319x - 0.0035$$

Donde:

$$y = \text{densidad óptica en nm}$$

$$x = \text{intercepto}$$

$$\text{intercepto} = (y + 0.0035)/0.0319$$

Ecuación 5.

$$\text{Contenido de fracción proteica en } \frac{\text{mg}}{100\text{g}}$$

$$= \frac{[(\text{intercepto})(\text{volumen de dilución})]}{[(\text{volumen de alícuota})(\text{peso de la muestra})]}$$

2.5 Volumen de fermentación en masas

El volumen de fermentación se midió con un vernier digital obteniendo datos en mm de tres repeticiones en cada tiempo de fermentación (0, 15, 30, 45, 60 min).

2.6 Análisis estadístico

Todos los experimentos se realizaron en seis tiempos, por triplicado, expresados como medias con desviación estándar (\pm) y analizados con el paquete estadístico SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL). Las diferencias estadísticas ($p < 0.05$) de los resultados se determinaron mediante análisis de varianza (ANOVA) y prueba de Tukey.

3. Resultados y discusión

3.1 Cuantificación de gluten húmedo y gluten seco

Como se muestra en la Fig. 2 y 3, el tratamiento control (100% HT) fue el que tuvo un mayor porcentaje de gluten húmedo y seco durante todos los tiempos de la cinética de fermentación, teniendo el mayor porcentaje a los 15 min (24.348%) habiendo una diferencia significativa con los tratamientos restantes ($p < 0.05$). Los resultados obtenidos están relacionados con la cantidad de proteína de la harina de trigo de cada uno de los tratamientos, a mayor porcentaje de sustitución por harina de semillas de papaya (HSPa) disminuye la cantidad de gluten como se puede apreciar. La funcionalidad de la proteína del gluten depende de los ingredientes que componen la formulación específica de la masa, como el agua y la sal que tienen un impacto en la formación de la red de gluten, así como también las operaciones de amasado y laminado determinan el grado de desarrollo del gluten (Belton, 2005). Feng *et al.* (2021), realizaron un estudio en donde se investigó los cambios en las propiedades del polímero de glutenina (GMP) durante las etapas de mezcla y reposo del procesamiento de masa. Los resultados muestran que el contenido de GMP disminuye durante el tiempo de mezclado mientras que al aumentar el tiempo de reposo puede conducir a la restauración de algunos contenidos de GMP. Coincidiendo con los resultados obtenidos en esta investigación al inicio de la fermentación en el min 0, ya que no hubo tiempo de reposo.

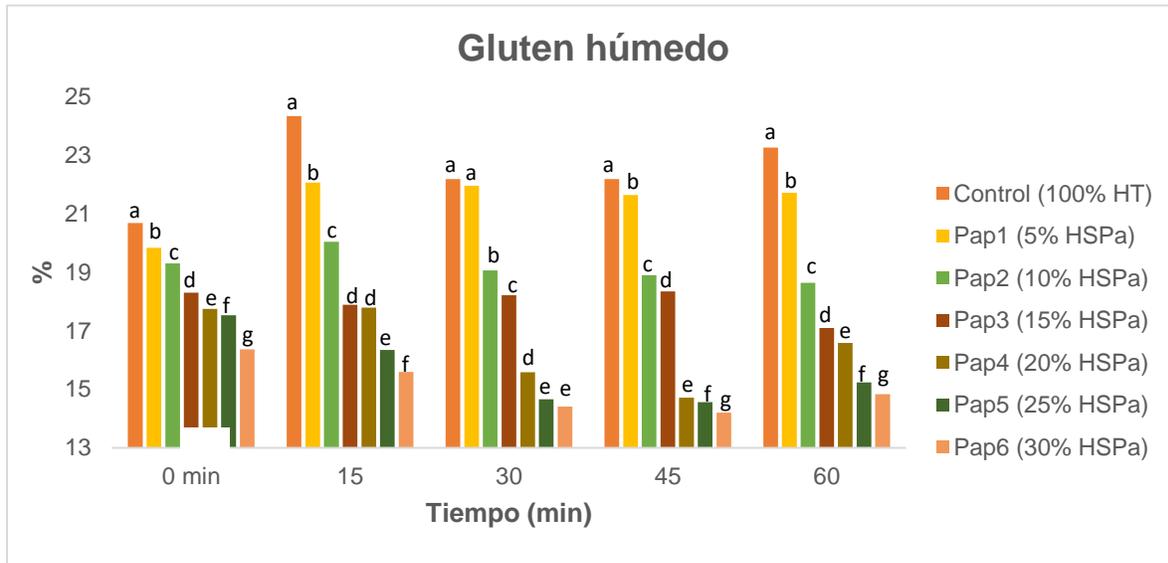


Figura 2. Cuantificación de gluten húmedo. Pap1- Pap6 =tratamientos con sustitución parcial de harina de trigo por harina de semillas de papaya con incrementos del 5% - 30%. HT= harina de trigo. Cinco tiempos de evaluación (0, 15, 30, 45, 60 min). Valores promedio de tres repeticiones (n= 3) con desviación estándar (\pm). Las medias con distintas letras ^{abcde}fg, son significativamente diferentes, utilizando una prueba de Tukey ($p < 0.05$).

Después del proceso de secado del gluten se obtuvieron valores más bajos al evaporarse el agua de las muestras (figura 3 y 4), el tratamiento control fue el que tuvo los porcentajes más altos durante la cinética de fermentación (0 min= 11.83%; 15 min=8.70%; 30 min=8.68%; 45 min=8.48%; 60 min=8.42%) habiendo una diferencia significativa con los demás tratamientos ($p < 0.05$). El mayor contenido de gluten en los tratamientos Pap1 a Pap6 se observó al min 45 de la fermentación (Pap1= 7.89%; Pap2 = 7.67%; Pap3 = 7.72%; Pap4 = 6.28%; Pap5 = 6.04%; Pap6 = 5.33%). Al min 60 los tratamientos empezaron a disminuir su contenido de gluten húmedo (Control = 8.42%; Pap1 = 7.79%; Pap2 = 7.13%; Pap3 = 6.41%; Pap4 = 5.63%; Pap5 = 5.51%; Pap6 = 5.28%). Durante toda la cinética de fermentación, los valores más bajos de gluten se encontraron en el tratamiento Pap6 que tiene 30% de harina de semillas de papaya (0 min= 7.07%; 15 min=5.41%; 30 min= 5.37%; 45 min= 5.33%; 60 min=5.28%), esta disminución en el porcentaje de gluten probablemente se deba al contenido de fibra proveniente de la harina de semillas de papaya (24.46%), Feng *et al.* (2021, 2022), determinaron el efecto de la adición de fibra dietética (DF) y ácido ferúlico (FA) sobre los cambios de agregación glutenina, gliadina y el macropolímero de glutenina (GMP) durante el reposo de la masa, los resultados obtenidos indicaron que el contenido de gliadinas, gluteninas y GMP y el contenido de enlaces disulfuro se redujeron significativamente si se añadía DF y/o FA cuando la masa se dejaba reposar durante 60 min (R60), afectando el proceso de polimerización.

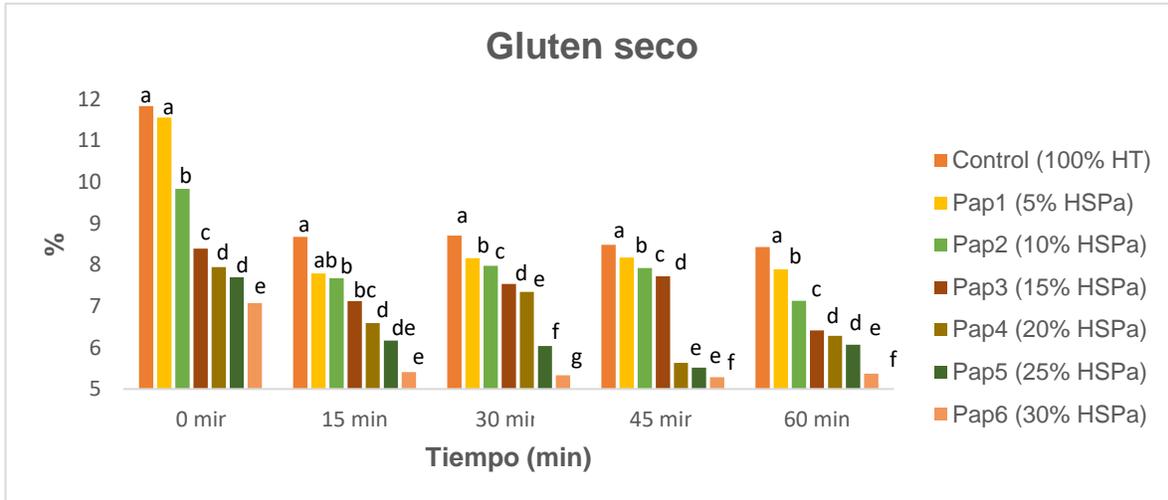


Figura 3. Cuantificación de gluten seco. Pap1- Pap6 =tratamientos con sustitución parcial de harina de trigo por harina de semillas de papaya con incrementos del 5% - 30%. HT= harina de trigo. Cinco tiempos de evaluación (0, 15, 30, 45, 60 min). Valores promedio de tres repeticiones (n= 3) con desviación estándar (\pm). Las medias con distintas letras ^{abcde}fg, son significativamente diferentes, utilizando una prueba de Tukey ($p < 0.05$).

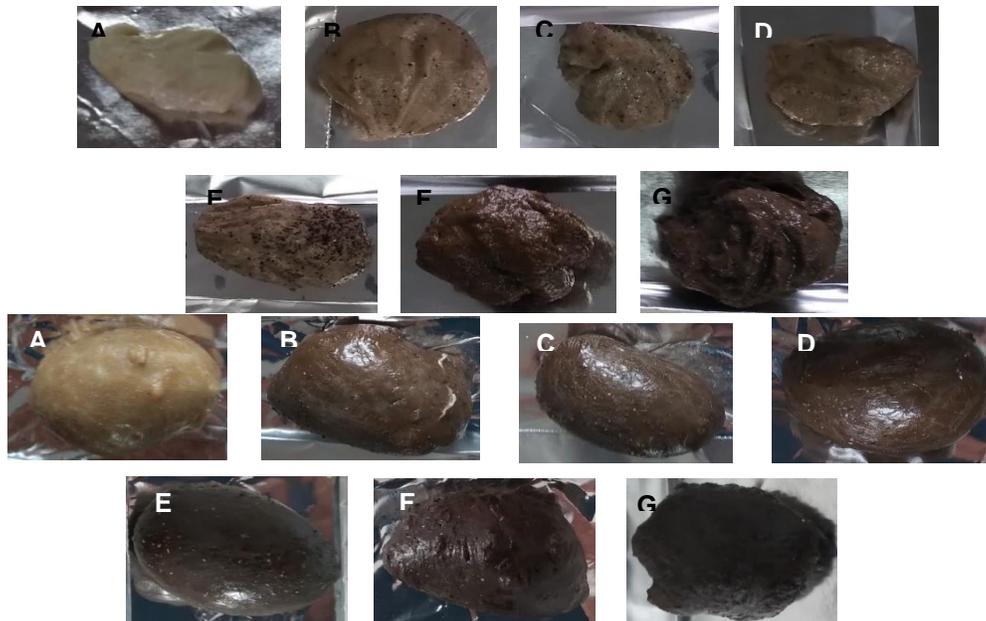


Figura 4. Gluten húmedo y seco. HT= harina de trigo. HSPa= harina de semillas de papaya. A) Control (100% HT). B) Pap1 (5% HSPa + 95% HT). C) Pap2 (10% HSPa + 90% HT). D) Pap3 (15% HSPa + 85% HT). E) Pap4 (20% HSPa + 80% HT). F) Pap5 (25% HSPa + 75% HT). G) Pap6 (30% HSPa + 70% HT).

El procesamiento de la masa, incluidos los pasos de mezclado y reposo, afecta la formación de la red de glutenina y la polimerización GMP, varios estudios han descrito la polimerización del gluten (Tronsmo *et al.*, 2002; Graveland *et al.*, 2010; Bruneel *et al.*, 2011).

3.2 Contenido de prolaminas y gluteninas en masas durante la cinética de fermentación

Como se muestran los resultados en tabla 1 y 2, simultáneamente, las proporciones relativas de prolaminas y gluteninas cambiaron durante la fermentación, encontrándose una mayor cantidad de prolaminas y gluteninas en el tratamiento control al inicio de la fermentación (prolaminas = 1297.48 mg; gluteninas = 1069.24 mg) siendo estadísticamente diferentes al resto de los tratamientos ($p < 0.05$). El tratamiento con menor contenido de estas fracciones proteicas fue el Pap6 con 30% de sustitución de harina de semillas de papaya (prolaminas = 74.59 mg; gluteninas = 30.67 mg). También se puede observar que la cantidad de estas dos fracciones va disminuyendo conforme pasa el tiempo de fermentación. Al término de la cinética (60 min) el control presento las mayores cantidades (prolaminas = 836.10 mg; gluteninas = 709.39 mg), el tratamiento Pap6 presento el menor contenido (prolaminas = 67.99 mg; gluteninas = 23.29 mg) ($p < 0.05$). Schuster *et al.* (2023), analizaron el reposo de masas durante la fermentación y llegaron a la conclusión que esta etapa de la elaboración de masas promueve una mayor formación de partículas de gluten de gran tamaño, lo que probablemente esté relacionado con el aumento del contenido de enlaces disulfuro en el gluten, por el contrario un amasado excesivo provoca la despolimerización del gluten y la formación de partículas más pequeñas, después del mezclado la estructura secundaria de la proteína tiende a desordenarse, la morfología de la proteína se vuelve irregular y la proporción de gliadinas y gluteninas cambia.

Tabla 1. Contenido de prolaminas (mg/100g) en masas fermentadas a diferentes tiempos (0, 15, 30, 45 y 60 minutos), con sustitución parcial de harina de trigo por harina de semillas de papaya.

Tratamiento ¹	Tiempo de fermentación (minutos)				
	0	15	30	45	60
Control	1297.48 ^a ± 10.42	1186.83 ^a ±34.33	867.97 ^a ±12.64	839.09 ^a ±24.80	836.10 ^a ±38.53
Pap1	1092.21 ^b ±10.35	913.84 ^b ±19.13	864.30 ^a ±33.98	779.75 ^a ±14.80	718.11 ^b ±8.30
Pap2	1074.30 ^b ±24.69	891.67 ^b ±86.75	803.10 ^{ab} ±43.11	694.49 ^b ±20.27	624.61 ^c ±28.21
Pap3	894.67 ^c ±91.29	836.10 ^b ±38.53	729.41 ^{abc} ±21.20	666.67 ^b ±47.96	616.28 ^{cd} ±25.67

Pap4	885.10 ^c ±77.63	803.29 ^c ±73.47	701.74 ^{bc} ±131.87	623.39 ^{bc} ±28.12	613.28 ^{cd} ±32.56
Pap5	679.14 ^d ±58.08	666.50 ^c ±62.62	638.35 ^c ±14.73	551.58 ^c ±17.65	548.40 ^d ±18.74
Pap6	74.59 ^e ±0.228	69.59 ^d ±0.389	69.15 ^d ±0.211	69.04 ^d ±0.634	67.99 ^e ±0.071

¹Pap1- Pap6 =tratamientos con sustitución parcial de harina de trigo por harina de semillas de papaya con incrementos del 5% - 30%. Valores promedio de tres repeticiones (n= 3) con media del error estándar. Las medias con distintos superíndices en la misma columna ^{abcdef}, son significativamente diferentes, utilizando una prueba de Tukey (p<0.05).

Tabla 2. Contenido de glutelina (mg/100g) en masas fermentadas a diferentes tiempos (0, 15, 30, 45 y 60 minutos), con sustitución parcial de harina de trigo por harina de semillas de papaya.

Tratamiento ¹	Tiempo de fermentación (minutos)				
	0	15	30	45	60
Control	1069.24 ^a ± 4.68	997.52 ^a ±13.24	874.49 ^a ±3.88	825.64 ^a ±8.88	709.39 ^a ±5.81
Pap1	908.44 ^b ±12.42	884.49 ^b ±5.39	844.81 ^b ±11.29	774.60 ^a ±4.78	708.16 ^a ±15.20
Pap2	844.81 ^c ±11.29	567.20 ^c ±55.34	578.90 ^c ±0.95	555.80 ^b ±48.41	543.50 ^b ±54.16
Pap3	548.85 ^d ±50.99	462.94 ^d ±5.42	461.21 ^d ±2.34	431.61 ^c ±5.80	423.27 ^c ±3.43
Pap4	331.71 ^e ±9.51	262.00 ^e ±4.23	258.48 ^e ±2.05	255.33 ^d ±3.79	232.71 ^d ±0.82
Pap5	301.71 ^e ±0.48	228.66 ^e ±7.16	253.59 ^e ±2.12	249.35 ^d ±2.34	245.34 ^d ±1.32
Pap6	30.67 ^f ±0.234	26.32 ^f ±0.063	26.11 ^f ±0.080	25.76 ^e ±0.091	23.29 ^e ±0.338

¹Pap1- Pap6 =tratamientos con sustitución parcial de harina de trigo por harina de semillas de papaya con incrementos del 5% - 30%. Valores promedio de tres repeticiones (n= 3) con media del error estándar. Las medias con distintos superíndices en la misma columna ^{abcd}, son significativamente diferentes, utilizando una prueba de Tukey (p<0.05).

3.3 Volumen de fermentación

Como se puede observar en la figura 5 a medida que aumentaba el tiempo de reposo en la fermentación aumentaba el volumen de las masas, siendo los tiempos óptimos entre los 30 (Control = 25.45 mm; Pap1 = 25.17 mm; Pap2 = 23.81 mm; Pap3 = 24.46 mm; Pap4 = 23.83 mm; Pap5 = 23.95 mm; Pap6 = 23.43 mm) y 45 minutos (Control = 24.89 mm; Pap1 = 25.61 mm; Pap2 = 24.91 mm; Pap3 = 24.03 mm; Pap4 = 23.96 mm; Pap5 = 23.83 mm ; Pap6 = 24.61 mm), este aumento se observó en todos los tratamientos sin importar el porcentaje de inclusión de harina de semillas de papaya (HSPa). En el minuto 60 la fermentación fue decayendo, siendo el tratamiento Pap2 (24.24 mm) estadísticamente ($p < 0.05$) similar al tratamiento control (24.14 mm).

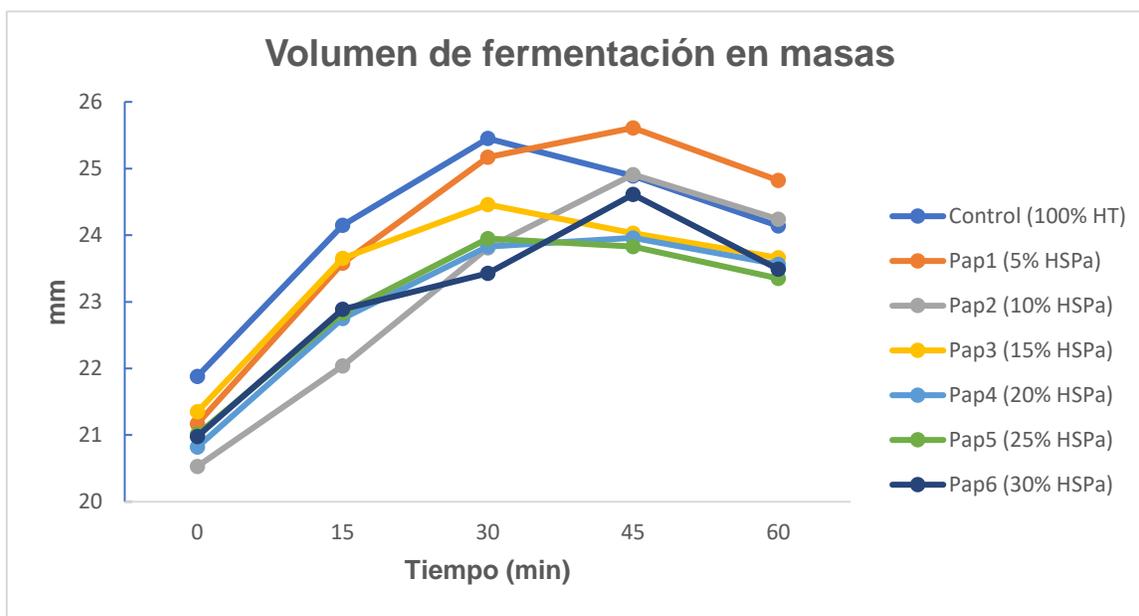


Figura 5. Cambios en el volumen de fermentación en masas. Pap1- Pap6 =tratamientos con sustitución parcial de harina de trigo por harina de semillas de papaya con incrementos del 5% - 30%. HT= harina de trigo. Cinco tiempos de evaluación (0, 15, 30, 45, 60 min). Valores promedio de tres repeticiones ($n = 3$) con desviación estándar (\pm). Para la diferencia de medias se utilizó una prueba de Tukey ($p < 0.05$).

Durante la etapa de reposo (fermentación) de la masa, tanto las cantidades de gluten (tabla 1 y 2) como el volumen de la masa (figura 6) cambiaron, sin embargo, como se observa en la figura 5 los principales cambios ocurrieron antes de que alcanzaran el pico en el tiempo de reposo (30 min), mientras que los cambios detectables en el volumen ocurrieron después del pico del tiempo de reposo (45 min). Después de este pico, al minuto 60 se puede relacionar un decrecimiento en el proceso de fermentación. Feng *et al.* (2021), mencionan que un tiempo de reposo excesivo puede generar resultados negativos, lo que se refleja en un contenido más bajo de enlaces disulfuro (SS), GMP, y tamaños de partículas más irregulares.

La levadura, específicamente, los metabolitos producidos durante la fermentación también afectan la red de gluten. Los efectos sobre la reología de la masa del etanol, ácido succínico (Jarayam *et al.*, 2014 a, b) y glicerol (Meerts *et al.*, 2018) que se produce durante la fermentación, y de glutatión, que es liberado por la levadura después de la muerte celular (Verheyen *et al.*, 2015), todos han demostrado ser significativos. Varios estudios han investigado la influencia de la cantidad, reología, estructura y características del macropolímero de glutenina (GMP) en sus capacidades de panificación basadas en la evaluación de las propiedades masa (Pritchard, 1993; Sapirstein y Suchy, 1999; Don *et al.*, 2003). Falcão-Rodríguez *et al.* (2005), determinaron que una red óptima de gluten es necesaria para el aumento de volumen durante la prueba, el posterior aumento del horno y la expansión del volumen durante la cocción. El volumen del pan se correlaciona positivamente con el módulo elástico GMP [G'] (Tronsmo *et al.*, 2002). El contenido de proteínas, el contenido de gluten húmedo y el volumen de fermentación son parámetros indirectos que se pueden utilizar para predecir la calidad de cocción de productos de harina de trigo leudados (Scherf y Koehler, 2018).



Figura 6. Volumen de masas en fermentación al min 30. HT= harina de trigo. HSPa= harina de semillas de papaya. A) Control (100% HT), B) Pap1 (5% HSPA + 95% HT), C) Pap2 (10% HSPA + 90% HT), D) Pap3 (15% HSPA + 85% HT), E) Pap4 (20% HSPA + 80% HT), F) Pap5 (25% HSPA + 75% HT), G) Pap6 (30% HSPA + 70% HT).

Como se puede observar en la figura 6 hubo fermentación en todos los tratamientos, en diferentes grados, la HSPa no inhibió el crecimiento de la levadura, en la literatura aún no está claro el modo de acción entre las levaduras y compuestos bioactivos durante el proceso de fermentación en una matriz de panificación. Se han llevado a cabo investigaciones para aprovechar este microorganismo como vehículo de fármacos, aceites esenciales, agentes antimicrobianos químicos o fotosensibilizadores contra diversos patógenos o fitopatógenos, Bishop *et al.* (1998), observaron que las células de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*), al ser pretratados con un plasmolizador, fueron capaces de absorber y mantener las sustancias solubles en agua. La microencapsulación de sustancias lipofílicas se logró posteriormente en células de

levadura, que contienen altas cantidades de lípidos (Ciamponi *et al.*, 2012; Sultana *et al.*, 2017; Coradello y Tireli 2021; Ma *et al.*, 2023).

4. Conclusiones

El uso de harina de semillas de papaya (HSPa) como sustituto parcial de harina de trigo tuvo un efecto en el porcentaje de gluten y en el contenido de gliadinas y glutelinas durante la fermentación de masas, no impide este proceso, pero si hay un cambio en el volumen de fermentación. El tiempo óptimo de fermentación es entre los 30 y 45 minutos ya que se obtuvieron los valores más altos en los parámetros evaluados.

5. Referencias bibliográficas

American association of cereal chemists. AACC (2000). Approved methods of the American association of cereal chemists (10th ed.), St. Paul, MN: AACC International.

Asrarkulova, A.S., Bulushova, N.V. (2018). Wheat Gluten and Its Hydrolysates. Possible Fields of Practical Use. Applied Biochemistry and Microbiology 54, 825–833 <https://doi.org/10.1134/S0003683818090107>

Belton, P.S. (2005). New approaches to study the molecular basis of the mechanical properties of gluten, Journal of Cereal Science, Volume 41, Issue 2, Pages 203-211, ISSN 0733-5210, <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2004.06.003>.

Bishop, J., Nelson, G., Lamb, J. (1998). Microencapsulation in yeast cells. Journal of Microencapsulation 15 (6), 761–773. Doi: 10.3109/02652049809008259. PMID: 9818954.

Bruneel, C., Lagrain, B., Brijs, K., Delcour, J.A. (2011). Redox agents and N-ethylmaleimide affect the extractability of gluten proteins during fresh pasta processing. Food Chemistry. 127, 905–911. PMID: 25214077 Doi: 10.1016/j.foodchem.2011.01.048

Coradello, G., Tirelli, N. (2021). Yeast Cells in Microencapsulation. General Features and Controlling Factors of the Encapsulation Process. Molecules. 24;26(11):3123. Doi: 10.3390/molecules26113123. PMID: 34073703; PMCID: PMC8197184.

Ciamponi, F., Duckham, C., Tirelli, N. (2012). Yeast cells as microcapsules. Analytical tools and process variables in the encapsulation of hydrophobes in *S. cerevisiae*. Applied Microbiology and Biotechnology. 95 (6), 1445–1456

Dybka-Stępień, K., Antolak, H., Kmiotek, M., Piechota, D., Koziróg, A. (2021). Disposable Food Packaging and Serving Materials—Trends and Biodegradability. *Polymers*. 13(20):3606. <https://doi.org/10.3390/polym13203606>

Don, C., Lichtendonk, W.J., Plijter, J.J., Hamer, R.J. (2003). Understanding the link between GMP and dough: From glutenin particles in flour towards developed dough. *Journal of Cereal Science*. 38, 157–165. [https://doi.org/10.1016/S0733-5210\(03\)00017-1](https://doi.org/10.1016/S0733-5210(03)00017-1)

Falcão-Rodríguez, M. M., Moldão-Martins, M. y Beirão-da-Costa, M. L. (2005). Thermal properties of gluten proteins of two soft wheat varieties. *Food Chemistry*, 93(3), 459–465. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.10.0>

Fasano A, Catassi C. (2012). Clinical practice. Celiac disease. *New England Journal of Medicine*. 367(25):2419-26. doi: 10.1056/NEJMcp1113994. PMID: 23252527.

Feng, Y., Zhang, H., Wang, J., Chen, H. (2021). Dynamic Changes in Glutenin Macropolymer during Different Dough Mixing and Resting Processes. *Molecules*. 26(3):541. <https://doi.org/10.3390/molecules26030541>

Feng, Y., Zhang, H., Fu, B., Iftikhar, M., Liu, G., Wang, J. (2021). Interactions between dietary fiber and ferulic acid change the aggregation of glutenin, gliadin and glutenin macropolymer in wheat flour system. *Journal of Science Food Agriculture*. 101, 1979–1988. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10814>

Feng, Y., Feng, X., Liu, Sh., Zhang, H., Wang, J. (2022). Effects of dietary fiber and ferulic acid on dough characteristics and glutenin macropolymer (GMP) aggregation behavior during dough resting, *g* Volume 166, 113782, ISSN 0023-6438, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113782>.

Graveland, A., Bongers, P., Bosveld, P. (2010). Extraction and fractionation of wheat flour proteins. *J. Science and Food Agricultural*. 2010, 33, 1117–1128. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740331109>

Guo, L., Nie, X-M., Yang, Y-H., Ren, Y., Ding, X., Qian, J-Y. (2023). Using electric field to modify wet gluten as meat analogue material: A comparative study between pulsed and direct current electric fields, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, Volume 84, 103300, ISSN 1466-8564, <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2023.103300>

Jayaram VB, Cuyvers S, Verstrepen KJ, Delcour JA, Courtin CM. (2014 a). Succinic acid in levels produced by yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) during fermentation strongly impacts wheat bread dough properties. *Food Chemistry*, 151:421-428. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.11.025>

Jayaram VB, Rezaei MN, Cuyvers S, Verstrepen KJ, Delcour JA, Courtin CM. (2014 b). Ethanol at levels produced by *Saccharomyces cerevisiae* during wheat dough

fermentation has a strong impact on dough properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62:9326- 9335. <https://doi.org/10.1021/jf502547a>

Lafiandra, D., Shewry, PR. (2022). Wheat Glutenin polymers 2. The role of wheat glutenin subunits in polymer formation and dough quality, *Journal of Cereal Science*, Volume 106,103487, ISSN 0733-5210, <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2022.103487>.

Ma, Y., Wu, M., Qin, X., Dong, Q., Li, Z. (2023). Antimicrobial function of yeast against pathogenic and spoilage microorganisms via either antagonism or encapsulation: A review. *Food Microbiology*. 112:104242. ISSN 0740-0020, Doi: 10.1016/j.fm.2023.104242. PMID: 36906324.

Meerts, M., Cervera, AR., Struyf, N., Cardinaels, R., Courtin, CM., Moldenaers, P. (2018). The effects of yeast metabolites on the rheological behaviour of the dough matrix in fermented wheat flour dough. *Journal of Cereal Science*, 82:183-189. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2018.06.006>

Munteanu, MG., Voicu, G., Ferdes, M., Stefan, EM., Constantin, G., Tudor, P. (2019). Dynamics of fermentation process of bread dough prepared with different types of yeast. *Scientific Study and Research: Chemistry and Chemical Engineering*. 20. 575-584. ISSN 1582-540X

Pico, J., Reguilón, MP., Bernal, José., Gómez, M. (2019). Effect of rice, pea, egg white and whey proteins on crust quality of rice flour-corn starch based gluten-free breads. *Journal of Cereal Science*, Volume 86, Pages 92-101, ISSN 0733-5210, <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2019.01.014>.

Pritchard, P.E. (1993). The glutenin fraction (gel-protein) of wheat protein-A new tool in the prediction of baking quality. *Aspects of Applied Biology*. 36, 75–78.

Rekowski, A., Wimmer, MA., Henkelmann, G., Zörb, C. (2019). Is a Change of Protein Composition after Late Application of Nitrogen Sufficient to Improve the Baking Quality of Winter Wheat? *Agriculture*. 9(5):101. <https://doi.org/10.3390/agriculture9050101>

Sapirstein, H.D., Suchy, J. (1999). SDS-protein gel test for prediction of bread loaf volume. *Cereal Chemistry*. 76, 144–150. <http://dx.doi.org/10.1094/CCHEM.1999.76.1>.

Scherf, K. A., Koehler, P. (2018). Optimization of micro-scale extension tests for wheat dough and wet gluten. *Journal of Cereal Science*, 79, 477–485. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2017.12.008>

Schuster, Cl., Huen, J., Scherf, KA. (2023). Prediction of wheat gluten composition via near-infrared spectroscopy, *Current Research in Food Science*, Volume 6, 100471, ISSN 2665-9271, <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2023.100471>.

Shah, AV., Serajuddin, Mangione, RA. (2018). Making All Medications Gluten Free. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, Volume 107, Issue 5, Pages 1263-1268, ISSN 0022-3549, <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2017.12.021>.

Sultana A., Miyamoto A., Hy Q.L., Tanaka Y., Fushimi Y., Yoshii H. (2017). Microencapsulation of flavors by spray drying using *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Food Engineering*. 199:36–41. Doi: 10.1016/j.jfoodeng.2016.12.002.

Tronsmo, K.M., Færgestad, E.M., Longva, Å., Schofield, J.D., Magnus, E.M. (2002). A Study of how size distribution of gluten proteins, surface properties of gluten and dough mixing properties relate to baking properties of wheat flours. *Journal of Cereal Science*.35, 201–214. <https://doi.org/10.1006/jcrs.2001.0431>

Verma, AK., Lionetti, E., Gatti, S., Franceschini, E., Catassi, GN., Catassi, C. (2019). Contribution of Oral Hygiene and Cosmetics in the Contamination of the Gluten-Free Diet: Do celiac clients have to worry? *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 68(1): p 26-29, Doi: 10.1097/MPG.0000000000002129

Verheyen, C., Albrecht, A., Herrmann, J., Strobl, M., Jekle, M., Becker, T. (2015). The contribution of glutathione to the destabilizing effect of yeast on wheat dough. *Food Chemistry*, 173:243-249 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.021>

Zhang, M., Zhang, L., Li, M., Sun, Q. (2021). Inhibitory effects of sorbitol on the collapse and deterioration of gluten network in fresh noodles during storage. *Food Chemistry*, 344, 128638. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128638>.

CAPÍTULO

V

Caracterización electroforética SDS-PAGE de masas fermentadas elaboradas con harina de trigo y sustitución parcial de harina de semillas de papaya (*Carica papaya*)

Resumen

Se estudiaron las interacciones entre las proteínas de la harina de semillas de papaya (HSPa) y de trigo (HT) después de mezclar la masa a cuatro diferentes tiempos de fermentación, se realizaron extracciones proteicas por precipitación con ácido tricloroacético (TCA) de las harinas y de las masas con 5% y 15% de HSPa para ser analizadas por electroforesis en gel SDS-PAGE. Los resultados obtenidos con la presencia de algunas bandas de proteínas de peso molecular similar a las proteínas de semillas de papaya en las masas sugieren asociación entre estas proteínas al inicio de la fermentación, conforme paso el tiempo de fermentación se pudo observar una disminución en el número y peso molecular de las bandas de proteínas, siendo más notorio en la masas elaboradas con HSPa. El objetivo de esta investigación fue analizar la degradación de las prolaminas en masas por acción de la harina de semillas de papaya.

Palabras clave: perfil electroforético, semillas de papaya, cinética de fermentación, masa.

Abstract

The interactions between the proteins of the papaya seed flour (HSPa) and wheat flour (HT) were studied after mixing the dough at four different fermentation times, protein extractions were carried out by precipitation with trichloroacetic acid (TCA) of the flours. and of the masses with 5% and 15% HSPa to be analyzed by gel electrophoresis SDS-PAGE. The results obtained with the presence of some protein bands of molecular weight similar to the papaya seed proteins in the masses suggest an association between these proteins at the beginning of fermentation, as the fermentation time passed, a decrease in the number could be observed. and molecular weight of the protein bands, being more notorious in the doughs made with HSPa. The objective of this research was to analyze the degradation of prolamins in doughs by the action of papaya seed flour.

Keywords: electrophoretic profile, papaya seeds, fermentation kinetics, dough.

1. Introducción

El gluten constituye el 80-85% del total de proteínas del grano de trigo (Wieser, 2007) y son los principales factores para las propiedades viscoelásticas de la masa de trigo (Warrach *et al.*, 2002). Las proteínas del gluten se dividen en dos fracciones. Las

gliadinas monoméricas que son las principales responsables de la viscosidad de la masa, mientras que las gluteninas poliméricas determinan la elasticidad de la masa (Wieser, 2007). Las gliadinas generalmente se dividen en α/β -, γ - y ω -gliadinas. Las α/β - y γ -gliadinas representan la fracción rica en azufre de bajo peso molecular (LMW) del gluten, mientras que las ω -gliadinas forman un grupo separado pobre en azufre (Shewry *et al.*, 2002). Basándose en sus masas moleculares relativas (M_r) y secuencias de aminoácidos similares, las ω -gliadinas se subdividen en gliadinas $\omega 5$ -, $\omega 1,2$ -. El M_r de las $\omega 5$ -gliadinas es de aproximadamente 50.000 y el de las $\omega 1,2$ -gliadinas de aproximadamente 40.000. Para α/β - y γ -gliadinas, el M_r es similar y se encuentra en el rango de 28,000 a 35,000 (Schopf y Scherf, 2021). El segundo grupo principal de proteínas de almacenamiento, las gluteninas, están presentes como polímeros. Estas proteínas poliméricas tienen pesos moleculares que van desde menos de 300 a más de 1000 kD (Liu *et al.*, 2010). Dependiendo de su tamaño, se pueden separar en gluteninas de alto peso molecular (HMW-GS) y gluteninas de bajo peso molecular (LMW-GS) (Shewry *et al.*, 2002). Aunque las HMW-GS constituyen solo una pequeña fracción del 6-10% del gluten, son las proteínas de almacenamiento mejor caracterizadas, ya que son cruciales para conferir resistencia a la masa al determinar la proporción de polímeros de glutenina grandes (Wieser y Kieffer, 2001).

Un método común para el análisis de proteínas por electroforesis es la separación basada en gel de poliacrilamida. Este método también se conoce como electroforesis en gel de poliacrilamida de dodecil sulfato de sodio (SDS PAGE), este tipo de geles impiden la migración de moléculas grandes en contraste con las moléculas pequeñas (Gallagher, 2012).

Existen pocos estudios sobre el análisis proteómico en semillas de papaya (*Carica papaya*), se han adaptado diversos métodos para la precipitación de la proteína en este tejido vegetal, utilizando TCA/Acetona (Xu *et al.*, 2008), Fenol (Amalraj *et al.*, 2010), Tris /TCA (Lee *et al.*, 2011). El objetivo de esta investigación fue analizar el perfil electroforético de harinas de trigo (HT), de semillas de papaya (HSPa) y en masas con 5% y 15% de sustitución de HSPa en una cinética de fermentación.

2. Materiales y métodos

2.1 Materia prima

Se utilizó harina de trigo (HT) comercial Osasuna® de los molinos Elizondo (10.38% humedad, 0.27% cenizas, 12.27% proteína, 1.07% extracto etéreo, 0.061% fibra cruda, 75.93% carbohidratos). La harina de trigo fue sustituida parcialmente por harina de semillas de papaya (6.59% humedad, 9.18% cenizas, 21.61% proteína, 22.22% extracto etéreo, 24.46% fibra cruda, 15.92% carbohidratos).

2.2 Elaboración de masas

De acuerdo con resultados anteriores se seleccionaron tres tratamientos, la harina de trigo (HT) fue reemplazada con harina de semillas de papaya (HSPa): Pap1= 5% HSPa + 95% HT; Pap3= 15% HSPa + 85% HT; y el tratamiento control= 100% HT. Se utilizaron los siguientes ingredientes para la formulación básica de masas: 250 g de harina, 160 mL de agua destilada tibia (22°C), 4.5 g de levadura seca activa (marca Tradipan), 1 g de sal (La Fina), 4 g azúcar (estándar), 25 g de mantequilla (La Gloria sin sal) y 5 g de leche en polvo (Nido, Nestlé). El procedimiento de la elaboración de las masas se describe en la figura 1.

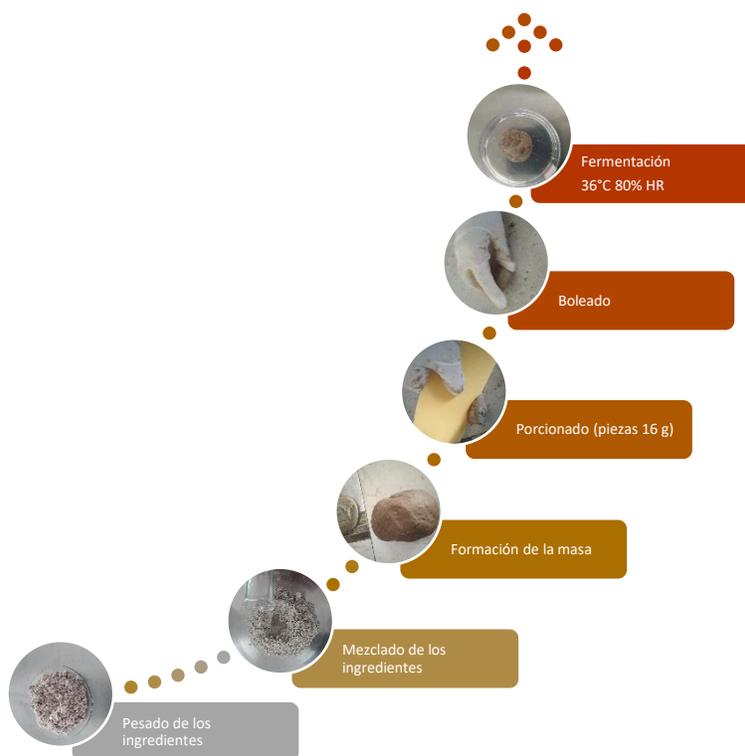


Figura 1. Proceso de elaboración de masas para cinética de fermentación (0,15, 30 y 45 min).

2.3 Extracción de proteínas de masas hechas con harina de trigo y sustitución parcial de harina de semillas de papaya (HSPa), en cinética de fermentación

Se realizó la cinética de fermentación de masas como lo indica la figura 1, se tomaron 4 tiempos de fermentación (0, 15, 30, 45 min) deteniendo la fermentación con agua fría (4°C) y manteniéndolas en refrigeración para posteriormente realizar extractos. Se realizaron extractos (figura 2) de la harina de trigo (HT), de la harina de semillas de

papaya (HSPa) y de las masas control (100% HT), Pap1 (5% HSPa + 95% HT) y Pap3 (15% HSPa + 85% HT).

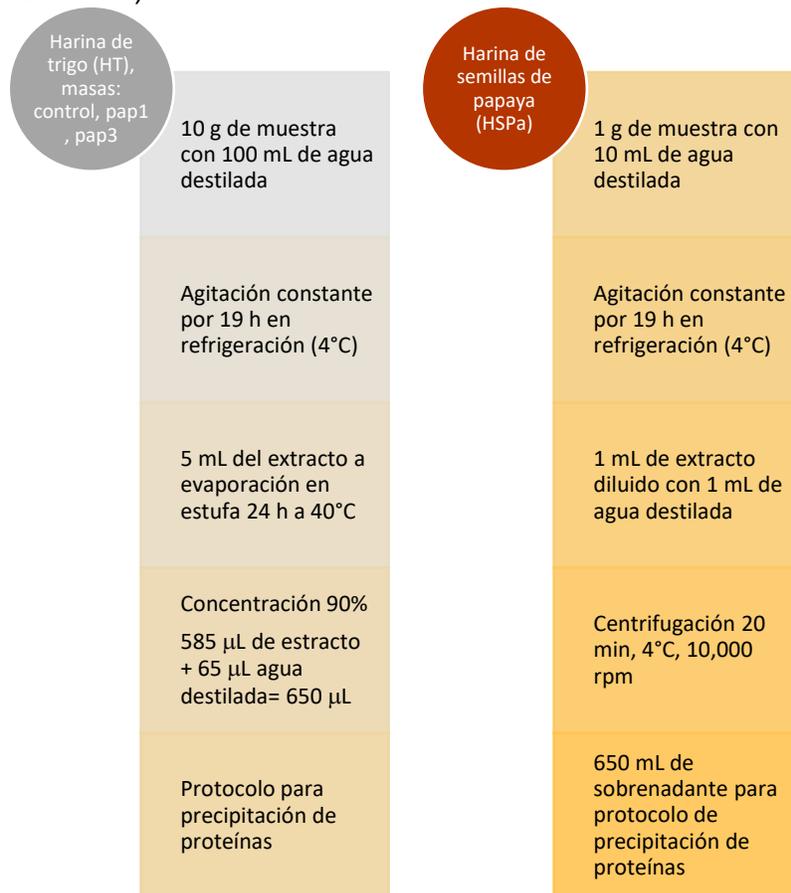


Figura 2. Proceso de extracción de proteínas en harinas de trigo y de semillas de papaya.

2.3.1 Precipitación de proteína con Ácido Tricloroacético (TCA 20%)

Se utilizó la metodología propuesta por Olieman y Bedem (1983), realizando ajustes para este análisis, se emplearon tubos eppendorf de 2 mL para colocar 650 µL de todos los extractos, se agregó la misma cantidad de ácido tricloroacético (TCA, 650 µL), homogenizándolos con ayuda de un vórtex, reposaron 1 h en refrigeración (4°C). Posteriormente se centrifugaron a 10,000 rpm a 4°C por 20 min, el sobrenadante se eliminó por aspiración con una micropipeta de 2 mL. El precipitado obtenido se lavó con 250 µL de etanol al 75% frío (-20°C), se homogenizaron con ayuda de un vórtex y se centrifugaron a 10,000 rpm a 4°C por 15 min, el sobrenadante se eliminó por aspiración con una micropipeta de 2 mL. Se repite una vez más las mismas actividades, la pastilla se secó en la estufa a 40°C hasta evaporar el etanol.

2.4 Preparación del gel de poliacrilamida en condiciones desnaturalizantes (SDS-PAGE)

Se utilizó el método estándar de Laemmli (1970).

2.4.1 Preparación de soluciones para SDS-PAGE

A) Buffer de corrida Tris-HCl 1.5 M pH 8.8 (100 mL)

Reactivo	Cantidad
Tris - base	19.2 g
SDS	0.4 g
Disolver en 30 mL de agua destilada	
Ajustar el pH a 8.8 con HCl concentrado	
Aforar con agua destilada hasta 100 mL	

B) Buffer concentrador Tris-HCl 0.5 M pH 6.8 (100 mL)

Reactivo	Cantidad
Tris - base	6.06 g
SDS	0.4 g
Disolver en 30 mL de agua destilada	
Ajustar el pH a 6.8 con HCl concentrado	
Aforar con agua destilada hasta 100 mL	

C) Buffer muestra (100 mL)

Reactivo	Cantidad
Tris - base	0.757 g
SDS	2 g

Glicerol 50%	5 mL
Disolver en 30 mL de agua destilada	
Ajustar el pH a 6.8 con HCl concentrado	
Aforar con agua destilada hasta 100 mL	

D) Buffer de tanque (1000 mL)

Reactivo	Cantidad
Tris - base	3 g
SDS	1 g
Glicina	14.4 g
Disolver en 500 mL de agua destilada	
Aforar con agua destilada hasta 1000 mL	

E) Solución SDS 10% (p/v) (100 mL)

Reactivo	Cantidad
SDS	10 g
Disolver en 80 mL de agua destilada	
Aforar con agua destilada hasta 100 mL	
El SDS precipita si la temperatura ambiente es inferior a 18°C. Calentar ligeramente para favorecer la disolución. Usar guantes y cubrebocas al prepararlo.	

F) Solución de Persulfato de Amonio (APS) 10% (1 mL)

Reactivo	Cantidad
Persulfato de amonio	1 g

Disolver en 800 μ L de agua destilada
Aforar con agua destilada hasta 1 mL

G) Solución de acrilamida/bisacrilamida 30% (100 mL)

Reactivo	Cantidad
Acrilamida	38.66 g
Bisacrilamida	1.33 g
Disolver en 100 mL de agua destilada	
Guardar en frasco ámbar	

H) Solución de teñido azul de bromofenol (1000 mL)

Reactivo	Cantidad
Azul de bromofenol	1 g
Ácido acético	100 mL
Etanol 96% pureza	400 mL
Ácido Tricloroacético	120 mL
Aforar a 1000 mL con agua destilada, guardar en frasco ámbar	

I) Solución decolorante (1000 mL)

Reactivo	Cantidad
Ácido acético 7%	70 mL
Etanol 50%	500 mL
Agua destilada 43%	430 mL

Guardar en frasco ámbar

Una vez preparadas las soluciones, éstas se almacenan en botellas de cristal de preferencia ámbar y se mantienen a 4°C, salvo que se indique lo contrario. Se prepararon geles de 0.75 mm de espesor, un gel concentrador de aproximadamente 2 cm de longitud que contiene diez pocillos para cargar las muestras y un gel separador de 6 cm de longitud aproximadamente. Las cantidades indicadas en la tabla 1 y 2 corresponden a la preparación de dos geles. En la figura 3, se ilustra el montaje del equipo de electroforesis, la preparación de los geles y el procedimiento a seguir.

1. Preparación del equipo de electroforesis



Figura 3. Montaje del equipo de electroforesis. a) material de electroforesis vertical; b) Montaje del equipo; c-d) Preparación del gel separador y gel concentrador; e-g) h-ñ) electroforesis; o-s) Tinción del gel; t) Desteñido de gel. (Autores: Jesús V. Jorrín Novo y Ana María Maldonado Alconada, 2007).

2. Preparación del gel separador al 8% de acrilamida en tampón Tris-HCl (0.375 M pH 8.8)

Tabla 1. Reactivos para preparar el gel separador al 8%.

Gel separador 8% (10 mL)	
Reactivo	Cantidad
Agua destilada	6.9 mL
Tris HCl 1.5 M pH 8.8	3.75 mL
SDS 10%	0.1 mL
Sol. Acrilamida/bisacrilamida 30%	4.3 mL
APS 10%	0.15 mL
TEMED	0.015 mL

En un tubo Falcon de 50 mL se mezclan los reactivos en orden como lo indica la tabla 1, utilizando una jeringa de vidrio de 1 mL, se añade la mezcla en el interior de las placas de vidrio hasta una altura aproximada de 2 cm del borde superior de la placa superior, de manera que quede el espacio necesario para el gel concentrador, se debe de calcular 1 cm más de la longitud de los pocillos del peine (Fig. 3-c). La jeringa se debe de lavar rápidamente con agua destilada para evitar que se tape la punta, posteriormente, con la misma jeringa, se cubre la superficie del gel con isopropanol o isobutanol, para prevenir el contacto de oxígeno con el gel ya que inhibe la reacción de polimerización (Fig. 3-d), esta reacción se lleva a cabo en 30 min aproximadamente.

La acrilamida y bisacrilamida son agentes neurotóxicos que se absorben a través de la piel. Es necesario llevar guantes durante todo el proceso, incluso después de polimerizar. La polimerización comienza en el momento en que se añade el TEMED.

3. Preparación del gel concentrador al 3%.

Tabla 2. Reactivos para la preparación del gel concentrador.

Gel concentrador 3% (10 mL)	
Reactivo	Cantidad
Agua destilada	6.20 mL
Tris HCl 0.5 M pH 6.8	2.5 mL
Azul de bromofenol	0.0001 g
SDS 10%	0.1 mL
Sol. Acrilamida/bisacrilamida 30%	1 mL
APS 10%	0.100 mL
TEMED	0.005 mL

Pasando 30 min de polimerización del gel separador, se elimina el alcohol que lo cubre, y se lava la parte superior del gel 2-3 veces con agua destilada para eliminar cualquier residuo de acrilamida no polimerizada. Se seca el líquido restante con papel de filtro con cuidado de no dañar el gel. Utilizando una micropipeta, en un tubo Falcon de 50 mL se colocan los reactivos en orden según la tabla 2. Con una jeringa de vidrio de 1

mL se introduce la solución directamente sobre la superficie del gel separador (Fig. 3-e). Inmediatamente se inserta el peine en la solución concentradora con cuidado para evitar que se formen burbujas de aire (Fig. 3-f). Se espera hasta que el gel haya polimerizado (aprox. 30 min). Se retira el peine con cuidado con un movimiento vertical (Fig. 3-g). Usando una jeringa de insulina con agua destilada, se enjuagan los pocillos 2-3 veces para eliminar cualquier resto de acrilamida.

4. Electroforesis

Se insertan las placas de vidrio con los geles polimerizados en la unidad de electroforesis tal como se indica (fig. 3 -h, i). Se agrega la solución de tanque en los espacios interior y exterior (fig. 3-j). En el caso de que se hayan formado burbujas de aire al interior de los pocillos, se eliminan introduciendo la solución de tanque. Se aplican las muestras con ayuda de una jeringa de vidrio de 1 mL en los pocillos, en un orden predeterminado y previamente anotado (fig. 3-k). En algún pocillo se añade el marcador molecular estándar. Se conectaron los electrodos a la cubeta de electroforesis y a la fuente de alimentación y se aplicó corriente eléctrica, a un voltaje constante de 120v (fig. 3-l, m, n).

Es importante comprobar que el depósito superior está totalmente sellado y sin fugas, de manera que los pocillos estén sumergidos en buffer de tanque. Para ello se añade primero el buffer en el depósito superior y se deja un tiempo, por lo que se añade el buffer al depósito inferior.

La duración aproximada del proceso es de 40-45 min. Una vez acabada la electroforesis, cuando el frente de azul de bromofenol alcanza la parte inferior del gel, se desconecta la fuente de alimentación, retirándose los electrodos y sacando los geles de la cubeta de electroforesis. Se sacan los geles de acrilamida del interior del molde, separando cuidadosamente con ayuda de una espátula ambos cristales (fig. 3-p). Se elimina el gel concentrador (fig. 3-q) cortando los pozos. Las bandas de proteínas, una vez terminada la electroforesis, se visualizan tiñendo los geles con la solución de tñido (solución I). Se trasfiere el gel de la placa de vidrio a un recipiente que contiene la solución de tinción (fig. 3-r) con agitación suave por lo menos 30 min, con suficiente cantidad de esta solución a temperatura ambiente (fig. 3-s). Se elimina la solución de tinción y se conserva para futuras tinciones. Posteriormente se añade solución decolorante (solución J) y coloca en agitación para eliminar el exceso de coloración hasta que sólo queden teñidas de azul las proteínas, cambiando la solución decolorante tantas veces como sea necesario. El gel puede estar en esta solución toda la noche, pero se pueden empezar a observar las proteínas en 20 min. Se elimina la solución de desteñido y se añade agua destilada (o acético al 10%). Los geles pueden conservarse de esta forma durante largos periodos de tiempo a 4°C. Durante la electroforesis se debe de estar al pendiente que el depósito superior del buffer no tenga

fugas, en caso de que esto ocurra, se apaga la fuente de la corriente, se rellena el reservorio con más buffer de tanque y se continua la corrida del gel.

5. Preparación de la muestra

En el tiempo de espera durante la polimerización de los geles se preparan las muestras con las que se va a cargar el gel. Con ayuda de una micropipeta se agregó 1 mL de buffer muestra frío al tubo eppendorf donde se precipito la proteína por TCA, se homogenizaron con ayuda de un vórtex, posteriormente se colocaron en baño María por 5 min. Se centrifugaron a 10,000 rpm 4°C por 10 min. Se adicionaron 100 µL del centrifugado en un tubo eppendorf nuevo y se agregó muy poca sacarosa al tubo para darle peso a la muestra y evitar que salga del pocillo al colocarla en el gel concentrador.

2.4.2 Calculo del peso molecular en bandas de proteínas

Con las bandas definidas en el gel, se procedió a calcular su peso molecular, creando una curva estándar (figura 4) con la distancia de migración relativa (Rf) de las proteínas de referencia Bio-Rad (Broad range, Bio-Rad Laboratories, Hercules, USA)., utilizando el programa GelAnalyzer 19.1 (Lazar, Istvan), posteriormente utilizando el paquete Excel, se calculan los valores log₁₀ de los pesos moleculares de las proteínas estándar que se representa versus su distancia de migración correspondientes a cada una de las proteínas estándar. Para las proteínas desconocidas se utiliza el Rf del programa (GelAnalyzer 19.1) y los valores se extrapolan en la fórmula de la curva estándar, para el peso molecular estimado, se utiliza la potencia base 10 del valor Log obtenido.

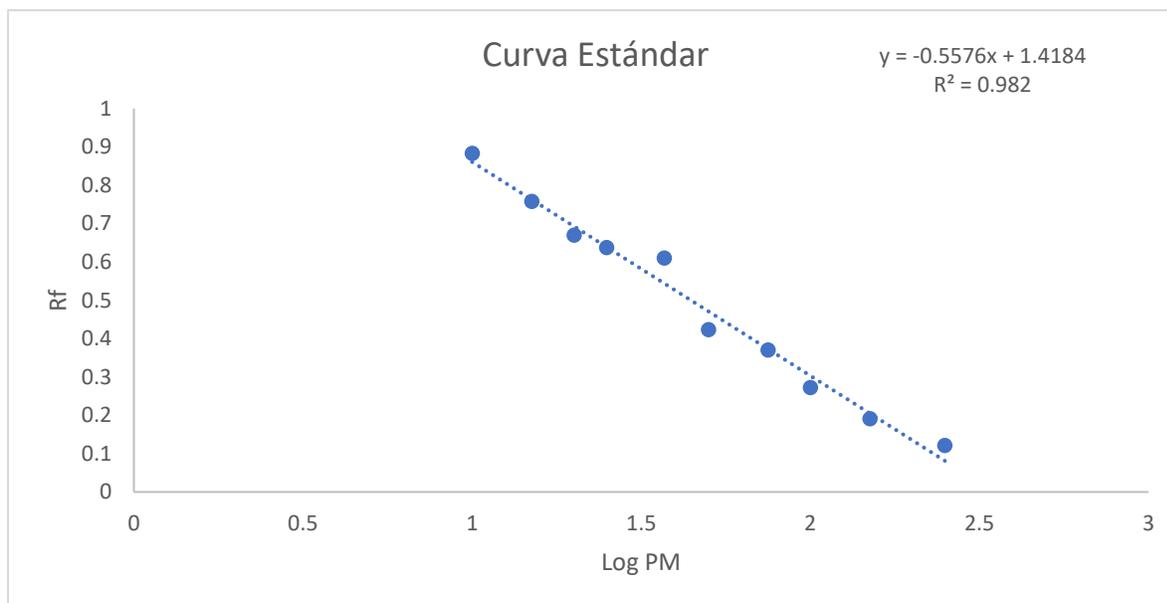


Figura 4. Curva estándar para el cálculo del peso molecular de proteínas.

3. Resultados y discusión

La Figura 5 muestra los patrones electroforéticos de extractos proteicos de harina de semillas de papaya en el carril 1, se encontraron 5 proteínas de 13, 28, 35, 43 y 58 kDa aproximadamente, estos resultados están relacionados con la determinación de las fracciones proteicas del capítulo 3, en donde se encontró el mayor contenido de albuminas (44.61 g/100g) en semillas de papaya, las albúminas constituyen principalmente las proteínas metabólicas, son un grupo de importantes proteínas de almacenamiento (SSP) esenciales para las etapas tempranas y tardías de desarrollo, al proporcionar aminoácidos y otros nutrientes durante la germinación y para su defensa. Otras albúminas, tales como los inhibidores de proteasas o las lectinas están implicadas en los mecanismos de defensa de la planta contra ataques de plagas (Souza, 2020). Othani y Misaky (1983) caracterizaron y purificaron β -d galactosidasa de soluciones salinas de semillas de papaya, encontraron un peso molecular de 56 kDa para esa enzima, resultado parecido con una de las bandas de este estudio. El perfil electroforético realizado por Stephan *et al.* (2022), en semillas de fruta de la pasión (*Passiflora tenuifila* y *Passiflora setacea*) encontraron seis bandas de 19 a 80 kDa, estos resultados son muy similares con el perfil electroforético que presentan las semillas de papaya analizadas en esta investigación la coincidencia en resultados pudiera deberse a que ambos frutos pertenecen a un antepasado en común, coincidiendo en la subdivisión (angiospermas) y la clase (dicotiledóneas).

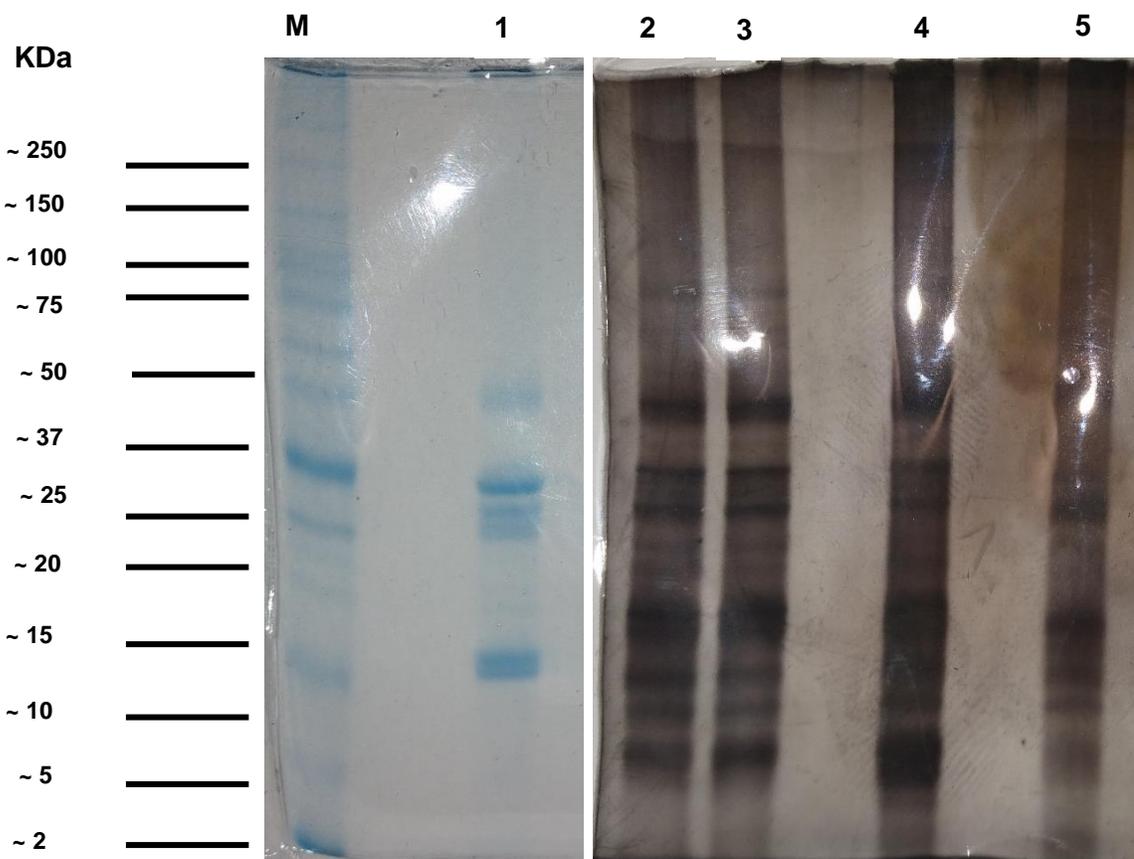


Figura 5. Patrones electroforéticos. Carril MM: marcador de peso molecular; Carril1: Harina de semillas de papaya (HSPa); Carril 2: Masa Pap3: 85% HT + 15 % HSPa; Carril 3: Masa Pap1: 95 % HT + 5 % HSPa; Carril 4: Masa control: 100 % HT; Carril 5: Harina de trigo (HT).

El carril 5 muestra el patrón electroforético de harina de trigo se pudieron ver 16 bandas que van de los 6 a los 334 kDa aproximadamente, de acuerdo con la literatura, las proteínas poliméricas de glutenina, con pesos moleculares que oscilan entre menos de 300 y más de 1000 kDa, se componen de dos grupos de subunidades. Estas subunidades incluyen LMW-GS, que son similares en tamaño y estructura a las γ -gliadinas (30-40 kDa), y las subunidades de glutenina de alto peso molecular (HMW-GS) que varían en masa molecular de ~65 a 90kDa (Shewry y Tatham, 1990, Cornell 2012). Existen diversos trabajos de caracterización electroforética de las proteínas en harina de trigo en los que se observa relativamente la misma movilidad (Gianibelli *et al.*, 2001; Guo *et al.*, 2012; Altenbach *et al.*, 2014). Se consulto la base de datos del subcomité de nomenclatura de alérgenos de la OMS/IUIS (<http://allergen.org>). El trigo hasta la fecha tiene veintiocho tipos de alérgenos que incluyen trece tipos ingeribles, una profilina conocida como tri a 12 de 14 kDa (Rihs *et al.*, 1994), tri a 17 beta – amilasa de 56 kDa (Hofer *et al.*, 2019), tri a 19 Omega-5 gliadina, proteína de almacenamiento de semillas de 65 kDa, tri a 20 gamma gliadina de 35 – 38 kDa (Yokooji *et al.*, 2013),

tri a 26 es una glutenina de alto peso molecular subunidad 5 (Anderson *et al.*, 1989), tri a 36 glutenina de bajo peso molecular GluB3-23 de 40 kDa (Zhao *et al.*, 2004), tri a 37 una alfa purotionina de 12kDa (Van Campenhoute *et al.*, 1998). Mientras que la papaya tiene 2 alérgenos alimentarios relacionados con el consumo del fruto y la inhalación del polen de la flor, se trata de una endo-poligalacturonasa de 57 KDa llamada Cari p1 descubierto por Sarkar *et al.* 2018, compuesta por 495 aminoácidos. El segundo alérgeno está relacionado con el consumo de la pulpa, es una quimopapaína, miembro de la familia de la cisteína proteasa similar a la papaína (peptidasa C1) de 28 KDa conocida como Cari p2, compuesta por 352 aminoácidos (Bhowmik *et al.*, 2021).

Los carriles 2, y 3 corresponden a masas elaboradas con harina de trigo y sustitución parcial de harina de semillas de papaya Pap3 (15%) y Pap1 (5%) con respecto al tiempo inicial de la fermentación de las masas. El carril 4 corresponde a la masa control. Se realizaron geles durante una cinética de fermentación medida a 4 tiempos diferentes (0, 15, 30, 45 min).

Los resultados obtenidos mostraron que al tiempo cero (t1) la masa control mostro 18 bandas de proteínas desde los 6.16 a los 334.21 kDa aproximadamente, la masa Pap1 tuvo 23 bandas con pesos moleculares entre 6.03 a 328.74 kDa y en el tratamiento con 15% de HSPa se pudieron cuantificar 21 bandas de proteínas con pesos de entre 5.76 a 326.04 kDa.

En los primeros 15 min (t2) de fermentación el número de bandas y peso molecular disminuyeron en los tratamientos, se pudieron visualizar en la masa control 15 bandas con 10.24 a 307.72 kDa, en la masa con 5% de HSPa se obtuvieron 19 bandas con pesos moleculares de entre los 6.74 a 310.27 kDa y el tratamiento Pap3 tuvo 20 bandas con 6.80 a 282.16 kDa.

Para el tercer periodo de fermentación (30 min) en la masa control se mantuvieron las 17 bandas, pero disminuyó el peso molecular de estas, oscilaron de 7.79 a 269.63 kDa, los tratamientos con 5% y 15% mostraron 15 (8.29 a 222.06 kDa) y 14 (8.12 a 22.06 kDa) bandas respectivamente.

Para el min 45 (t4) al final de la cinética, se visualizaron 15 bandas en el tratamiento control, el peso molecular varió de 7.39 a 259.79 kDa. Los tratamientos Pap1 y Pap3 finalizaron con 12 bandas cada uno, pero con diferentes pesos moleculares de entre 6.18 a 173.33 kDa para la masa con 5% de HSPa y de 8.12 a 112.81 kDa para la masa con 15% de HSPa. El cambio en el peso de las bandas y en el contenido de proteínas probablemente se deba a la proteólisis que realizan las bacterias ácido lácticas (BAL) y las levaduras durante el proceso de fermentación de las masas, Dizy y Bisson (2000), Gerez *et al.* (2006), Gaenzle *et al.* (2008), Maturano *et al.* (2012), Gaenzle, (2014), Ruiz-Rodríguez *et al.* (2016), han realizado investigaciones sobre los efectos

proteolíticos de estos microorganismos, la actividad de las proteasas se asocian principalmente con la especificidad de la cepa y el sustrato enzimático, además las actividades de la peptidasa microbiana desempeñan un papel importante en la utilización de proteínas durante la fermentación de la masa (Gobbetti *et al.*, 2005; Vermeulen *et al.*, 2005).

Existen investigaciones en las que se ha demostrado el potencial de las interacciones entre las bacterias ácido lácticas (BAL) y las levaduras, Fu *et al.* (2020, 2021, 2023), evaluaron doce cepas de bacterias del ácido láctico y levaduras por su capacidad para hidrolizar proteínas y fermentar masa. La cepa *Pediococcus acidilactici* XZ31 mostró una mayor actividad proteolítica tanto en sustratos de caseína como de proteína de trigo, y tuvo una gran capacidad para reducir la alergenicidad de la proteína de trigo, las cepas *Torulaspora delbrueckii* JM1 y *Saccharomyces cerevisiae* JM4 demostraron una mayor capacidad para fermentar la masa en comparación con otras levaduras.

4. Conclusión

Por la información obtenida sobre el perfil electroforético de las proteínas en harinas de trigo, semillas de papaya y de las masas con 5 y 15% de sustitución realizadas en esta investigación, se sugiere que posteriormente se deban realizar análisis complementarios para determinar con certeza la causa de la disminución del número de bandas y pesos moleculares observados durante el proceso de fermentación así mismo de cómo se lleva a cabo la interacción entre las BAL, levaduras y la harina de semillas de papaya para tal efecto.

5. Referencias bibliográficas

Altenbach, SB., Tanaka, CK., Allen, PV. (2014). Quantitative proteomic analysis of wheat grain proteins reveals differential effects of silencing of omega-5 gliadin genes in transgenic lines. *Journal of Cereal Science* 59: 118– 25. Doi: 10.1016/j.jcs.2013.11.008

Amalraj, RS., Selvaraj, N., Veluswamy, GK., Ramanujan, RP., Muthurajan, R., Palaniyandi, M., Agrawal, GK., Rakwal, R., Viswanathan, R. (2010). Sugarcane proteomics: establishment of a protein extraction method for 2-DE in stalk tissues and initiation of sugarcane proteome reference map. *Electrophoresis* 31: 1959-1974. Doi: 10.1002/elps.200900779.

Anderson, OD., Greene, FC., Yip, RE., Halford, NG., Shewry, PR., Malpica-Romero, JM. (1989). Nucleotide sequences of the two high-molecular-weight glutenin genes from the D-genome of a hexaploid bread wheat, *Triticum aestivum* L. cv Cheyenne. *Nucleic Acids Research*. 17(1):461-2. Doi: 10.1093/nar/17.1.461. PMID: 2563152; PMCID: PMC331581.

Bhowmik, M., Biswas Sarkar, M., Kanti Sarkar, R., Dasgupta, A., Saha, S., Jana, K., Sircar, G., Gupta Bhattacharya, S. (2021). Cloning and immunobiochemical analyses on recombinant chymopapain allergen Cari p 2 showing pollen-fruit cross-reaction.

Molecular Immunology. 137:42-51. Doi: 10.1016/j.molimm.2021.06.010. Epub 2021 Jun 29. PMID: 34214828.

Cornell, H.J. (2012). Chapter 2: The chemistry and biochemistry of wheat, Editor(s): Stanley P. Cauvain, In Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, Breadmaking (Third Edition), Woodhead Publishing, Pages 33-80, ISBN 9780081025192, <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102519-2.00002-5>.

Proteolysis by Sourdough Lactic Acid Bacteria: Effects on Wheat Flour Protein Fractions and Gliadin Peptides Involved in Human Cereal Intolerance

Di Cagno, R., De Angelis, M., Lavermicocca, P., De Vincenzi, M., Giovannini, C., Faccia, M., Gobbetti, M. (2002). Proteolysis by Sourdough Lactic Acid Bacteria: Effects on Wheat Flour Protein Fractions and Gliadin Peptides Involved in Human Cereal Intolerance. Applied and Environmental Microbiology. Volume 68, 2, 623 – 633. Doi: 10.1128/AEM.68.2.623-633.2002

Dizy, M., Bisson, L.F. (2000). Proteolytic activity of yeast strains during grape juice fermentation. American Journal of Enology and Viticulture. 51, 155–167. Doi: 10.5344/ajev.2000.51.2.155

Fu, W., Xue, W., Liu, C., Tian, Y., Zhang, K., & Zhu, Z. (2020). Screening of Lactic Acid Bacteria and Yeasts from Sourdough as Starter Cultures for Reduced Allergenicity Wheat Products. Foods, 9(6), 751. MDPI AG. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.3390/foods9060751>

Fu, W., Liu, C., Meng, X., Tao, S., Xue, W. (2021). Co-culture fermentation of *Pediococcus acidilactici* XZ31 and yeast for enhanced degradation of wheat allergens. International Journal of Food Microbiology, Volume 347, 109190, ISSN 0168-1605, <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109190>.

Fu, W., Chen, C., Liu, C., Tao, S., Xue, W. (2023). Changes in wheat protein digestibility and allergenicity: Role of *Pediococcus acidilactici* XZ31 and yeast during dough fermentation. Food Science and Human Wellness, Volume 12, Issue 6, Pages 2381-2389, ISSN 2213-4530, <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2023.03.006>.

Gaenzle, M.G., Loponen, J., Gobbetti, M. (2008). Proteolysis in sourdough fermentations: Mechanisms and potential for improved bread quality. Trends in Food Science and Technology 19, 513–521. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2008.04.002>

Gaenzle, M.G. (2014). Enzymatic and bacterial conversions during sourdough fermentation. Food Microbiology 37, 2–10. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.04.007>

Gallagher, S. (2012). SDS-Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE). Current Protocol Essential Laboratory Technology. 6:7.3.1-7.3.28. © by John Wiley & Sons, Inc. <https://doi.org/10.1002/9780470089941.et0703s06>

GelAnalyzer 19.1 (www.gelanalyzer.com) Istvan Lazar Jr., PhD e Istvan Lazar Sr., PhD, CSc

- Gerez, C.L.; Rollán, G.C.; Valdez, G.F. (2006). Gluten breakdown by lactobacilli and pediococci strains isolated from sourdough. *Letters in Applied Microbiology* 42, 459–464. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2006.01889.x>
- Gianibelli, M.C., Larroque, O.R., MacRitchie, F., Wrigley, C.W. (2001). Biochemical, genetic, and molecular characterization of wheat glutenin and its component subunits. *Cereal Chemistry.*, 78, pp. 635-646, Doi: 10.1094/CCHEM.2001.78.6.635
- Gobbetti, M., De Angelis, M., Corsetti, A., Di Cagno, R. (2005). Biochemistry and physiology of sourdough lactic acid bacteria. *Trends on Food Science and Technology.* 16, 57–69. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2004.02.013>
- Guo, G., Lv, D., Yan, X., Subburaj, S., Ge, P., Li, X., Hu, Y., Yan, Y. (2012). Proteome characterization of developing grains in bread wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.) *BMC Plant Biology.*, 12, p. 147, Doi: 10.1186/1471-2229-12-147
- Hofer, G., Wieser S., Bogdos, MK., Gattinger, P., Nakamura, R., Ebisawa, M., Mäkelä, M., Papadopoulos, N., Valenta, R., Keller, W. (2019). Three-dimensional structure of the wheat β -amylase Tri a 17, a clinically relevant food allergen. *Allergy.* 74(5):1009-1013. Doi: 10.1111/all.13696. PMID: 30515829; PMCID: PMC6563530.
- Jorrín, J.V., Maldonado, A., Castillejo, M.A. (2007). Plant proteome analysis: a 2007 update. *Proteómica* (00), 67-69, *Proteomics* 7. URI <http://hdl.handle.net/10396/9011>
- Laemmli UK. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature.* 227(5259):680-5. PMID: 5432063. Doi: 10.1038/227680a0.
- Lee, J., Jiang, W., Qiao, Y., Cho, Y., Woo, M., Chin, J., Kwon, S., Hong, S., Choi, I., Koh, H. (2011). Shotgun proteomic analysis for detecting differentially expressed proteins in the reduced culm number rice. *Proteomics* 11: 455-468. Doi: 10.1002/pmic.201000077.
- Lehto, M., Palosuo, K., Varjonen, E., Majuri, ML., Andersson, U., Reunala, T., Alenius, H. (2003). Humoral and cellular responses to gliadin in wheat-dependent, exercise-induced anaphylaxis. *Clinical and Experimental Allergy.* 33(1):90-5. Doi: 10.1046/j.1365-2222.2003.01568.x. PMID: 12534555.
- Liu, L., Ikeda, T., Branlard, G., Peña, R., Rogers, W., Lerner, S., Kolman, M., Xia, X., Wang, L., Ma, W. (2010). Comparison of low molecular weight glutenin subunits identified by SDS-PAGE, 2-DE, MALDI-TOF-MS and PCR in common wheat. *BMC Plant Biology.* 10, 124–148. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-10-124>
- Maturano, Y.P., Rodríguez Assaf, L.A., Toro, M.E., Nally, M.C., Vallejo, M., Castellanos de Figueroa, L.I., Combina, M., Vazquez, F. (2012). Multi-enzyme production by pure and mixed cultures of *Saccharomyces* and non-*Saccharomyces* yeasts during wine fermentation. *International Journal of Food and Microbiology.* 155, 43–50. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.01.015>

Ohtani, Kimiko y Misaki, Akira. (1983) Purification and Characterization of β -d-Galactosidase and α -d-Mannosidase from Papaya (*Carica papaya*) Seeds. *Agricultural and Biological Chemistry*, 47:11, 2441-2451, Doi: 10.1080/00021369.1983.10865977

Olieman, C., Bedem, J. W.A. (1983). A sensitive HPLC method of detecting and estimating rennet whey total solids in skim milk powder. *Netherlands Milk Dairy Journal*. 37: 27-36. Corpus ID: 90872407

Rihs, HP., Rozynek, P., May-Taube, K., Welticke, B., Baur, X. (1994). Polymerase chain reaction-based cDNA cloning of wheat profilin: a potential plant allergen. *International Archives of Allergy and Immunology*.105(2):190-4. Doi: 10.1159/000236824. PMID: 7920020.

Ruiz Rodríguez, L., Vera Pingitore, E., Rollan, G., Cocconcelli, P.S., Fontana, C., Saavedra, L., Vignolo, G., Hebert, E.M. (2016). Biodiversity and technological-functional potential of lactic acid bacteria isolated from spontaneously fermented quinoa sourdoughs. *Journal of Applied Microbiology*. 120, 1289–1301. <https://doi.org/10.1111/jam.13104>

Sarkar, MB., Sircar, G., Ghosh, N., Das, AK., Jana, K., Dasgupta, A., Bhattacharya, SG. (2018). Cari p 1, a Novel Polygalacturonase Allergen from Papaya Acting as Respiratory and Food Sensitizer. *Frontiers in Plant Science*. 18;9:823. Doi: 10.3389/fpls.2018.00823. PMID: 29967633; PMCID: PMC6016011.

Schopf, M., y Scherf, K. A. (2021). Water Absorption Capacity Determines the Functionality of Vital Gluten Related to Specific Bread Volume. *Foods*, 10(2), 228. MDPI AG. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.3390/foods10020228>

Souza, PFN. (2020). The forgotten 2S albumin proteins: Importance, structure, and biotechnological application in agriculture and human health. *International Journal of Biology and Macromolecules*. 164:4638-4649. Doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.09.049. PMID: 32937155.

Shewry PR, Tatham AS. (1990). The prolamin storage proteins of cereal seeds, structure and evolution. *Biochemistry Journal*. 267 (1): 1-12. Doi: 10.1042/bj2670001

Shewry, P.R., Halford, N.G., Belton, P.S., Tatham, A.S. (2002). The structure and properties of gluten: an elastic protein from wheat grain. *Philosophy Transactions of the Royal Society London. B. Biology Science* 357, 133–142. <https://doi.org/10.1098/rstb.2001.1024>

Stephan, M. P., Costa, A. M., Azevedo, T. de L., Rosa, J. S. da Santos, A. A. (2022). Electrophoresis (SDS-PAGE) as a method for screening species of *Passiflora* using seed proteins as molecular markers. *Journal of Agricultural Science and Technology B*, v. 12, n. 2, p. 40-47, 2022. <https://doi.org/10.17265/21616264/2022.02.002>

Van Campenhout, S., Sági, L., Vander Stappen, J. Volckaert, G. (1998). Characterisation of type-I thionin loci from the A, B, D and R genomes of wheat and rye. *Theoretical and Applied Genetics* 96, 80–86. <https://doi.org/10.1007/s001220050712>

- Vermeulen, N., Pavlovic, M., Ehrmann, M.A., Gänzle, M.G., Vogel, R.F. (2005). Functional Characterization of the Proteolytic System of *Lactobacillus sanfranciscensis* DSM 20451T during Growth in Sourdough. *Applied Environmental Microbiology*. 71, 6260–6266. Doi: <https://doi.org/10.1128/AEM.71.10.6260-6266.2005>
- Warraich, E. A., Basra, S. M. A., Ahmad, N., Ahmed, R., Aftab, M. U. H. A. M. M. A. D. (2002). Effect of nitrogen on grain quality and vigour in wheat (*Triticum aestivum* L.). *International Journal of agriculture and Biology*, 4(4), 517-520. Doi: 1560–8530/2002/04–4–517-520
- Wieser, H., Kieffer, R. (2001). Correlations of the Amount of Gluten Protein Types to the Technological Properties of Wheat Flours Determined on a Micro-scale. *Journal of Cereal Science*, Volume 34, Issue 1, Pages 19-27, ISSN 0733-5210, <https://doi.org/10.1006/jcrs.2000.0385>.
- Wieser, H. (2007). Chemistry of gluten proteins. *Food Microbiology*. Volume 24, Issue 2, pages115–119. ISSN 0740-0020, <https://doi.org/10.1016/j.fm.2006.07.004>
- Xu, C., Xu, Y., Huang, B. (2008). Protein extraction for two-dimensional gel electrophoresis of proteomic profiling in turfgrass. *Crop Science* 48: 1608-1614. Doi: 10.2135/cultivosci2007.11.0624
- Yokooji, T., Kurihara, S., Murakami, T., Chinuki, Y., Takahashi, H., Morita, E., Harada, S., Ishii, K., Hiragun, M., Hide, M., Matsuo, H. (2013). Characterization of causative allergens for wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis sensitized with hydrolyzed wheat proteins in facial soap. *Allergology International*. 62(4):435-45. Doi: 10.2332/allergolint.13-OA-0561. PMID: 23963475.
- Zhao, H., Wang, R., Guo, A., Hu, S., Sun, G. (2004). Development of primers specific for LMW-GS genes located on chromosome 1D and molecular characterization of a gene from Glu-D3 complex locus in bread wheat. *Hereditas*. 141(3):193-8. Doi: 10.1111/j.1601-5223.2004.01852.x. PMID: 15703035.

CAPÍTULO

VI



Análisis morfométrico de pan adicionado con harina de semillas de papaya (*Carica papaya*) usando Image J como técnica digital

Resumen

La composición estructural de la miga de pan, así como el volumen son algunos de los factores importantes que caracterizan la textura del pan fresco. Se realizaron mediciones de longitud y diámetro para obtener el volumen total de las piezas de pan. Se utilizó ImageJ como técnica digital para evaluar los parámetros de morfometría, color y constitución alveolar (tamaño y cantidad de alvéolos). Se elaboró pan de trigo con sustitución parcial de harina de semillas de papaya en porcentajes del 5% al 30%. Del análisis de morfometría se obtuvieron las variables de circularidad (entre 0.8433 ± 0.00 y 0.8833 ± 0.01), aspecto de radio (entre 1.03 ± 0.01 y 1.10 ± 0.01) y redondez (entre 0.9000 ± 0.02 y 0.9700 ± 0.01), no presentaron significancia estadística ($p < 0.05$). En la determinación del color se evaluaron tres diferentes ángulos de vista del pan (superior, lateral e inferior), se observó una tendencia a colores rojos en el pan con valores máximos en el tratamiento control de 214.83 ± 23.32 píxel, y un valor mínimo para el tratamiento Pan 25% con 40.27 ± 9.58 píxel, la menor tendencia de color correspondió al valor de azules donde el tratamiento control presentó un valor mayor de 167.09 ± 26.87 , mientras que todos los tratamientos con incremento porcentual de harina de semilla de papaya fueron estadísticamente inferiores ($p < 0.05$) con valores entre 32.32 ± 7.42 (Pan 10%) y 44.10 ± 11.00 (Pan 5%). En la determinación de las dimensiones de los tratamientos (Pan 5% - Pan 30%) se observó una disminución en estas, siendo afectadas por el incremento porcentual de la harina de semillas de papaya, en las variables de longitud se obtuvieron valores entre 4.54 ± 0.13 y 3.92 ± 0.10 cm, para el diámetro los valores obtenidos fueron de 4.26 ± 0.12 a 3.43 ± 0.08 cm, finalmente para el volumen total los resultados mostraron valores entre 60.76 ± 2.72 y 42.60 ± 1.72 cm³ siendo estadísticamente diferentes al tratamiento control ($p < 0.05$). Por lo tanto, la adición porcentual de harina de semillas de papaya afectó las variables morfométricas del pan.

Palabras clave: ImageJ, morfometría, miga de pan, harina de semillas de papaya

Abstract

The structural composition of the breadcrumb, as well as the volume are some of the important factors that characterize the texture of fresh bread. ImageJ was used as a digital technique to evaluate the parameters of morphometry, color and alveolar constitution (size and number of alveoli) in the crumb. Wheat bread was made with partial substitution of papaya seed flour in percentages from 5% to 30%. Measurements of length and diameter were made to obtain the total volume of the pieces of bread. From the morphometric analysis, variables of circularity (between 0.8433 ± 0.00 and

0.8833 ± 0.01), radius aspect (between 1.03 ± 0.01 and 1.10 ± 0.01) and roundness (between 0.9000 ± 0.02 and 0.9700 ± 0.01) were obtained, they did not present statistical significance. (p<0.05). In the determination of color, three different angles of view of the bread were evaluated (upper, lateral and lower), a tendency to red colors was observed in the bread with maximum values in the control treatment of 214.83 ± 23.32 pixels, and a minimum value for the Pan 25% treatment with 40.27 ± 9.58 pixels, the lowest color trend corresponded to the blue value where the control treatment presented a higher value of 167.09 ± 26.87, while all the treatments with a percentage increase in papaya seed flour were statistically lower (p<0.05) with values between 32.32 ± 7.42 (Pan 10%) and 44.10 ± 11.00 (Pan 5%). In determining the dimensions of the treatments (Pan 5% - Pan 30%) a decrease was observed in these, being affected by the percentage increase in papaya seed meal, in the length variables values between 4.54 ± 0.13 were obtained and 3.92 ± 0.10 cm, for the diameter the values obtained were from 4.26 ± 0.12 to 3.43 ± 0.08 cm finally for the total volume the results showed values between 60.76 ± 2.72 and 42.60 ± 1.72 cm³ being statistically different from the control treatment (p <0.05). Therefore, the percentage addition of papaya seed flour affected the morphometric variables of the bread.

Keywords: ImageJ, morphometry, breadcrumbs, papaya seed flour

1. Introducción

La tendencia en la actualidad de elaborar productos de panificación adicionados con harinas provenientes de diferentes fuentes vegetales como nuevos ingredientes es debido a las mejoras nutricionales en dichos alimentos (Foschia *et al.*, 2017; Conte *et al.*, 2019). El uso de harinas mixtas o compuestas en la panificación propicia el reemplazo parcial de harina de trigo, esto ha permitido fabricar una serie de productos alimenticios con mejor contenido nutricional y compuestos bioactivos con alta capacidad antioxidante, además estos alimentos coadyuvan en el desarrollo de una mejor calidad de vida en los consumidores (Sacón-Vera *et al.*, 2016; Giuberti y Gallo, 2018). Entre los parámetros de calidad en panificación, se realizan análisis de harina y masa, la prueba de horneado, el volumen de los panes y la calidad de la miga (alvéolos), los dos últimos de mayor importancia para determinar la calidad del pan (Bicalho *et al.*, 2019). La porosidad o alvéolos del pan hacen referencia a las cavidades en la miga del pan, proveniente de las burbujas del CO₂ que se acumulan durante el proceso de fermentación realizado por las levaduras (Grenier *et al.*, 2021). El alvéolado en un pan dependerá de algunos parámetros como el tiempo de fermentación, el cereal usado, la cantidad de levadura, la hidratación de la masa y del amasado (Cortez *et al.*, 2018; Yarza, 2019). Así mismo, la adición de componentes alternativos en la preparación de masas puede influir en el alvéolado y la morfometría de los panes obtenidos durante el horneado (Schira, 2020). Dada la constante innovación de productos de panificación se requiere de técnicas rápidas, no invasivas y baratas para

la evaluación de la calidad de la miga de panes, donde el análisis por imagen se ha utilizado como un método objetivo y de alta confianza (Scheuer *et al.*, 2015; González Viejo *et al.*, 2022). Este método se ha utilizado para cuantificar la porosidad, por medio de diferentes técnicas digitales, además el análisis de imagen puede proporcionar información cuantitativa del sistema de poros (alvéolos), como el tamaño y su forma. (Jackman y Sun 2013). Por lo anterior, el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de la sustitución porcentual de harina de semillas de papaya (HSPa) en los parámetros de calidad panadera de color y la estructura alveolar en la miga de pan, mediante el uso del software de uso libre ImageJ, a partir de un análisis de partículas como una herramienta digital en el desarrollo de productos de panificación.

2. Materiales y métodos

2.1 Obtención de la harina de semillas de papaya (*Carica papaya*)

Las semillas se obtuvieron del fruto de *Carica papaya*, se lavaron a chorro de agua para eliminar los restos de mucílago y pulpa. Se colocaron en charolas metálicas con papel de estraza y cubiertas con manta de cielo para ser secadas al sol, una vez secas se guardaron en bolsas plásticas herméticas Ziploc™. La harina de semilla de papaya se obtuvo a partir de 2,5 kg de semilla en base seca. Las semillas se molieron en un molino pulverizador monofásico ME - 700Y (Semillas de vida, Cuernavaca, Morelos, México). El material molido obtenido se tamizó a través de un tamiz Tyler No. 32 con un diámetro de poro de 0.425 mm (Tyler, Monterrey, NL, México). Para reducir el tamaño de partícula, la harina se molió dos veces más y se tamizó con un tamiz de malla Tyler No. 60 con un diámetro de apertura de poro de 0.246 mm (Tyler, Monterrey, NL, México). La harina obtenida se almacenó en bolsas plásticas ziploc™ herméticas.

2.2 Formulación del pan

Para elaborar los panes se utilizó harina de trigo (HT) comercial Osasuna de los molinos Elizondo (10.38% humedad, 0.27% cenizas, 12.27% proteína, 1.07% extracto etéreo, 0.061% fibra cruda, 75.93% carbohidratos) como pan control. Sustituida por harina de semillas de papaya (6.59% humedad, 9.18% cenizas, 21.61% proteína, 22.22% extracto etéreo, 24.46% fibra cruda, 15.92% carbohidratos) en porcentajes del 5% – 30%. La formulación fue la siguiente: 160 g harina, 103 mL agua tibia, 3 g de levadura (Tradipan), 1.3 g sal (La Fina), 2 g azúcar (estándar), 5 g de mantequilla (sin sal La Gloria) y 2 g de leche en polvo (Nido). Todos los ingredientes se incorporaron manualmente hasta obtener una masa homogénea, se hicieron porciones de 23 g colocándolas en un molde para hornear cupcake (Wilton 2105-6819 antiadherente 26.2 x 41.5 cm) previamente engrasado, la charola se cubrió con plástico autoadherible colocándola en fermentador (Infrico, F848) a 30°C por 40min, 70% HR, se hornearon con vapor (Hornos América, H3mil) a 180°C hasta su cocción.

2.3 Toma de fotografías

Para los tratamientos Pan 5% - Pan30% incluyendo el control se obtuvieron 3 imágenes de cada vista del pan (superior, lateral e inferior) y tres imágenes de la miga, las fotografías se obtuvieron con una medida estandarizada de 1280 x 720 píxeles en formato jpg. a una distancia de 20 cm entre la lente y la superficie donde se colocaron las muestras, siguiendo conceptos de estandarización de las imágenes (Gómez de Mariscal *et al.*, 2019), Las fotografías fueron capturadas con ayuda de una cámara amzoom® acoplada a un microscopio estereoscópico a 2X (EcolineMatic SZ 745). Para establecer la escala de referencia píxel-milímetro se utilizó la imagen de un agitador magnético de tamaño conocido, calculado mediante la barra de medición provista por el software del microscopio (Ponce-Nogues, 2020).

2.4 Análisis morfométrico

El análisis morfométrico de los panes y de los alvéolos en la miga del pan se realizaron mediante el procesamiento de fotografías en formato jpg. por identificación automatizada de los contornos de las partículas y análisis de partículas mediante el uso del software de uso libre ImageJ del National Institutes of Health, USA en su versión 1.5e. (Cuervas-Mons *et al.*, 2019). Los parámetros seleccionados para su cuantificación fueron área, perímetro, circularidad, Feret, aspecto de radio, redondez y solidez de las partículas. El procesamiento de las imágenes se describe en la figura 1. Para las muestras de pan se analizaron por triplicado los contornos de partícula correspondientes a las vistas superior, lateral e inferior (Figura 2a, 2b y 2c) mientras que en la miga se analizaron n partículas correspondientes al número de poros detectados por el análisis de partículas.

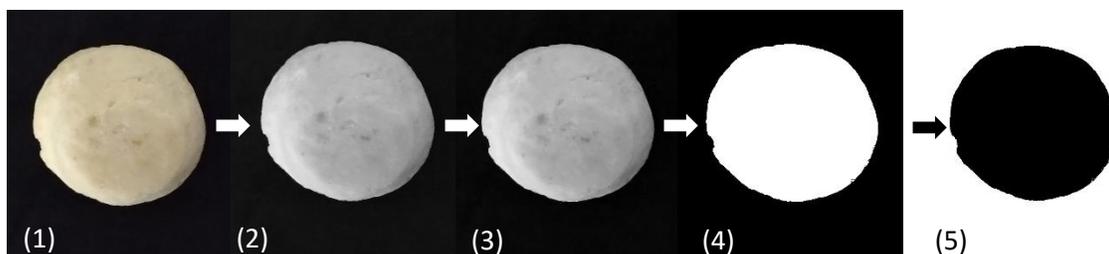


Figura 1. Procesamiento de imágenes. 1) Establecimiento de la escala de imágenes, 2) Conversión de imagen a 8 bits, 3) Ajuste de brillo y contraste, 4) Identificación de contorno, 5) Análisis de partículas usando el programa Image J.

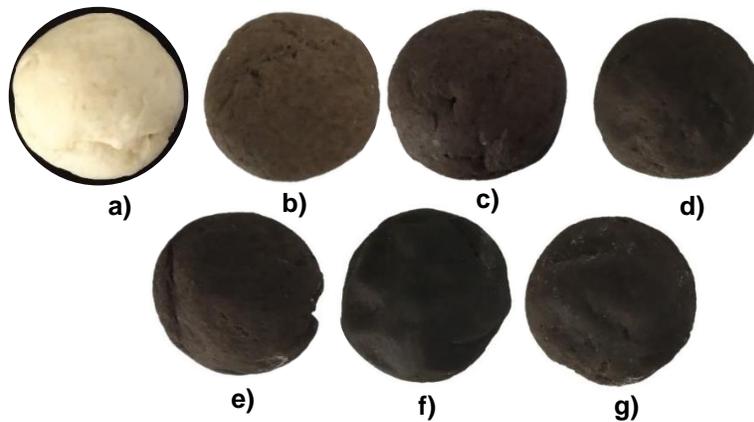


Figura 2a. Vista superior del pan. a) Pan control= 100% HT, b) Pan 5% HSPa + 95% HT, c) Pan 10% HSPa + 90% HT, d) Pan 15% HSPa + 85% HT, e) Pan 20% HSPa + 80% HT, f) Pan 25% HSPa + 75% HT, g) Pan 30% HSPa + 70% HT

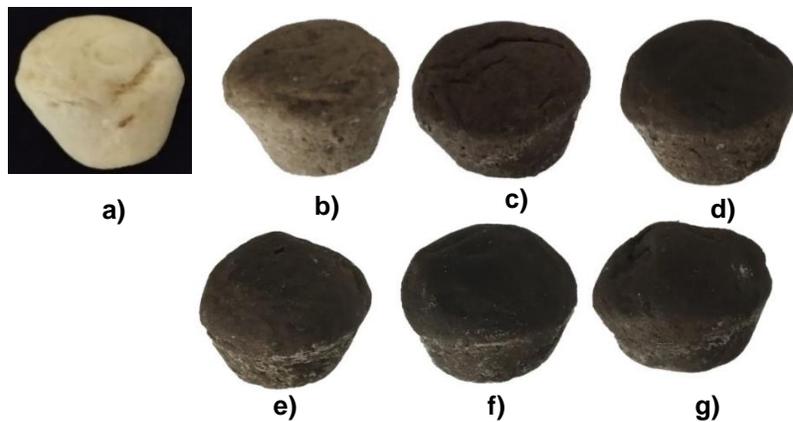


Figura 2b. Vista lateral del pan. a) Pan control= 100% HT, b) Pan 5% HSPa + 95% HT, c) Pan 10% HSPa + 90% HT, d) Pan 15% HSPa + 85% HT, e) Pan 20% HSPa + 80% HT, f) Pan 25% HSPa + 75% HT, g) Pan 30% HSPa + 70% HT.

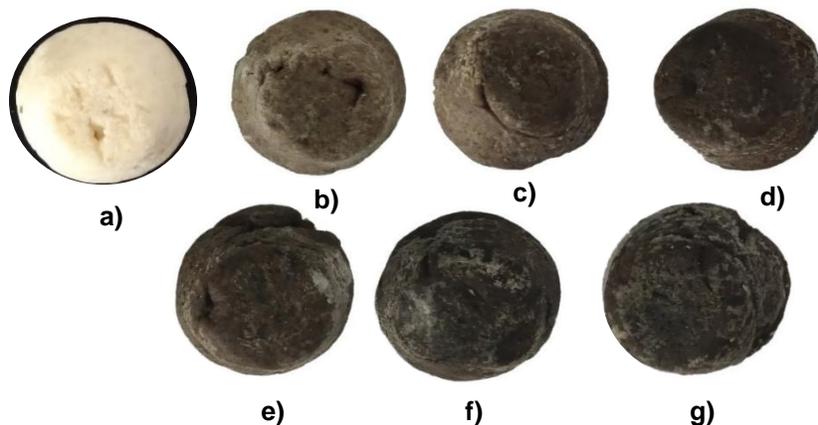


Figura 2c. Vista inferior del pan. a) Pan control= 100% HT, b) Pan 5% HSPa + 95% HT, c) Pan 10% HSPa + 90% HT, d) Pan 15% HSPa + 85% HT, e) Pan 20% HSPa + 80% HT, f) Pan 25% HSPa + 75% HT, g) Pan 30% HSPa + 70% HT.

2.5 Análisis de color

Se analizaron imágenes en formato jpg. de acuerdo a lo descrito por Hartig (2013), las imágenes se seleccionaron sin el procesamiento de escalamiento, para cada imagen de pan y cada imagen de la miga se seleccionaron 5 áreas mediante el software ImageJ con una medida de 10, 000 píxeles para el análisis, se seleccionó analizar y posteriormente analizar por histograma, esta herramienta permitió visualizar la distribución de frecuencias, de los píxeles correspondientes a los colores del sistema RGB (Rojos, Verdes y Azules) y el balance de estos colores, mediante la media de píxeles. Los datos se expresan como la media de píxeles correspondiente a cada valor obtenido de 15 repeticiones por cada tratamiento.

2.6 Determinación de dimensiones y volumen total del pan

A las piezas de pan se les midió la longitud y el diámetro después del proceso de enfriado con un vernier (Foy/Urrea, Guadalajara, Jal, México). La relación entre ambas mediciones se obtuvo dividiendo ancho entre alto y para el volumen total, se utilizó la ecuación 1.

Ecuación 1.

$$V = \pi Dh$$

Donde:

V= volumen total

D= diámetro cm

h= altura cm

2.7 Análisis estadístico

El diseño experimental correspondió a un arreglo completamente al azar, los resultados se obtuvieron con una n=3 y n para panes y alvéolos para el análisis morfométrico, mientras que para evaluación de color se obtuvo una n=15 para ambos tipos de muestra, el análisis estadístico se realizó por análisis de varianza (ANOVA) $Y_{ij} = \mu + \tau_i + \gamma_j + \epsilon_{ij}$, con una comparación de medias Tukey (datos de distribución normal) y Scheffé (datos de distribución F) para las variables con efecto de tratamiento significativo ($P < 0.05$). La correlación entre el tamaño de los panes y el agregado porcentual de harina de semilla de papaya se calculó mediante un modelo de regresión lineal (ecuación 2) y el índice de correlación de Pearson (ecuación 3) con valores de entre -1 a 1 donde, valores cercanos a -1 indican una correlación negativa. Se realizó

una normalización de datos de puntuación tipificada en la variable de perímetro de los poros utilizando la ecuación 4.

Ecuación 2.

$$y = ax + b$$

Ecuación 3.

$$\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \sqrt{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}}$$

Ecuación 4.

$$[X - \mu]/\sigma$$

3. Resultados y discusión

3.1 Descripción morfométrica del pan

El análisis morfométrico evidenció una correlación negativa entre el agregado porcentual de harina de semillas de papaya (HSPa) y el tamaño de los panes (Tabla 1), los valores de R^2 fueron entre 0.8634 (vista superior) y 0.8801 para la vista lateral, indicando una mayor dependencia del tamaño lateral del pan respecto al agregado de harina, anteriormente se ha reportado que los valores de volumen, peso y volumen específico puede disminuir ante la sustitución parcial de la harina de trigo (Bouaziz *et al.*, 2010; Hruskova *et al.*, 2012), panes adicionados con harina de dátiles, registraron menores tamaños (5.01 ± 0.01) respecto al control (8.26 ± 0.00) ante una sustitución del 3%, mientras que pan de caja registró una disminución de volumen de 6.25 hasta $2.04 \text{ cm}^3/\text{g}$ ante el 25% de adición de harina de semilla de calabaza (Bouaziz *et al.*, 2010), del mismo modo los valores de índice de Pearson indican una correlación de tipo negativa donde a mayor agregación porcentual de harina de semilla de papaya, se observa una disminución del tamaño del pan en las tres vistas evaluadas, con valores de -0.929 a -0.938, confirmando un mayor efecto en la disminución del tamaño en la vista lateral del pan. Coelho y Salas-Mellado (2015), elaboraron pan con harina de semillas de chía mencionan que la disminución en el tamaño del pan, se dio porque las semillas de chía no tienen gluten y, además, las interacciones entre las proteínas (gliadinas y gluteninas) de la harina de trigo y las fibras de chía pueden impedir la expansión del pan durante el proceso de fermentación, como lo ocurrido en esta investigación al utilizar harina de semillas de papaya, ya que probablemente exista una interacción entre las fibras (Mesquita *et al.*, 2023) de las semillas de papaya que pudieran limitar la expansión del pan durante el proceso de fermentación. No obstante, la reducción de volumen específico puede compensarse con la obtención de texturas más firmes en los panes obtenidos (De Lamo y Gómez, 2018).

Tabla 1. Los valores de correlación son calculados entre las medidas morfométricas del área y la sustitución observada de los valores de la harina de trigo por harina de semillas de papaya.

Análisis de la vista del pan	superior	lado	base
Índice de correlación de la regresión lineal (R²)	0.8634	0.8801	0.8713
Índice de Pearson	-0.929	-0.938	-0.933

Los parámetros que complementan el análisis morfométrico del pan se encuentran descritos en la tabla 2, las variables de circularidad (entre 0.84 ± 0.00 y 0.88 ± 0.01), aspecto de radio (entre 1.03 ± 0.01 y 1.10 ± 0.01) y redondez (entre 0.90 ± 0.02 y 0.97 ± 0.01), evidenciaron que los panes presentan bajos valores para los parámetros que definen una forma esférica, aun cuando los datos corresponden a la vista superior e inferior, además, se observó que la adición porcentual de harina de semillas de papaya (HSPa), no afecta estas características en la obtención del pan, ya que los valores no presentaron significancia estadística para estos valores entre los tratamientos. No obstante, la obtención de estas variables puede ayudar a caracterizar procesos de flujo y transporte en la innovación en la panadería, en búsqueda de la estandarización de productos (Baravalle *et al.*, 2015). Por otro lado, los valores de perímetro mantuvieron una tendencia a la disminución conforme aumentó el agregado porcentual de harina de semilla de papaya ($p < 0.05$), donde el tratamiento control mostró los mayores valores con 223.78 ± 5.35 , 223.62 ± 2.82 y 216.77 ± 9.72 mm para las vistas superior, lateral e inferior respectivamente. El índice de Feret, mostró un comportamiento similar con valores de 69.23 ± 2.88 , 70.72 ± 1.04 y 67.43 ± 3.61 para las vistas superior, lateral e inferior del control, respectivamente. En un estudio anterior (Gül y Şen (2017), realizaron panes adicionados con 10% de semilla de granada, los cuales mostraron disminución de longitud (129.5 mm) y altura (50.7 mm), respecto al pan control (131.7 y 68.5 respectivamente). Finalmente, el índice de solidez fue de 0.99 sin diferencias entre tratamientos, evidenciando un análisis de partículas homogéneas (Cuervas-Mons *et al.*, 2019).

Tabla 2. Morfometría de los panes con sustitución parcial de harina de trigo por harina de semillas de papay(HSPa), datos expresados en mm.

Vista	Tratamiento	Perímetro	Circularidad	Feret	Aspecto del radio	Redondez	Solidez
Superior	Control	223.78±5.35 ^a	0.8533±0.01 ^a	69.23±2.88 ^a	1.08±0.05 ^a	0.9233±0.05 ^a	0.9900±0.00 ^a
	Pan 5%	214.00±2.35 ^b	0.8766±0.00 ^a	66.58±0.55 ^a	1.04±0.01 ^a	0.9600±0.01 ^a	0.9900±0.00 ^a
	Pan10%	220.65±2.52 ^{ab}	0.8800±0.01 ^a	68.03±0.70 ^a	1.05±0.01 ^a	0.9533±0.00 ^a	0.9900±0.00 ^a
	Pan15%	202.32±0.32 ^c	0.8800±0.01 ^a	62.24±0.17 ^b	1.04±0.00 ^a	0.9566±0.00 ^a	0.9900±0.00 ^a
	Pan20%	194.26±4.17 ^{cd}	0.8766±0.00 ^a	59.87±1.62 ^{bc}	1.04±0.01 ^a	0.9600±0.01 ^a	0.9900±0.00 ^a
	Pan25%	193.21±1.84 ^{cd}	0.8800±0.01 ^a	59.84±1.28 ^{bc}	1.05±0.02 ^a	0.9533±0.02 ^a	0.9900±0.00 ^a
	Pan30%	187.62±4.16 ^d	0.8766±0.00 ^a	57.74±1.71 ^c	1.03±0.02 ^a	0.9666±0.01 ^a	0.9900±0.00 ^a
Lateral	Control	223.62±2.82 ^a	0.8433±0.00 ^a	70.72±1.04 ^a	1.11±0.02 ^a	0.9000±0.02 ^a	0.9866±0.00 ^a
	Pan 5%	208.05±4.02 ^{bc}	0.8467±0.02 ^a	64.90±0.28 ^{bc}	1.06±0.04 ^a	0.9433±0.03 ^a	0.9866±0.00 ^a
	Pan10%	216.20±5.54 ^{ab}	0.8500±0.02 ^a	67.37±1.31 ^b	1.05±0.03 ^a	0.9467±0.03 ^a	0.9866±0.00 ^a
	Pan15%	198.96±0.46 ^{cd}	0.8666±0.00 ^a	61.82±0.56 ^{cd}	1.05±0.02 ^a	0.9500±0.01 ^a	0.9900±0.00 ^a
	Pan20%	183.14±0.12 ^{de}	0.8767±0.02 ^a	59.85±0.44 ^d	1.08±0.05 ^a	0.9267±0.04 ^a	0.9900±0.00 ^a
	Pan25%	188.97±2.54 ^e	0.8733±0.00 ^a	58.82±1.29 ^d	1.04±0.01 ^a	0.9700±0.01 ^a	0.9900±0.00 ^a
	Pan30%	184.42±4.40 ^e	0.8533±0.01 ^a	58.77±1.96 ^d	1.10±0.01 ^a	0.9066±0.01 ^a	0.9900±0.00 ^a
Base	Control	216.77±9.72 ^a	0.8733±0.02 ^a	67.43±3.61 ^a	1.06±0.04 ^a	0.9433±0.03 ^a	0.9900±0.00 ^a
	Pan 5%	205.18±3.87 ^{ab}	0.8600±0.03 ^a	62.55±0.43 ^{bc}	1.03±0.01 ^a	0.9700±0.01 ^a	0.9866±0.00 ^a
	Pan10%	207.70±2.29 ^a	0.8833±0.01 ^a	64.38±0.43 ^{ab}	1.04±0.01 ^a	0.9533±0.01 ^a	0.9900±0.00 ^a
	Pan15%	193.56±0.75 ^{bc}	0.8800±0.00 ^a	59.32±0.17 ^{cd}	1.03±0.01 ^a	0.9700±0.01 ^a	0.9900±0.00 ^a
	Pan20%	192.42±4.00 ^{bc}	0.8766±0.01 ^a	59.65±0.75 ^{cd}	1.03±0.02 ^a	0.9667±0.02 ^a	0.9900±0.00 ^a
	Pan25%	189.81±5.64 ^c	0.8733±0.01 ^a	58.63±1.48 ^{cd}	1.06±0.01 ^a	0.9400±0.01 ^a	0.9900±0.00 ^a
	Pan30%	187.15±4.04 ^c	0.8633±0.02 ^a	57.47±1.06 ^d	1.05±0.01 ^a	0.9533±0.00 ^a	0.9900±0.00 ^a

Control= 100 % HT. Pan 5% HSPa + 95% HT. Pan 10% HSPa + 90% HT. Pan 15% HSPa + 85% HT. Pan 20% HSPa + 80% HT. Pan 25% HSPa + 75 % HT. Pan 30% HSPa + 70% HT. Los datos muestran las medias de tres repeticiones ± desviación estándar, diferentes superíndices por columna indican diferencias estadísticamente significativas (p < 0,05) entre tratamientos. El análisis estadístico se realizó comparando los parámetros de cada vista entre tratamientos. Los parámetros de circularidad, Feret, redondez y solidez se expresan como índices calculados por análisis de partícula

3.2 Descripción de color en pan

El color de los alimentos es un atributo decisivo en la aceptación del producto por parte del consumidor (Du y Sun 2004; Siswantoro, 2019). En el pan, el color es otorgado a partir de la concentración de subproductos de la reacción de Maillard en la corteza, de este modo grupos amino y carbonilo se concentran en la corteza del pan cuando la humedad en el pan se reduce por debajo del 10% durante el horneado (Içöz *et al.*, 2004; Hosen *et al.*, 2021). Los parámetros de color se evaluaron para cada vista del pan (Figura 2a, 2b y 2c), en general se observó una tendencia a colores rojos en el pan con valores máximos en el tratamiento control de 214.83 ± 23.32 píxel, y un valor mínimo para el tratamiento Pan 25% con 40.27 ± 9.58 píxel, la menor tendencia de color correspondió al valor de azules donde el tratamiento control presentó el mayor valor con 167.09 ± 26.87 píxel, mientras que todos los tratamientos con agregado porcentual de harina de semilla de papaya fueron estadísticamente inferiores ($p < 0.05$) con valores entre 32.32 ± 7.42 píxel (Pan 10%) y 44.10 ± 11.00 píxel (Pan 5%). La percepción general de los panes adicionados con HSPa fue la obtención de panes más oscuros, esta tendencia se ha reportado desde el uso de trigo integral, para sustituir harina de trigo (Gómez *et al.*, 2020), hasta la adición de trigo germinado (Al-Hooti *et al.*, 2002) y otros aditivos naturales como las antocianinas presentes en el trigo de variedad azul (Francavilla y Joye, 2022), estos cambios se atribuyen a la disminución de luminosidad y aumento en los valores de a (verdes a rojos) y de b (azules a amarillos). En general el tratamiento Pan 5% presentó valores estadísticos que lo posicionan como el más parecido al control, mientras que el resto de los panes adicionados con harina de semilla de papaya fueron estadísticamente inferiores con tendencia al desarrollo de un pan café oscuro, donde el color oscuro de la semilla puede inducir este color en el pan (Sugiharto, 2020).

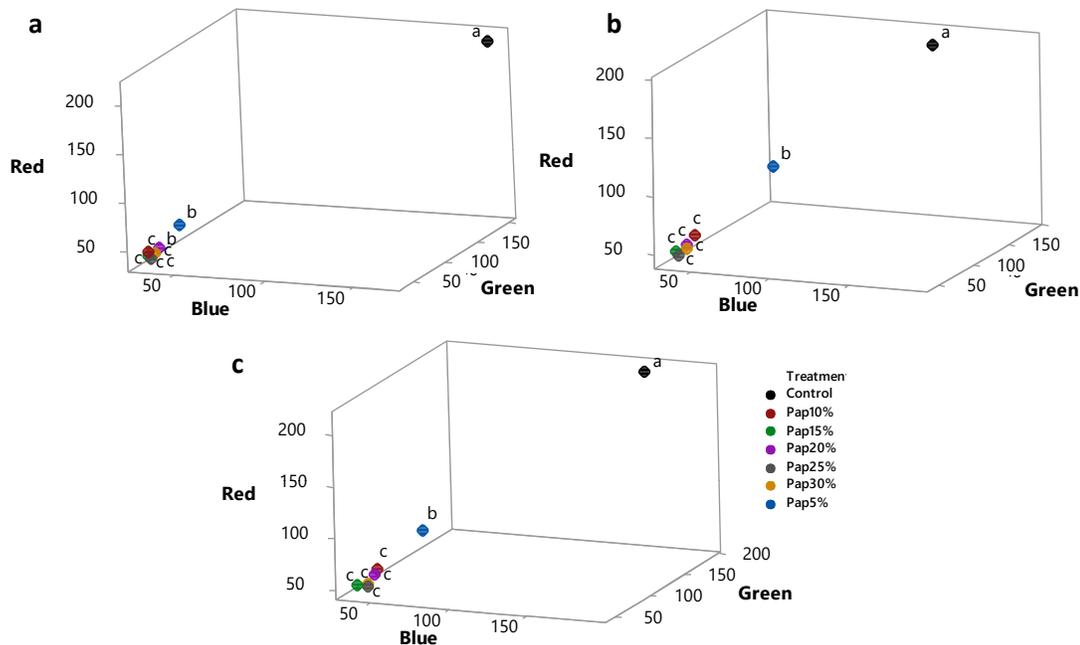


Figura 3. Parámetros de color para los panes, observados en a) vista superior, en b) vista lateral y en c) vista inferior, los puntos expresan la media de 3 repeticiones, donde diferentes superíndices expresan diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$). Control= 100 % HT. Pan 5% HSPa + 95% HT. Pan 10% HSPa + 90% HT. Pan 15% HSPa + 85% HT. Pan 20% HSPa + 80% HT. Pan 25% HSPa + 75 % HT. Pan 30% HSPa + 70% HT.

3.3 Descripción morfométrica de la miga de pan

La formación de alvéolos en el pan, es dependiente de la interacción que existe entre componentes como las proteínas del trigo (gluten), el almidón presente (su capacidad de absorción de agua) y la humedad (formación de lamela de agua en la masa) en la formación de las masas para horneado (Grenier *et al.*, 2021). En este estudio los alvéolos en el pan fueron evaluados para conocer su distribución de tamaño de partículas (tabla 3) a partir de las imágenes obtenidas y procesadas para la detección de alvéolos por análisis de partículas (figura 4), la tendencia al comparar los tratamientos con el pan control fue la disminución del tamaño de poro conforme se adicione mayor porcentaje de harina de semilla de papaya (HSPa), el tratamiento Pan 20% presentó el menor tamaño alveolar en el estudio ($0.0475 \pm 0.08 \text{ mm}^2$) y donde nuevamente el tratamiento control mostró los alvéolos de mayor tamaño ($0.0968 \pm 0.16 \text{ mm}^2$), los resultados obtenidos son inferiores a los reportados por Dessev *et al.*, que evaluaron alvéolos a diferentes condiciones de horneado y lograron reportar alvéolos en un intervalo de tamaño de entre 0.7 y 0.9 mm (Dessev *et al.*, 2020). Así mismo, en la tabla 4 se puede observar el número de partículas (1001) y la media alveolar (333.66 ± 218.04) del tratamiento Pan 30%, evidenció valores cercanos a los presentes en el control (1197 y 399.00 ± 66.09), estos resultados son similares a los reportados por

Bicalho *et al.*, (2019) que reportaron un máximo de 339 alvéolos en panes adicionados con mucilago de taro. En todos los casos la evaluación de los alvéolos en el pan cobra relevancia porque sus características pueden estar ligadas a la textura obtenida en el pan, donde a menor tamaño alveolar, mayor resistencia de los panes para su manejo y transporte (Al-Hooti *et al.*, 2002; Bertrand *et al.*, 2020; Dessev *et al.*, 2020).

Tabla 3. Análisis granulométrico – alveolar de pan con diferente adición de harina de semilla de papaya (HSPa).

Tratamiento	Tamaño de alveolo (mm ²)
Control	0.0968 ± 0.16 ^a
Pan 5%	0.0710 ± 0.12 ^b
Pan 10%	0.0687 ± 0.13 ^b
Pan 15%	0.0619 ± 0.11 ^{bc}
Pan 20%	0.0475 ± 0.08 ^c
Pan 25%	0.0506 ± 0.10 ^c
Pan 30%	0.0527 ± 0.10 ^c

Los datos expresan la media ± la desviación estándar de n partículas analizadas, diferentes superíndices indican diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$). Control= 100 % HT. Pan 5% HSPa + 95% HT. Pan 10% HSPa + 90% HT. Pan 15% HSPa + 85% HT. Pan 20% HSPa + 80% HT. Pan 25% HSPa + 75 % HT. Pan 30% HSPa + 70% HT.

En complemento, se obtuvieron los parámetros de perímetro de las partículas donde el tratamiento Pan 10% mostró los alvéolos de mayor valor con 2.43 ± 10.04 , cuando se adicionó HSPa, así mismo la circularidad (0.6935 ± 0.25) y redondez (0.6236 ± 0.19) del tratamiento control mostró el desarrollo de alvéolos con morfometría ovalada, situación que coincide con un mayor valor en el aspecto de radio (1.80 ± 0.70), por lo que al adicionar HSPa los alvéolos presentaron mayor tendencia a la redondez, hasta 0.7650 ± 0.24 en el pan 20%, resultados similares a los reportados por Scheuer *et al.*, en 2015, donde reportaron valores de 0.807 ± 0.007 ante la sustitución de grasa en la panificación (Scheuer *et al.*, 2015). Finalmente la solidez de las partículas indican a mayores valores una mayor proporción de alvéolos, donde el tratamiento Pan 20% con 0.8259 ± 0.12 mostró una mayor proporción de poros inmersas en el pan, mientras que Pan 25% presentó la menor proporción alveolar en su estructura analizado con una solidez de 0.7986 ± 0.14 , valores superiores a los reportados para pan de trigo sin tratamiento, que ha reportado una media de 70.2% de porosidad, lo que indica que los panes de este estudio, tiende a desarrollar un tamaño inferior a otros reportes (Dessev *et al.*, 2020). Sin embargo, la proporción del alveolado es alta. Los resultados del presente estudio pueden además ser dependientes de los ingredientes de la masa y de sus condiciones de procesamiento (Wang *et al.*, 2011; Nazrul *et al.*, 2013; Korczyk y Lacko, 2013), la actividad de la levadura, la temperatura de fermentación y la formación de burbujas de gas (Shehzad *et al.*, 2010; Bajd y Serša, 2011). Así como de

la calidad y cantidad de la proteína presente en la harina de trigo (Pourfarzad *et al.*, 2012; Abd-El-Khalek y Youssif, 2018).

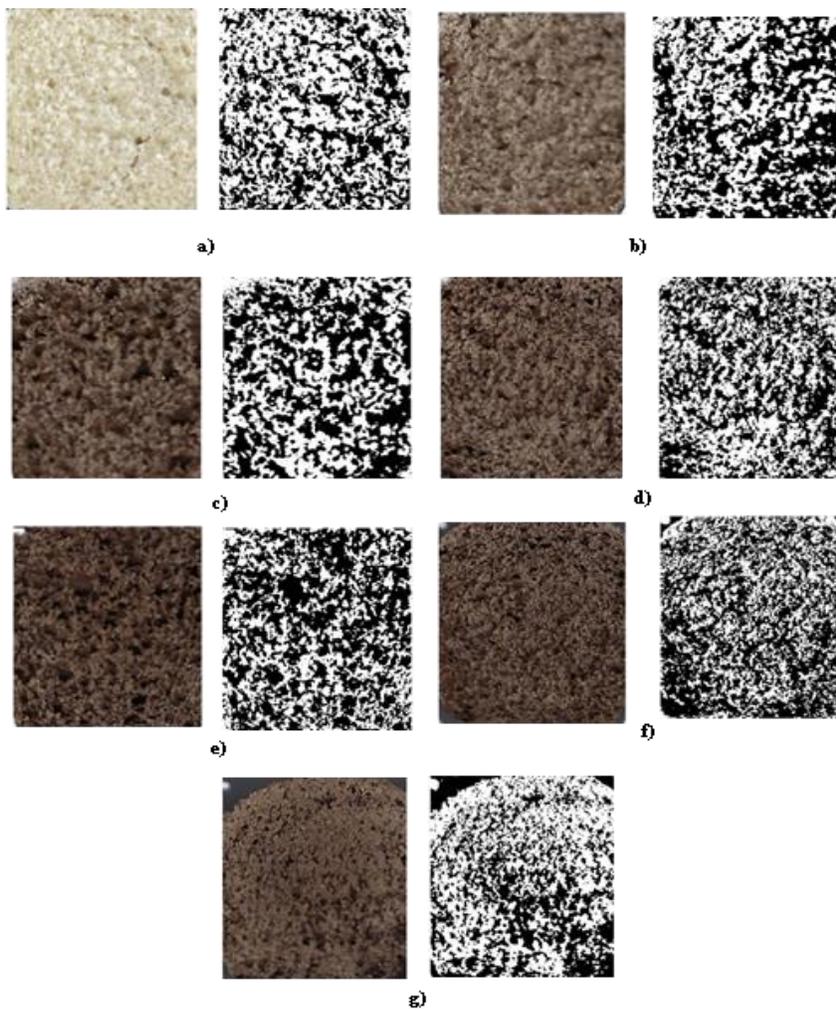


Figura 4. Imágenes obtenidas de pan y su imagen correspondiente de identificación de contornos para composición alveolar por análisis de partículas utilizando el programa Image J. a) Pan control= 100% HT, b) Pan 5% HSPa + 95% HT, c) Pan 10% HSPa + 90% HT, d) Pan 15% HSPa + 85% HT, e) Pan 20% HSPa + 80% HT, f) Pan 25% HSPa + 75% HT, g) Pan 30% HSPa + 70% HT.

Tabla 4. Morfometría de la miga de pan elaborado con harina de trigo y sustitución parcial de harina de semillas de papaya, los datos se expresan en mm.

Tratamiento	Partículas analizadas	Media alveolar	Perímetro	Circularidad	Feret	Aspecto del radio	Redondes	Solidez
Control	1158	399.00±66.09 ^a	1.09±1.36 ^a	0.6935±0.25 ^c	0.6067±0.98 ^a	1.80±0.70 ^a	0.6236±0.19 ^a	0.8044±0.12 ^c d
Pan 5%	466	155.33±23.71 ^a	0.33±0.77 ^b	0.7346±0.25 ^{ab}	0.4729±0.77 ^{bc}	1.77±0.74 ^a	0.6377±0.20 ^a	0.8189±0.12 ^a b
Pan10%	542	180.66±49.50 ^a	0.35±0.75 ^b	0.7318±0.25 ^b	0.5491±1.13 ^{ab}	1.76±0.68 ^a	0.6367±0.19 ^a	0.8191±0.12 ^a b
Pan15%	496	165.33±104.50 ^a	0.33±0.75 ^b	0.7367±0.24 ^{ab}	0.3840±0.48 ^{cd} e	1.77±0.67 ^a	0.6316±0.20 ^a	0.8161±0.12 ^a bc
Pan20%	486	162.00±77.48 ^a	0.27±0.65 ^{bc}	0.7650±0.24 ^a	0.3274±0.35 ^e	1.76±0.63 ^a	0.6347±0.20 ^a	0.8259±0.12 ^a
Pan25%	633	211.00±158.07 ^a	0.31±0.72 ^c	0.7274±0.27 ^b	0.4284±0.69 ^{cd}	1.77±0.65 ^a	0.6343±0.20 ^a	0.7986±0.14 ^d
Pan30%	1001	333.66±218.04 ^a	0.46±0.84 ^c	0.7377±0.26 ^{ab}	0.3718±0.56 ^{de}	1.75±0.64 ^a	0.6377±0.20 ^a	0.8063±0.13 ^b cd

Los datos muestran las medias de n repeticiones ± desviación estándar, diferentes superíndices por columna indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos. Los parámetros de circularidad, Feret, redondez y solidez se expresan como índices calculados por análisis de partículas. Pan Control= 100 % HT. Pan 5% HSPa + 95% HT. Pan 10% HSPa + 90% HT. Pan 15% HSPa + 85% HT. Pan 20% HSPa + 80% HT. Pan 25% HSPa + 75 % HT. Pan 30% HSPa + 70% HT.

3.4 Descripción de color en la miga de pan

El color en la miga mostró una tendencia similar al presente en el pan evaluado, donde el control presentó valores de 205.89 ± 5.21 , 196.99 ± 6.15 y 170.06 ± 7.72 para rojos, verdes y azules respectivamente, mientras que los tratamientos adicionados con harina de semillas de papaya mostraron valores estadísticamente inferiores ($p < 0.05$) tanto para rojos (75.69 ± 3.22 a 118.25 ± 9.919) como para verdes (57.01 ± 2.83 a 99.62 ± 10.93) y azules (47.77 ± 2.54 a 85.81 ± 10.44), estos valores son inferiores a los reportados por González Viejo *et al.*, (2022), donde panes elaborado con Harina de trigo Emmer arrojaron valores de 143.33, 113.33 y 80.50 para RGB, lo que indica el desarrollo de panes más oscuros, así como lo reportado por Pečivová *et al.*, (2014), que adicionaron harina de semilla de uva, ante la adición obtuvieron de forma cualitativa el pan más oscuro ante la adición del 10% de harina alternativa. Por otro lado, el tratamiento Pan 5% fue el que mantuvo parámetros de color más cercanos al control, aunque fue estadísticamente inferior ($p < 0.05$), mientras que el tratamiento Pan 20% evidenció la mayor tendencia a coloración oscura y menor balance RGB aun cuando no presentó la mayor adición de harina de semillas de papaya (figura 6). El color oscuro característico en el pan puede estar asociado a la presencia de pigmentos como β -cryptoxantina, α -caroteno, β -caroteno y licopeno, presentes en las semillas de papaya, donde además se ha observado que aumentan conforme el fruto madura (Ovando-Martinez *et al.*, 2018).

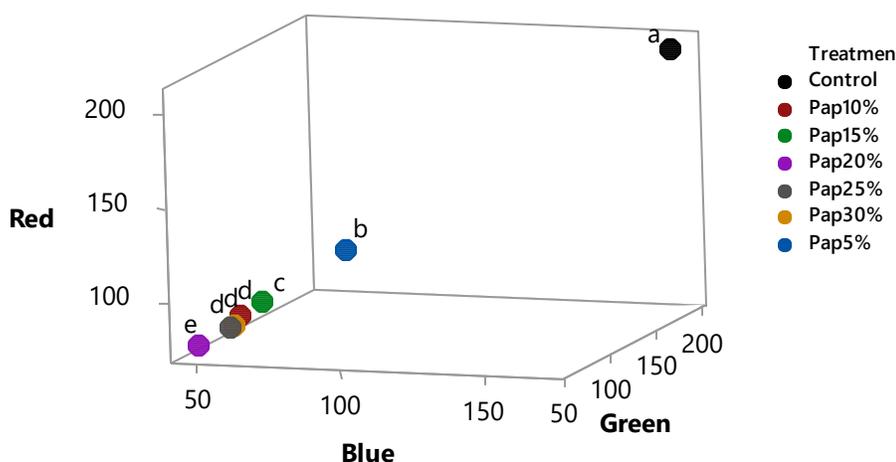


Figura 5. Parámetros de color (n=15) en miga de pan adicionado con harina de semillas de papaya, diferentes letras indican diferencia significativa en balance de RGB ($p < 0.05$). Pan Control= 100 % HT. Pan 5% HSPa + 95% HT. Pan 10% HSPa + 90% HT. Pan 15% HSPa + 85% HT. Pan 20% HSPa + 80% HT. Pan 25% HSPa + 75 % HT. Pan 30% HSPa + 70% HT.

Los resultados obtenidos en esta investigación indican que el uso de técnicas de visión computarizada (artificial) para medir el color de los alimentos, es viable en productos de panificación (Papadakis *et al.*, 2000; Mendoza y Aguilera, 2004; Pedreschi *et al.*, 2004). Así mismo, estas técnicas computacionales que se desarrollan en combinación con una cámara digital y un software de procesamiento de imágenes se han utilizado para proporcionar un método menos costoso y más versátil para medir el color de los alimentos (Yam y Papadakis, 2004).

3.5 Análisis de dimensiones y volumen total de pan

En los valores obtenidos como se observa en la tabla 4, de los tratamientos con sustitución de harina de semillas de papaya, el pan de 5% es el de mayor diámetro (4.54 cm), longitud (4.26 cm) y volumen total (60.76 cm³), en contraste la formulación de pan elaborado con 30% de harina de semillas de papaya ($p < 0.05$) presentó el menor diámetro (3.92 cm), menor longitud (3.43 cm) y el menor volumen total de (42.60 cm³). No obstante el pan control presentó los mayores valores con un diámetro de 4.72 cm, longitud de 4.45 cm y volumen total de 65.91 cm³, de este modo a medida que aumentó la cantidad de harina de semillas de papaya en la formulación, el diámetro, longitud y volumen total disminuyeron, esto puede deberse a la inclusión porcentual y gradual de fibra en el pan (HSPa = 24.46% de fibra cruda), tal como reportan Sun *et al.*, (2023), quienes realizaron una comparación entre masa hecha con harina de trigo refinada y masa de harina de trigo integral (WWFD), encontraron que la WWFD tiende a una capacidad de retención de gas más baja y menor estabilidad de las celdas de gas (poros), resultando en productos de panadería con menor volumen y una distribución más heterogénea de las celdas de gas.

Tabla 5. Dimensión y volumen total del pan elaborado con harina de trigo y sustitución parcial de harina de semillas de papaya (*Carica papaya*).

Tratamiento	Parámetro			
	Diámetro (cm)	Longitud (cm)	Relación ancho/largo	Volumen total (cm ³)
Control	4.72 ± 0.18 ^a	4.45 ± 0.24 ^a	1.065 ± 0.1 ^b	65.91 ± 2.09 ^a
Pan 5%	4.54 ± 0.13 ^a	4.26 ± 0.12 ^{ab}	1.067 ± 0.04 ^{ab}	60.76 ± 2.72 ^b
Pan10%	4.34 ± 0.06 ^b	4.01 ± .045 ^{bc}	1.082 ± 0.00 ^{ab}	54.78 ± 1.38 ^c
Pan15%	4.17 ± 0.11 ^{bc}	3.86 ± 0.14 ^{cd}	1.082 ± 0.04 ^{ab}	50.56 ± 2.69 ^d
Pan20%	4.13 ± 0.08 ^c	3.72 ± 0.11 ^{de}	1.110 ± 0.05 ^{ab}	48.26 ± 1.34 ^d
Pan25%	4.04 ± 0.11 ^{cd}	3.50 ± 0.19 ^{ef}	1.158 ± 0.07 ^a	44.45 ± 2.74 ^e
Pan30%	3.92 ± 0.10 ^d	3.43 ± 0.08 ^f	1.134 ± 0.03 ^{ab}	42.60 ± 1.72 ^e

Datos mostrados con media de n= 7 repeticiones con \pm desviación estándar, diferentes letras indican diferencia significativa en volumen total ($p < 0.05$). Pan Control= 100 % HT. Pan 5% HSPa + 95% HT. Pan 10% HSPa + 90% HT. Pan 15% HSPa + 85% HT. Pan 20% HSPa + 80% HT. Pan 25% HSPa + 75 % HT. Pan 30% HSPa + 70% HT.

4. Conclusiones

Los datos obtenidos indicaron que el color, la porosidad de la miga y el volumen total, mostraron dependencia con el porcentaje de sustitución de harina de trigo por harina de semillas de papaya (HSPa). Además, no se encontró una modificación sustancial de las características morfométricas de los panes. Del mismo modo, el uso de herramientas digitales para el análisis de imagen como medio de cuantificación de color y composición alveolar del pan, puede ampliar la perspectiva como método viable de evaluación ya que permite determinar la relación entre parámetros físicos y de calidad panadera para diferentes tipos de pan. Finalmente, se puede sugerir el uso de HSPa como un ingrediente no convencional, para la elaboración de productos de panificación, su uso permite la obtención de panes, que no alteran sus características morfométricas, con una coloración café oscura y con la presencia de alvéolos de menor tamaño, pero de mayor presencia porcentual en la composición del pan.

5. Referencias bibliográficas

Abd-El-Khalek, M. H., Youssif, M. R. G. (2018). Correlation between dough rheological properties and pan bread crumb quality characteristics. Egyptian Journal of Agricultural Sciences. Volume 69, Issue 4, Page 353-369 Doi: 10.21608/ejarc.2018.211699

- Al-Hooti, S. N., Sidhu, J. S., Al-Saqer, J. M., Al-Othman, A. (2002). Effect of raw wheat germ addition on the physical texture and objective color of a designer food (pan bread). *Nahrung - Food*, 46(2), 68–72. [https://doi.org/10.1002/1521-3803\(20020301\)46:2<68:AID-FOOD68>3.0.CO;2-W](https://doi.org/10.1002/1521-3803(20020301)46:2<68:AID-FOOD68>3.0.CO;2-W)
- Bajd, F., Serša, I. (2011). Continuous monitoring of dough fermentation and bread baking by magnetic resonance microscopy. *Magnetic Resonance Imaging*, vol. 29, no. 3, pp. 434–442, 2011. ISSN 0730-725X Doi: 10.1016/j.mri.2010.10.010
- Baravalle, R. G., Delrieux, C. A., Gómez, J. C. (2015). Multifractal characterisation and classification of bread crumb digital images. *Eurasip Journal on Image and Video Processing*, 2015(1). <https://doi.org/10.1186/s13640-015-0063-8>
- Bertrand, D., Guerneve, C., Marion, D., Devaux, F., Robert, P. (2020). Description of the textural appearance of bread crumb by video image analysis. *Cereal Chemistry*., 21(1), 1–9. <http://journal.um-surabaya.ac.id/index.php/JKM/article/view/2203>
- Bicalho, C. C., Madeira, R. A. V., Pereira, J., Scalon, J. D. (2019). Alveolar distribution in French rolls made using taro mucilage. *Brazilian Journal of Food Technology*, 22, 1–10. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.00618>
- Bouaziz, M. A., Amara, W. Ben, Attia, H., Blecker, C., Besbes, S. (2010). Effect of the addition of defatted date seeds on wheat dough performance and bread quality. *Journal of Texture Studies*, 41(4), 511–531. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4603.2010.00239.x>
- Coelho, M. S., Salas-Mellado, M. (2015). Effects of substituting chia (*Salvia hispanica* L.) flour or seeds for wheat flour on the quality of the bread. *LWT Food Science and Technology*, 60(2), 729–736. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.10.033>
- Conte, P., Fadda, C., Drabińska, N., Krupa-Kozak, U. (2019). Technological and nutritional challenges, and novelty in gluten free breadmaking: a review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 69(1), 5–21. Doi: 10.31883/pjfn-2019-0005
- Cortés, T., Sampietro, M., Hernández, D. (2018). *El gran libro del pan integral*. RBA Libros. p. 314. ISBN 978-84-9118-161-3. OCLC 1246724239. Consultado el 20 de noviembre de 2022.
- Cuervas-Mons, J., Rodríguez-Rey, Á., Ordóñez-Casado, B., Berrezueta, E. (2019). Quantitative analysis of 2D mineral particle shape parameters using digital techniques. *Computers and Geosciences*, 77(1), 97–110. Doi: 10.16j.cageo.2015.01.00
- Du, C-J., Su, D-W. (2004). Recent developments in the applications of image processing techniques for food quality evaluation. *Trends in Food Science & Technology*, Volume 15, Issue 5, Pages 230-249, ISSN 0924-2244, <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2003.10.006>.
- De Lamo, B., Gómez, M. (2018). Bread enrichment with oilseeds. A review. *Foods*, 7(11). <https://doi.org/10.3390/foods7110191>
- Dessev, T., Lalanne, V., Keramat, J., Jury, V., Prost, C., Le-Bail, A. (2020). Influence of Baking Conditions on Bread Characteristics and Acrylamide Concentration. *Journal*

of Food Science and Nutrition Research, 03(04), 291–310. <https://doi.org/10.26502/jfsnr.2642-11000056>

Foschia, M., S.W. Horstmann, E. K. Arendt., E. Zannini. (2017). Legumes as functional ingredients in gluten-free bakery and pasta products. *Annual Review of Food Science and Technology*. 8:75-96. Doi: 10.1146/annurev-food-030216-030045.

Francavilla, A., Joye, I. J. (2022). Anthocyanin Content of Crackers and Bread Made with Purple and Blue Wheat Varieties. *Molecules*, 27(21). <https://doi.org/10.3390/molecules27217180>

Giuberti, G., A. Gallo. (2018). Reducing the glycemic index and increasing the slowly digestible starch content in gluten-free cereal-based foods: a review. *International Journal of Food Science and Technology* 53: 50-60. Doi:10.1111/ijfs.1355

Gómez, M., Gutkoski, L. C., Bravo-Núñez, Á. (2020). Understanding whole-wheat flour and its effect in breads: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(6), 3241–3265. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12625>

Gómez-de-Mariscal, E., García-López-de-Haro, C., Ouyang, W., Donati, L., Lundberg, E., Unser, M., Muñoz-Barrutia, A., Sage, D. (2019). DeepImageJ: A user-friendly environment to run deep learning models in ImageJ. *Natural Methods*. 2021 Oct;18(10):1192-1195. Doi: 10.1038/s41592-021-01262-9.

Gonzalez Viejo, C., Harris, N. M., Fuentes, S. (2022). Quality Traits of Sourdough Bread Obtained by Novel Digital Technologies and Machine Learning Modelling. *Fermentation*, 8(10). <https://doi.org/10.3390/fermentation8100516>

Grenier, D., Rondeau-Mouro, C., Dedey, K. B., Morel, M. H., Lucas, T. (2021). Gas cell opening in bread dough during baking. *Trends in Food Science and Technology*, 109(January), 482–498. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.01.032>

Gül, H., Şen, H. (2017). Effects of pomegranate seed flour on dough rheology and bread quality. *CYTA - Journal of Food*, 15(4), 622–628. <https://doi.org/10.1080/19476337.2017.1327461>

Hartig, S. M. (2013). Basic image analysis and manipulation in imageJ. *Current Protocols in Molecular Biology*, SUPPL.102, 1–12. <https://doi.org/10.1002/0471142727.mb1415s102>

Hosen, A., Al-Mamun, A., Robin, A., Sara, U., Sultana, R. (2021). Maillard Reaction: Food Processing Aspects. 4. 44-52. Doi: 10.5281/zenodo.5516169.

Hruskova, M., Svec, I., Hofmanova, T., & Dvorakova, J. (2012). Image analysis – comparison of recipe composition effect. *Procedia Engineering*, 42, 955-963. <http://dx.doi.org/10.1016/j.proeng.2012.07.489>.

İçöz, D., Sumnu, G., Sahin, S. (2004). Color and texture development during microwave and conventional baking of breads. *International Journal of Food Properties*, 7(2), 201–213. <https://doi.org/10.1081/JFP-120025396>

Jackman, P., Sun, D. (2013). Recent advances in image processing using image texture features for food quality assessment. *Trends in Food Science & Technology*, 29(1), 35-43. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2012.08.008>.

Korczyk, S.J., Lacko, B.M. (2013). Crumb texture of spelt bread. *Journal of Central European Agriculture*. 14. 1326-1335. Doi: 10.5513/JCEA01/14.4.1352.

Mendoza, F., & Aguilera, J. M. (2004). Application of image analysis for classification of ripening bananas. *Journal of Food Science*, 69, 471–477 Doi: 10.1111/j.1365-2621.2004.tb09932.x

Mesquita, M. da S., De Freitas Santos, P. D., Holkem, A. T., Thomazini, M., Da Costa Rodrigues, C. E., Fernandes, A. M., Favaro-Trindade, C. S. (2023). Papaya seeds (*Carica papaya* L. var. Formosa) in different ripening stages: unexplored agro-industrial residues as potential sources of proteins, fibers, and oil as well as high antioxidant capacity. *Food Science and Technology (Brazil)*, 43. <https://doi.org/10.1590/fst.105422>

Nasrul, F., Chin, N., Yus, A.Y. y Norashikin, A.A. (2013). Measurement of bread crumb texture via imaging of its characteristics. *Journal of Food, Agriculture and Environment (JFAE)*, vol. 11, no. 2, pp. 48–55, ref.45. ISSN: 1459-0255. ID: 110481060

Ovando-Martinez, M., López-Teros V., M., Tortoledo-Ortiz, O., Astiazarán-García, H., Ayala-Zavala, J. F., Villegas-Ochoa, M. A., González-Aguilar, G. A. (2018). Effect of ripening on physico-chemical properties and bioactive compounds in papaya pulp, skin and seeds. *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 9(1), 47–59. <https://www.scopus.com/inward/record.uri?partnerID=HzOxMe3b&scp=85049524048&origin=inward>

Papadakis, S., Abdul, M. S., Kandem., R.E., Yam, K. (2000). A Versatile and Inexpensive Technique for Measuring Color of Foods. *Food Technology*. 54. 48-51.

Pečivová, P. B., Kráčmar, S., Kubáň, V., Mlček, J., Jurikova, T., Sochor, J. (2014). Effect of addition of grape seed flour on chemical, textural and sensory properties of bread dough. *Mitteilungen Klosterneuburg*, 64(3), 114–119.

Pedreschi, F., Mery, D., Mendoza, F. Aguilera, J.M. 2004. Classification of potato chips using pattern recognition. *Journal of Food Science*. 69, 264–270. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.tb10996.x>

Ponce-Nogues, J. (2020). Encapsulación de extractos vegetales con actividad antihelmíntica para su aplicación en animales de consumo humano. In *DOCTOR EN CIENCIAS EN ALIMENTOS (Vol. 21, Issue 1)*. Universidad Politécnica Nacional.

Pourfarzad A., Mohebbi M. and MazahaeriTehrani M. (2012). Interrelationship between image, dough and barabari bread characteristics; use of image analysis to predict rheology, quality and shelf life. *International Journal of Food Science and Technology*., 47: 1354-1360. Doi:10.1111/j.1365-2621.2012.2980.x

Sacón-Vera, E. F., I. I. Bernal-Bailón, A. A. Dueñas-Rivadeneira, G. A. Cobeña-Ruíz, y N. López Bello. (2016). Reología de mezclas de harinas de camote y trigo para

elaborar pan. Tecnología Química 36(3): 384-394. ISSN 2224-6185. <http://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/4829>. ISSN: 0041-8420.

Scheuer, P. M., Ferreira, J. A. S., Mattioni, B., de Miranda, M. Z., de Francisco, A. (2015). Optimization of image analysis techniques for quality assessment of whole-wheat breads made with fat replacer. Food Science and Technology (Brazil), 35(1), 133–142. <https://doi.org/10.1590/1678-457X.6560>

Schira, Roberta (2020). The new Omnivores: The joy of eating everything. RBA Libros. p. 91. ISBN 9788491876359. Consultado el 21 de noviembre de 2022.

Shehzad, A., Chiron, H., Della Valle, G., Kansou, K., Ndiaye, A., and Réguerre, A. L. (2010). Porosity and stability of bread dough during proofing determined by video image analysis for different compositions and mixing conditions. Food Research International, vol. 43, no. 8, pp. 1999–2005, ISSN 0963-9969, Doi: 10.1016/j.foodres.2010.05.019.

Siswantoro, Joko. (2019). Application of Color and Size Measurement in Food Products Inspection. Indonesian Journal of Information Systems. 1. 90. Doi: 10.24002/ijis.v1i2.1923.

Sugiharto, S. (2020). Papaya (*Carica papaya* L.) seed as a potent functional feedstuff for poultry - A review. Veterinary World, 13(8), 1613–1619. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2020.1613-1619>

Sun, X., Wu, S., Li, W., Koksel, F., Du, Y., Sun, L., Fang, Y., Hu, Q., Pei, F. (2023). The effects of cooperative fermentation by yeast and lactic acid bacteria on the dough rheology, retention and stabilization of gas cells in a whole wheat flour dough system – A review. Food Hydrocolloids, Volume 135, 108212, ISSN 0268-005X, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.108212>.

Yam, K. L., Papadakis, S. (2004). A simple digital imaging method for measuring and analyzing color of food surfaces. Journal of Food Engineering, 61, 137–142. ISSN 0260-8774, [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(03\)00195-X](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(03)00195-X).

Yarza, Ibán (2019). 100 recetas de pan de pueblo: ideas y trucos para hacer en casa panes de toda España (1ª edición). Editorial Grijalbo. p. 260. ISBN 84-17338-64-0. OCLC 1128195689. Consultado el 13 de septiembre de 2021.

Wang, S., Austin, P. and Bell, S. (2011). It's a maze: The pore structure of breadcrumbs. Journal of Cereal Science, vol. 54, no. 2, pp. 203–210. ISSN 0733-5210, DOI: 10.1016/j.jcs.2011.05.004.

CAPÍTULO

VII



Harina de semillas de papaya (*Carica papaya*) y su uso potencial como fuente natural de biocompuestos en la elaboración de pan de caja

Resumen

Las semillas de papaya son una gran fuente de nutrientes dietarios y fitoquímicos, que se desperdician cuando la fruta de *Carica papaya* se consume en fresco o cuando es procesada. El presente estudio evaluó la capacidad antioxidante, el contenido de compuestos fenólicos y de β -carotenos en harina de semillas de papaya, harina de trigo y en pan elaborado con sustitución parcial de harina de trigo refinada (HT) con 5% y 15% de harina de semillas de papaya (HSPa). Para ABTS en harinas se encontraron valores de 36.47 ± 0.36 mgTEAC/100 g para la harina de semillas de papaya (HSPa) con un porcentaje de inhibición de 66.63% el valor más bajo lo obtuvo la harina de trigo refinada (HT) 16.30 ± 0.12 mgTEAC/100 g con 34.93% de inhibición. La capacidad antioxidante de pan el tratamiento con 15% de HSPa fue de 19.37 ± 0.21 , 18.66 ± 0.03 , 17.43 ± 0.19 , 16.03 ± 0.20 mgTEAC/100 g (39.77 %, 38.64%, 36.72%, 34.52% de inhibición). Para el método FRAP la HSPa obtuvo 161.57 ± 3.57 μ MTE/100 g y la HT 28.48 ± 1.09 μ MTE/100 g. En el caso del Pan3 con 15% de HSPa durante el tiempo de almacenamiento, los valores obtenidos fueron 58.87 ± 2.14 , 54.46 ± 1.06 , 51.58 ± 0.57 , 47.69 ± 0.42 μ MTE/100 g. En cuanto al contenido de fenoles totales la HSPa tuvo una cantidad de 21.04 ± 0.01 mgGAE/100 g mientras que la HT 0.302 ± 0.004 mgGAE/100 g, durante el tiempo de almacenamiento el pan adicionado con 15% de HSPa obtuvo los siguientes valores 8.51 ± 0.01 , 7.50 ± 0.04 , 6.62 ± 0.01 , 5.29 ± 0.06 mgGAE/100 g Los β -carotenos se cuantificaron en harinas, masas y pan. La harina refinada de trigo obtuvo los siguientes valores 3.76 ± 0.44 mg/Kg para la fracción isocrómica amarilla (Cy), sin embargo, no se detectó fracción isocrómica roja (Cr), para la HSPa los resultados obtenidos fueron Cy= 44.15 ± 0.66 mg/100 g y Cr= 26.95 ± 0.28 mg/100 g, también se analizaron las masas antes y después de la fermentación, y el pan durante el almacenamiento. Los resultados mostraron que la actividad antioxidante, el contenido de fenoles totales y de β -carotenos mejoraron significativamente ($p < 0.05$) al adicionar harina de semillas de papaya en pan elaborado con trigo refinado.

Palabras clave: harina de semillas de papaya (*Carica papaya*), pan, ABTS, FRAP, fenoles totales, β -carotenos, compuestos bioactivos

Abstract

Papaya seeds are a great source of dietary nutrients and phytochemicals, which are wasted when the *Carica papaya* fruit is eaten fresh or processed. The present study

evaluated the antioxidant capacity, the content of phenolic compounds and β -carotenes in papaya seed flour, wheat flour and in bread made with partial substitution of refined wheat flour (HT) with 5% and 15% of papaya seed meal (HSPa). For ABTS in flours, values of 36.47 ± 0.36 mgTEAC/100 g were found for papaya seed flour (HSPa) with an inhibition percentage of 66.63%, the lowest value was obtained by refined wheat flour (HT) 16.30 ± 0.12 mgTEAC/100 g with 34.93% inhibition. The antioxidant capacity of bread treatment with 15% HSPa was 19.37 ± 0.21 , 18.66 ± 0.03 , 17.43 ± 0.19 , 16.03 ± 0.20 mgTEAC/100 g (39.77%, 38.64%, 36.72%, 34.52% inhibition). For the FRAP method, the HSPa obtained 161.57 ± 3.57 μ MTE/100 g and the HT 28.48 ± 1.09 μ MTE/100 g. Regarding the content of total phenols, the HSPa had an amount of 21.04 ± 0.01 mgGAE/100 g while the HT= 0.302 ± 0.004 mgGAE/100 g, during the storage time the bread added with 15% of HSPa obtained the following values 8.51 ± 0.01 , 7.50 ± 0.04 , 6.62 ± 0.01 , 5.29 ± 0.06 mgGAE/100 g. β -carotenes were quantified in flour, dough and bread. The refined wheat flour obtained the following values 3.76 ± 0.44 mg/100 g for the yellow isochromic fraction (Cy), however, the red isochromic fraction (Cr) was not detected, for the HSPa the results obtained were Cy= 44.15 ± 0.66 mg/100 g and Cr= 26.95 ± 0.28 mg/100 g, the doughs before and after fermentation were also analyzed, The results showed that the antioxidant activity, the total phenol and β -carotene content improved significantly ($p < 0.05$) when adding papaya seed flour to bread made with refined wheat flour.

Keywords: papaya (*Carica papaya*) seed flour, bread, ABTS, FRAP, total phenols, β -carotenes, bioactive compounds.

1. Introducción

Las plantas son uno de los dos reinos principales de las formas de vida. Son las únicas que pueden producir su propio alimento utilizando la energía solar (fotosíntesis). Las plantas fabrican mucha más comida de la que pueden fácilmente utilizar y almacenar como reserva en hojas, tallos, raíces, frutos o semillas. Es este suministro de reservas el que utilizan los seres humanos y los animales, como fuente natural de alimentos. Sin plantas, la vida no se sustentaría en la tierra. Las personas dependen de las plantas para satisfacer sus necesidades básicas como alimento, vestido, vivienda y medicinas. Hasta la fecha, estas necesidades humanas básicas han ido creciendo rápidamente debido a una población mundial creciente. Las plantas constituyen la mayor proporción en nuestra dieta, en muchos países la dieta básica proviene del arroz o el trigo. Los seres humanos obtienen el 85% de sus calorías de 20 especies de plantas y, curiosamente, el 60% de eso proviene de trigo, arroz y maíz (Bennet, 2010). Los alimentos esenciales producidos por las plantas son hidratos de carbono, grasas y proteínas, siendo cada uno valioso a su manera para el metabolismo humano y animal, contienen también minerales, ácidos orgánicos, vitaminas y enzimas que son necesarias para la salud en general (Fernando, 2012). Los compuestos fenólicos son

una clase de metabolitos secundarios de las plantas, ampliamente distribuidos en varios órganos superiores de las plantas, como vegetales, frutas, especias, granos, legumbres y nueces, jugando papeles importantes en diversos procesos fisiológicos de la planta como la calidad, coloración, sabor y resistencia al estrés (Durazzo *et al.*, 2019). Estos fitoquímicos son fenilpropanoides con efectos potenciales que promueven la salud (Tufarelli *et al.*, 2017), se clasifican en flavonoides que están generalmente presentes en los alimentos y son antocianinas, flavonoles, flavan-3-oles, flavonas, isoflavonas, flavanonas y estilbenos, la mayoría de los flavonoides que se encuentran en los alimentos están conjugados con azúcares, ácidos o alcoholes. Los no flavonoides incluyen ácidos fenólicos, en particular, ácidos hidroxibenzoicos (ácidos vanílico y gálico) y ácidos cinámicos (ácidos ferúlico y cafeico) (Cutrim y Cortez, 2018). Todas estas moléculas han demostrado tener actividades biológicas (Teng y Chen, 2019). La ingesta de alimentos ricos en compuestos fenólicos está relacionada con varios

beneficios para la salud, debido a sus propiedades antiinflamatorias, antidiabéticas, antivirales y propiedades anticancerígenas, por su capacidad antioxidante y captadora de radicales libres (Liu *et al.*, 2019; Martín-García *et al.*, 2021).

La papaya (*Carica papaya*) es una fruta principalmente cultivada en zonas tropicales y subtropicales debido a su pulpa sabrosa y jugosa, en los últimos años, ha habido un incremento en el consumo de esta fruta por el alto valor medicinal y nutritivo que posee (Subenthiran *et al.*, 2013; Alara *et al.*, 2022). El procesamiento de la fruta de papaya, así como su consumo en fresco, genera grandes cantidades de desechos, incluidas semillas y cáscaras. Se ha informado que los productos de desecho de la industria de procesamiento de frutas tienen una amplia diversidad de aplicaciones debido a su alto contenido nutricional y valor funcional. Existen diversos estudios en donde se reportan compuestos nutricionales (Marfo *et al.*, 1986; Yogiraj *et al.*, 2015; Yadav *et al.*, 2017) y fenólicos con alta actividad antioxidante (Gadzama *et al.*, 2016; Salla *et al.*, 2016) en las semillas de papaya, se encuentran compuestos fenólicos, como isotiocianato de bencilo, glucosinolatos, tocoferoles (α y δ), β -criptoxantina, β -caroteno y carotenoides, el aceite extraído de la semilla presenta principalmente ácido graso oleico seguido de palmítico, linoleico y esteárico (Neethu y Sreeja, 2017; Santana *et al.*, 2019), no son tóxicas y pueden utilizarse como suplemento, por ejemplo, se procesan y muelen para sustituir la pimienta negra (Ávila *et al.*, 2020). Incluso aunque las semillas de papaya son desagradables debido a su sabor picante y astringente, tiene una actividad potente en comparación con la pulpa (Aravind *et al.*, 2013).

El objetivo de este estudio fue investigar la bioactividad de la harina de semillas de papaya (HSPa) sustituyendo en 5% y 15% a la harina de trigo en la elaboración de pan, durante la vida útil del producto final.

2. Materiales y métodos

2.1 Formulación de panes

Se usó harina de trigo refinada (HT) comercial Osasuna® de los molinos Elizondo, que fue reemplazada con harina de semillas de papaya (HSPa) de acuerdo con los resultados obtenidos en los análisis anteriores, se seleccionaron tres tratamientos: Pan1= 5% HSPa + 95% HT; Pan3= 15% HSPa + 85% HT; y el tratamiento control= 100% HT. Se utilizaron los ingredientes mostrados en la tabla 1, para la formulación básica del pan.

Tabla 1. Formulación de pan enriquecido con harina de semillas de papaya.

Ingrediente	Tratamiento		
	Control (0%)	Pan1 (5%)	Pan3 (15%)
Harina refinada de trigo	250 g	237.5 g	212.5 g
Harina de semillas de papaya	-----	12.5 g	37.5 g
Agua tibia 22°C	160 mL	160 mL	160 mL
Levadura (Tradipan)	4.5 g	4.5 g	4.5 g
Sal (La Fina)	1.0 g	1.0 g	1.0 g
Azúcar (estándar)	4.0 g	4.0 g	4.0 g
Mantequilla (La Gloria, sin sal)	25.0 g	25.0 g	25.0 g
Leche en polvo (Nido, Néstle)	5.0 g	5.0 g	5.0 g

2.2 Elaboración de los panes

Para elaborar los panes se siguió la figura 1 de proceso. Todos los ingredientes se incorporaron manualmente hasta obtener una masa homogénea, se hicieron porciones de 23 g colocándolas en un molde para hornear cupcake (Wilton 2105-6819 antiadherente 26.2 x 41.5 cm) previamente engrasado con mantequilla, la charola se cubrió con plástico autoadherible colocándola en un fermentador Infrico, F848 a 30°C por 40min a 70% HR, se hornearon con vapor (Hornos América, H3mil) a 180°C por 30 min hasta su cocción, se dejaron enfriar y se empacaron en bolsas de celofán selladas para su análisis posterior.



Figura 1. Proceso de elaboración de pan de caja con harina de trigo y sustitución parcial de harina de semillas de papaya. Elaboración propia

2.3 Caracterización fitoquímica

Para realizar la extracción y caracterización se utilizaron las harinas de trigo, de semillas de papaya y las harinas utilizadas para la elaboración de cada tratamiento, así como los panes, para los tratamientos con HSPa se tomó 0.1 g de muestra con 9.9 mL de agua y para los tratamientos con HT se empleó 1 g disueltos en 9 mL de agua, que se disolvieron lo mejor posible con ayuda del vórtex para después centrifugarlas a 5000 rpm 10 min a temperatura ambiente (26°C). Los panes fueron analizados por triplicado a 4 tiempos diferentes durante su vida útil.

2.3.1 Capacidad Antioxidante

La capacidad antioxidante se define como el potencial de una sustancia o compuesto para inhibir o dificultar la oxidación de un sustrato hasta en cantidades muy pequeñas. Su medición es útil para valorar la calidad de un alimento, la cantidad de antioxidantes en un sistema, o la biodisponibilidad de compuestos antioxidantes en el cuerpo humano (López-Alarcón y Denicolab, 2013).

2.3.1.1 Prueba ABTS

ABTS puede ser oxidado por persulfato de potasio o dióxido de manganeso. El radical ABTS (ABTS•+) que se absorbe a 732 nm (dando un color verde azulado) se formó al

perder un electrón por el átomo de nitrógeno de ABTS. En presencia de Trolox (o de otro antioxidante donador de hidrógeno), el átomo de nitrógeno extingue el átomo de hidrógeno, provocando la decoloración de la solución, (Marc et al., 2004).

1. Preparación de la solución madre 1

Se pesaron 96.02 mg de ABTS se disolvió en buffer de ácido acético con pH 4.5 y luego se aforo a 25 mL. La concentración de la solución ABTS fue de 7 mmol/mL y se mantuvo en oscuridad y en refrigeración (0-4°C).

2. Preparación de la solución madre 2

Se tomaron 66.24 mg de persulfato de potasio ($K_2S_2O_8$) para disolverlos en solución tampón de ácido acético con pH 4.5 y luego se aforo a 100 mL. La concentración de $K_2S_2O_8$ fue de 2.45 mmol/mL se almaceno en oscuridad y en refrigeración (0-4°C).

3. Preparación de la solución de trabajo ABTS

Se mezclaron 5 mL de la solución madre 1 y 5 mL de la solución madre 2 y se mantuvieron a temperatura ambiente durante 12 a 16 horas en la oscuridad para preparar la solución de reacción ABTS. La solución de reacción de ABTS de 2.80 mL se diluyó a 65 mL en tampón de acetato con pH 4.5 para obtener la solución de trabajo de ABTS y se mantuvo a temperatura ambiente durante 30 min en la oscuridad. La absorbancia a 732 nm fue de 0.74 ± 0.03 .

4. Curva de calibración con Trolox

Se preparó una solución patrón de Trolox de concentración 400 μ M/mL. Se realizaron las siguientes diluciones:

Tabla 2. Curva de calibración con Trolox para capacidad antioxidante por método ABTS.

Tubo (forrado con aluminio)	Concentración Trolox μ M	Sol. patrón Trolox (μ L)	Etanol absoluto (μ L)	Sol. De trabajo ABTS (μ L)	Volumen final (μ L)
1 - Blanco	0	0	50	1450	1500
2	10	1.3	48.7	1450	1500
3	50	6.2	43.8	1450	1500
4	100	12.5	37.5	1450	1500
5	150	18.7	31.3	1450	1500
6	200	25	25	1450	1500
7	250	31.3	18.7	1450	1500
8	300	37.5	12.5	1450	1500

9	320	40	10	1450	1500
10	360	45	5	1450	1500
11	380	47.5	2.5	1450	1500
12	400	50	0	1450	1500

El porcentaje de inhibición se calculó con la siguiente fórmula:

Ecuación 1.

$$\% \text{ Inhibición} = 1 - \left[\frac{\text{absorbancia final}}{\text{absorbancia del radical ABTS}} \right] * 100$$

Los tubos fueron agitados en un vórtex e incubados a temperatura ambiente en oscuridad por 30 minutos. El espectrofotómetro se calibró con etanol puro a 732 nm. Las absorbancias obtenidas de las lecturas de los tubos de la curva patrón fueron ajustadas en una regresión simple lineal.

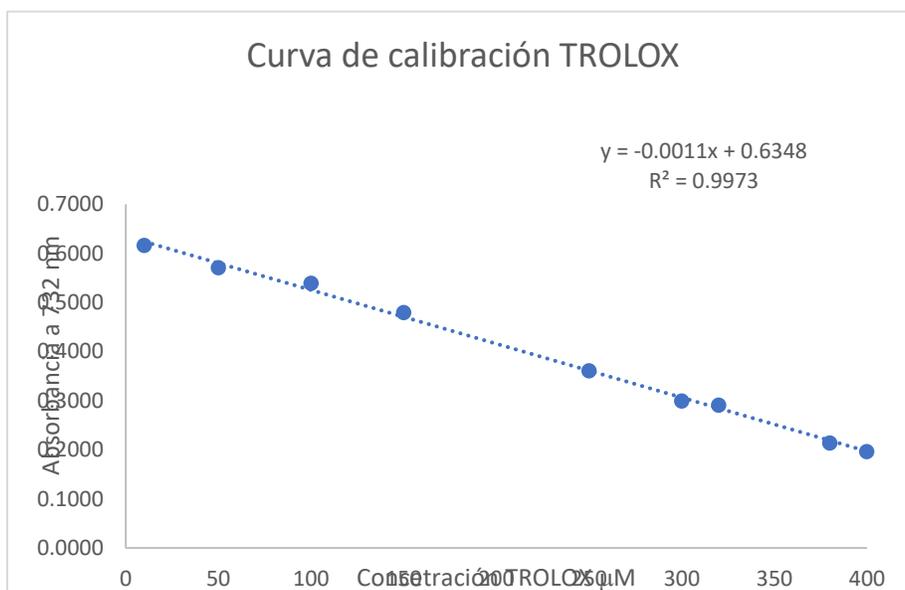


Figura 2. Curva de calibración Trolox para método ABTS.

5. Procedimiento de ensayo ABTS

En tubos de ensayo cubiertos con aluminio, se colocaron 50 μL de extracto de cada tratamiento (0.1 g de muestra con 9.9 mL de agua destilada, agitación en vórtex y centrifugada a 10,000 rpm 4°C, 10 minutos) y 1450 μL de solución de trabajo ABTS se llevaron a vórtex, incubándose 30 min a temperatura ambiente (25°C) en completa oscuridad. Los tubos se leyeron en espectrofotómetro con una longitud de onda (λ) de 732nm.

6. Cálculo del valor ABTS

El resultado se expresó como $\mu\text{mol TEAC/g}$ peso seco según la fórmula:

Ecuación 2.

$$ABTS \text{ valor } \left(\frac{\mu\text{mol TEAC}}{g} \text{ de peso seco} \right) = \left(\frac{c * V * t}{m} \right)$$

Donde:

c = concentración de Trolox ($\mu\text{mol/mL}$) de la correspondiente curva estándar de la muestra diluida

V = volumen de muestra (mL)

t = factor de dilución

m = peso de materia seca de la muestra (g)

(Bunea *et al.*, 2013).

2.3.1.2 Prueba FRAP (Benzie y Strain 1996)

El ensayo FRAP se basa en la reducción de Fe^{3+} -TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazina) para producir Fe^{2+} -TPTZ por los antioxidantes. La unión de Fe^{2+} al ligando crea un color azul marino muy intenso. La absorbancia a 593 nm se puede medir para probar la cantidad de hierro reducido y se puede correlacionar con la cantidad de antioxidante (Li *et al.*, 2017; Pellegrini *et al.*, 2003).

1. Preparación de buffer de acetato de sodio 0.3 M (pH 3.6)

Se pesaron 4.921 g de acetato de sodio anhidro se agregaron en un vaso de precipitados con 160 mL de agua destilada se midió el pH con un potenciómetro (Hanna), para bajar el pH se utiliza HCl concentrado (5 mL aproximadamente), cuando este próximo el pH ideal se utiliza el HCl 40 mM, se afora en un matraz de 200 mL con agua destilada.

2. Preparación de la solución TPTZ

Se pesaron 0.0312 g de TPTZ en una balanza analítica, se disolvieron en 10 mL de HCl 40 mM, se llevaron a aforo. Esta solución se debe de guardar en frasco ámbar y en refrigeración.

3. Preparación de la solución de FeCl₃

Se disolvieron 0.162 g de FeCl₃ · 6H₂O aforándose en 50 mL de agua destilada. La concentración de la solución de FeCl₃ fue de 20 mmol/L. Esta solución debe de almacenarse en frasco ámbar o en su caso en recipiente con tapa cubierto con aluminio y en refrigeración.

4. Preparación de la solución de HCl 40mM

Medir 330 µL de HCl concentrado y aforar a 100 mL con agua destilada.

5. Preparación de la solución de trabajo FRAP

Esta solución se prepara antes de ser utilizada con el buffer de acetato de sodio (25 mL), la solución de TPTZ (2.5 mL) y la solución de FeCl₃ (2.5 mL) se mezclaron según la proporción (10: 1: 1). Luego la mezcla se incubó a 37°C. La solución de trabajo debe agotarse en 1 a 2 horas. Se guarda en frasco ámbar.

6. Curva de calibración Trolox

La curva de calibración de trolox se realizó a partir de una solución patrón de 100 µmol de Trolox en metanol (80%). Se realizaron las siguientes diluciones:

Tabla 3. Curva de calibración con Trolox para método FRAP.

Tubo (forrado con aluminio)	Concentración Trolox µM	Sol. patrón Trolox (µ L)	Metanol 80% (µL)	Volumen final (µL)
1 - Blanco	0	0	400	400
2	1.25	5	395	400
3	2.5	10	390	400
4	5	20	380	400
5	7.5	30	370	400
6	10	40	360	400
7	15	60	340	400
8	20	80	320	400
9	25	100	300	400
10	100	400	0	400

Los tubos (forrados con aluminio) fueron tapados con un trozo de aluminio y agitados en un vórtex e incubados en baño María a 37 °C por 30 minutos. El espectrofotómetro se calibro con metanol al 80% a una longitud de onda (λ) de 593 nm. Las absorbancias obtenidas de las lecturas de los tubos de la curva patrón fueron ajustadas en una regresión simple.

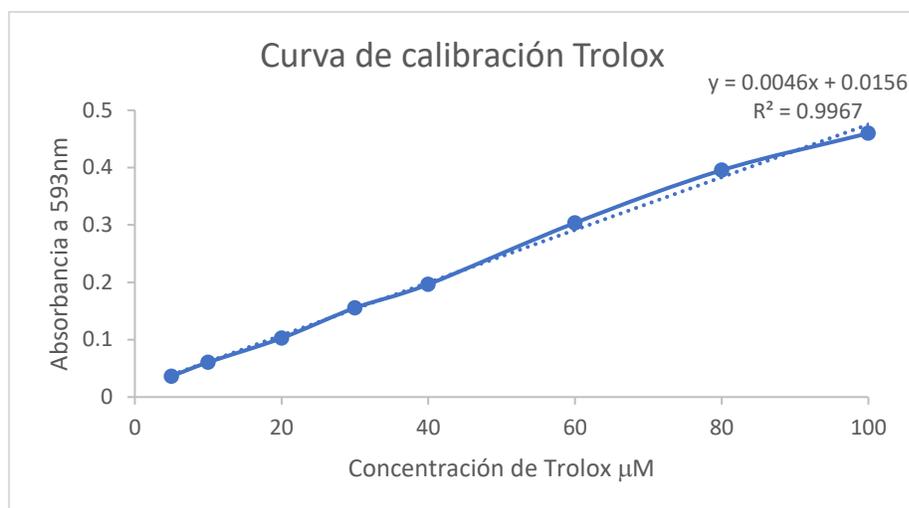


Figura 3. Curva de calibración Trolox para método FRAP.

7. Procedimiento de ensayo FRAP

En tubos de ensayo forrados con aluminio, se colocaron 400 μL de extracto de la muestra (0.1 g de muestra con 9.9 mL de agua destilada, agitación en vórtex y centrifugada a 10,000 rpm 4°C, 10 min) y 3 mL de solución de trabajo FRAP, se taparon y se llevaron homogenizaron en un vórtex, incubándose 30 min en baño María a 37°C. Los tubos se leyeron en espectrofotómetro con una longitud de onda (λ) de 593 nm.

8. Cálculo del valor FRAP

El resultado se expresó como μmol TE/g peso seco según la fórmula:

Ecuación 3.

$$FRAP \text{ valor } \left(\frac{\mu\text{mol TE}}{\text{g}} \text{ de peso seco} \right) = \left(\frac{c * V + t}{m} \right)$$

Donde:

c = concentración de Trolox (μmol/mL) de la curva estándar correspondiente de la muestra diluida

V = volumen de la muestra (mL)

t = factor de dilución

m = peso de la materia seca de la muestra (g)

2.3.2 Fenoles Totales

Los compuestos fenólicos o polifenoles constituyen un amplio grupo de sustancias químicas, con diferentes estructuras y propiedades químicas y actividad biológica, englobando más de 8.000 compuestos distintos. Químicamente, los compuestos fenólicos son sustancias que poseen un anillo aromático, con uno o más grupos hidróxidos.

Los métodos usados comúnmente para determinar y cuantificar fenoles totales en alimentos y vegetales son el ensayo de la vainillina y el de Folin-Ciocalteu (usando el ácido gálico como referencia). El método de Folin-Ciocalteu se basa en la capacidad de los fenoles para reaccionar con agentes oxidantes. El reactivo de Folin-Ciocalteu contiene molibdato y tungstato sódico, que reaccionan con cualquier tipo de fenol, formando complejos fosfomolibdico-fosfotúngstico. La transferencia de electrones a pH básico reduce los complejos fosfomolibdico-fosfotúngstico en óxidos, cromógenos de color azul intenso, de tungsteno (W_8O_{23}) y molibdeno (Mo_8O_{23}), siendo proporcional este color al número de grupos hidroxilo de la molécula, La determinación fue llevada a cabo siguiendo la metodología descrita por (Dastmalchi et al., 2007) con algunas modificaciones.

1. Preparación de la solución madre de Ácido Gálico

Se tomaron 25 mg de ácido gálico también conocido como ácido 3,4,5-trihidroxibenzoico ($C_6H_2(OH)_3COOH$), para disolverlos con etanol al 10% aforados a 25 mL. La concentración de $C_6H_2(OH)_3COOH$ fue de 0.5 mg/mL. Posteriormente se preparó una dilución 1:10 con etanol al 10% (siempre esta solución recién preparada), se cubre el matraz con aluminio.

2. Preparación de la solución de carbonato de sodio (20%)

Se pesaron 5 g de carbonato de sodio aforados con 25 mL, de agua destilada, inicialmente se disolvió en un vaso de precipitados con 15 mL de solvente y se llevó a la parrilla con agitación y un agitador magnético hasta su completa disolución, finalmente se llevó a su volumen de aforo.

3. Preparación de la solución de etanol.

Se midieron 10 mL de etanol absoluto y se llevaron a aforo de 100 mL con agua destilada.

4. Curva de calibración con Ácido Gálico

A partir de la disolución patrón de ácido gálico (1:10), en viales o tubos protegidos de la luz (ferrados con aluminio) se hicieron las siguientes diluciones:

Tabla 4. Curva de calibración con Ácido Gálico para cuantificación de Fenoles Totales.

Tubo (forrado con aluminio)	% de concentración	Concentración de Ác. Gálico mg/mL	Sol. Ác. Gálico (mL)	Etanol 10% (mL)	Reactivo Follin- Ciocalteu (mL)	Solución Na ₂ CO ₃ (20%) (mL)
1 - Blanco	0	0	0	2.4	0	0
2- Control	0	0	0	2	100	300
3	10	0.0005	0.2	1.8	100	300
4	20	0.0010	0.4	1.6	100	300
5	30	0.0015	0.6	1.4	100	300
6	40	0.0020	0.8	1.2	100	300
7	50	0.0025	1	1	100	300
8	60	0.0030	1.2	0.8	100	300
9	70	0.0035	1.4	0.6	100	300
10	80	0.0040	1.6	0.4	100	300
11	90	0.0045	1.8	0.2	100	300
12	100	0.0050	2	0	100	300

La reacción se realiza en 2 partes. Los tubos con ácido gálico, etanol (10%) y el reactivo de Folin – Ciocalteu se mezclaron con ayuda del vórtex, se dejaron reaccionar 8 minutos en ausencia de luz. Pasado este tiempo se agregó el carbonato de sodio, se taparon con un trozo de aluminio. Se agitaron con vórtex y se incuban a baño María a 50°C durante 15 minutos. Los tubos se leyeron en espectrofotómetro con una longitud de onda (λ) de 765 nm. Las absorbancias obtenidas de las lecturas de los tubos de la curva patrón fueron ajustadas en una regresión simple lineal.

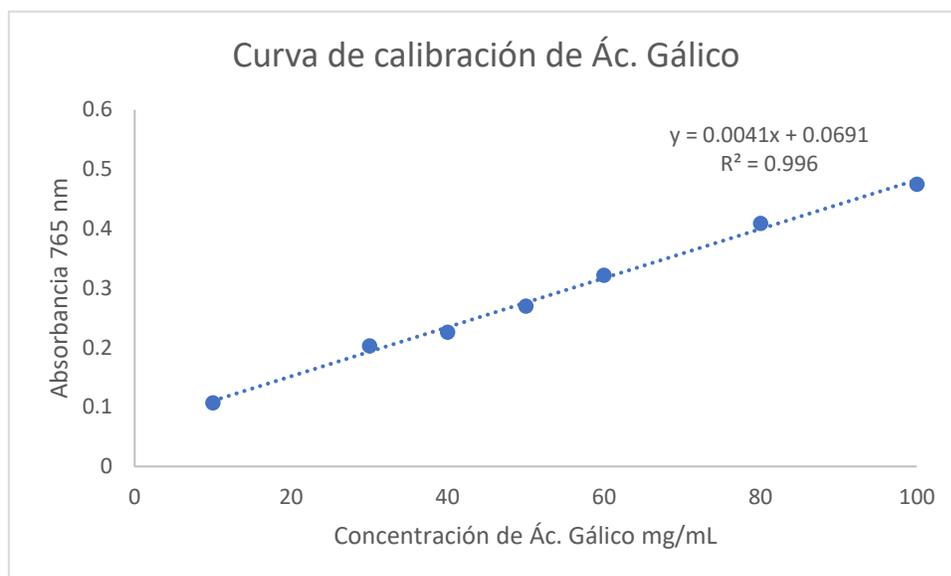


Figura 4. Curva de calibración de Ácido Gálico para fenoles totales.

5. Procedimiento de ensayo para Fenoles Totales

En tubos de ensayo cubiertos con aluminio, 1580 μL de extracto a analizar, se agregaron 100 μL de reactivo Follin, se agitaron en vórtex, incubándose en oscuridad por 8 min. Se agregaron 300 μL de Na_2CO_3 (20%), se homogenizaron con vórtex, se incubaron en baño María a 50°C por 15 min. La lectura se realizó en un espectrofotómetro (Shimadzu uv-1280) a una longitud de onda $\lambda=765$ nm. Este procedimiento se realizó por triplicado de cada muestra.

6. Cálculo del valor de Fenoles Totales

El resultado se expresó como mg de GAE/ g peso seco según la fórmula:

Ecuación 4.

$$\text{Fenoles totales} \left(\frac{\text{mg Ác. Gálico}}{g} \text{ de peso seco} \right) = \left(\frac{c * V + t}{m} \right)$$

Donde:

c = concentración de Ác. Gálico (mg/mL) de la correspondiente curva estándar de la muestra diluida

V = volumen de muestra (mL)

t = factor de dilución

m = peso de materia seca de la muestra (g)

2.3.3 β -carotenos

Los carotenoides constituyen una de las clases de pigmentos vegetales más importantes y juegan un papel importante en la definición de los parámetros de calidad de la fruta y verduras (Van den Berg *et al.*, 2000).

La cuantificación se realizó siguiendo la propuesta de Hornero y Mínguez (2001), quienes desarrollaron un método rápido para la determinación de las fracciones de pigmentos carotenoides isocrómicos rojo (R) y amarillo (Y), este procedimiento se puede aplicar a la extracción directa de pigmentos, evitando así la saponificación y minimizando los errores por degradación de pigmentos y manipulación de muestras.

1. Preparación de la solución de acetona al 80%

Se prepararon 500 mL de solución de acetona al 80%, aforando con agua destilada, se guardó en frasco de vidrio de preferencia ámbar o se cubre con aluminio, en refrigeración (4°C).

2. Preparación de la muestra

En un tubo Falcón de 15 mL forrados con papel aluminio, se pesaron 0.5 g de muestra adicionando 5 mL de la solución de acetona 80%, se llevaron a vórtex 1 min y se incubaron 24 h en refrigeración (4°C). Posteriormente se centrifugaron a 6000 x g por 10 min a 4°C, se filtraron en un vaso de precipitados con papel watham No. 1.

3. Cuantificación por espectrofotometría

La cuantificación de los extractos se realizó en un espectrofotómetro (marca Genova, modelo 2251), utilizando como blanco acetona al 80%, a una longitud de onda (λ) 508 para los pigmentos rojos y para los pigmentos amarillos $\lambda= 472$. Todo el procedimiento se realiza en obscuridad y por triplicado.

4. Expresiones para el cálculo de la fracción isócroma de los extractos

Cuando se obtienen los valores de los coeficientes de absorción para las dos fracciones C_r y C_y se introducen en las siguientes ecuaciones generales (5 y 6) multiplicando por 10^4 para expresar los datos como microgramos por mililitro.

Ecuación 5.

$$C_r = \frac{[(A_{508} * 2144.0) - (A_{472} * 403.3)]}{270.9}$$

Ecuación 6.

$$Cy = \frac{[(A472 * 1724.3) - (A508 * 2450.1)]}{270.9}$$

Para expresar el resultado en miligramos por kilogramo, es necesario multiplicar por el volumen final (mililitros) al que se tomó la muestra y se divide por el peso (gramos) de muestra. Si la muestra se diluyó antes de las lecturas de la absorbancia, hay que tenerlo en cuenta.

Se calculó el porcentaje de retención de nutrientes para cada una de las fracciones de interés en masas antes y después de fermentar de acuerdo con la siguiente ecuación 7 (Sowa *et al.*, 2017) y durante el almacenamiento de pan a 4 tiempos diferentes (0, 4, 8 y 12 días) se utilizó la ecuación 8 propuesta por Rodríguez – Amaya, (1997) con ligeras variaciones.

Ecuación 7.

$$\% \text{ retención} = \frac{A}{B} * 100$$

Donde:

A= contenido de nutriente del alimento cocinado mg/100 g

B= contenido de nutriente de la materia prima mg/100 g

Ecuación 8.

$$\% \text{ retención} = \left[\frac{A * B}{C * D} \right] * 100$$

Donde:

A= contenido de nutrientes del alimento cocinado mg/Kg

B= contenido de nutrientes del alimento después de fermentado mg/Kg

C= contenido de nutrientes de la materia prima mg/Kg

D= contenido de nutrientes del alimento antes de fermentado mg/Kg

2.4 Análisis estadístico

Se aplicó un diseño completamente al azar, la prueba estadística aplicada fue un ANOVA, todas las determinaciones fueron realizadas por triplicado y los resultados son presentados como la media \pm desviación estándar, para la diferencia de medias se aplicó una prueba de Tukey con una $p < 0.05$ utilizando el paquete estadístico SSPP.

3. Resultados y discusión

La degradación de los compuestos fenólicos, de los β - carotenos y la pérdida de actividad antioxidante en panes enriquecidos con HSPa fueron analizados a cuatro diferentes tiempos de almacenamiento durante 12 días, Albarici y Pessoa (2012), mencionan que la luz, el pH, la temperatura y los sólidos solubles tienen un efecto sobre la velocidad de degradación de dichos compuestos.

El proceso térmico es uno de los pasos importantes en el proceso de elaboración de pan. Ciertos eventos complejos pueden afectar su calidad, la estabilidad al almacenamiento, las propiedades sensoriales, y las propiedades nutricionales se producen durante el horneado (Meral, 2017; Ceylan, 2018; Ceylan *et al.*, 2018). Algunos componentes de los alimentos se destruyen durante el proceso térmico mientras se forman nuevos componentes (Meral, 2017). La importancia de evaluar la estabilidad de la actividad antioxidante en función del tiempo se basa en que la es una de las actividades que más se destaca de los compuestos fenólicos (Zhang *et al.*, 2014).

3.1 Actividad Antioxidante

Los resultados de la actividad antioxidante indican que para el método ABTS (figura 5) en harinas se encontraron valores de 36.47 ± 0.36 mgTEAC/100 g para la harina de semillas de papaya (HSPa) con un porcentaje de inhibición de 66.63 %, para la HPap3 con 22.93 ± 0.15 mgTEAC/100 g y 45.36 % de inhibición, la HPap1 tuvo 17.44 ± 0.05 mgTEAC/100g y 36.73 % de inhibición, teniendo diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) con la harina de trigo refinada (HT) 16.30 ± 0.12 mgTEAC/100 g con 34.93 % de inhibición con los valores más bajo. En algunos estudios realizados en semillas de papaya como el llevado a cabo por Panzarini *et al.*, (2014) en donde evaluaron el efecto antioxidante de extractos acuosos de semillas de papaya, demostraron que el extracto obtenido tiene una potente actividad antioxidante (comparada contra vitamina C) beneficioso contra el estrés oxidativo.

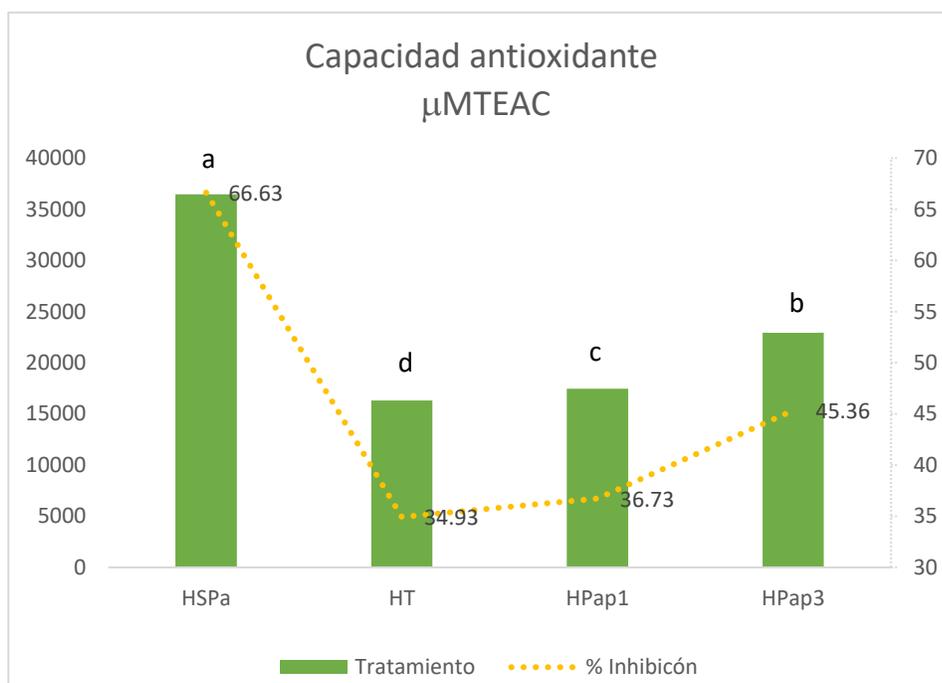


Figura 5. Cuantificación de capacidad antioxidante por método ABTS en harinas con porcentaje de inhibición. HSPa= harina de semillas de papaya. HT= harina de trigo. HPap1= 5 % HSPa + 95 % HT. HPap3= 15 % HSPa + 85 % HT. Valores promedio de tres repeticiones (n= 3) con desviación estándar (\pm). Las medias con distintas letras ^{abcd}, son significativamente diferentes, utilizando una prueba de Tukey ($p < 0.05$).

Los mejores valores de capacidad antioxidante de pan (figura 6) fueron para el tratamiento Pap3 con 15% de HSPa fue de 19.37 ± 0.21 , 18.66 ± 0.03 , 17.43 ± 0.19 , 16.03 ± 0.20 mgTEAC/100 g (39.77 %, 38.64 %, 36.72 %, 34.52 % de inhibición), para el tiempo 0, 4, 8, y 12 días de almacenamiento, seguidos del tratamiento Pap1 (5 % de sustitución de HSPa) con 13.97 ± 0.02 , 11.42 ± 0.06 , 12.83 ± 0.17 , 11.23 ± 0.49 mgTEAC/100 g (31.28 %, 30.13 %, 29.48 %, 26.96 % de inhibición), en comparación con el pan control ($p < 0.05$) que durante el periodo de almacenamiento tuvo 13.09 ± 0.04 , 11.42 ± 0.06 , 9.31 ± 0.14 , N.D mgTEAC/100 g (29.89 %, 27.27 %, 23.95 % de inhibición) a los doce días de almacenamiento no hubo cuantificación. Por otra parte, Wahyono *et al.*, (2020) evaluaron la capacidad antioxidante en pan enriquecido con harina de calabaza amarilla (*Cucurbita moschata*) encontraron valores superiores para ABTS de 81,74 % para pan con 20 % de sustitución de esta harina.

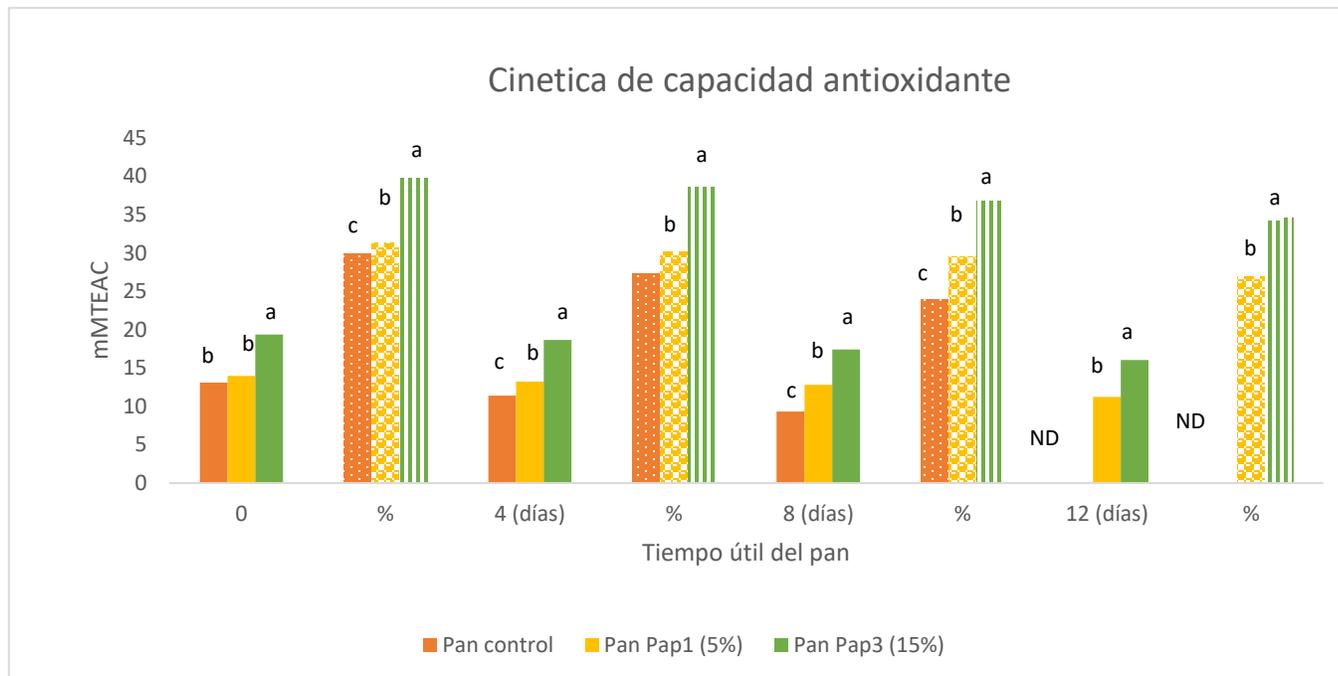


Figura 6. Cinética de cuantificación de capacidad antioxidante por método ABTS en pan con porcentaje de inhibición. Pan control= 100 % HT= Pan Pap1= 5 % HSPa + 95 % HT. Pan Pap3= 15 % HSPa + 85 % HT. Cuatro tiempos de evaluación (0, 4, 8, 12 días). Valores promedio de tres repeticiones (n= 3) con desviación estándar (\pm). Las medias con distintas letras ^{abc}, son significativamente diferentes, utilizando una prueba de Tukey ($p < 0.05$).

Para el método FRAP como se puede observar en la figura 7, la HSPa obtuvo $161.57 \pm 3.57 \mu\text{MTE}/100 \text{ g}$, el tratamiento HPap3 con 15 % de sustitución tuvo $64.43 \pm 0.98 \mu\text{M TE}/100 \text{ g}$, el tratamiento HPap1 con 5 % de sustitución obtuvo $45.69 \pm 1.06 \mu\text{MTE}/100 \text{ g}$ y la HT $28.48 \pm 1.09 \mu\text{MTE}/100 \text{ g}$ ($p < 0.05$). En el estudio integral de la evaluación de antioxidantes y propiedades antiinflamatorias en extractos de papaya realizado por Jeon *et al.*, (2022) determinaron que las semillas inmaduras de papaya tienen mayor habilidad para reducir el ion férrico que las semillas maduras y no detectaron actividad en pulpa y cáscara. Así mismo Shen *et al.*, (2020), determinaron la capacidad antioxidante por diferentes métodos, en pulpa, piel y semillas de 2 cultivares de uvas, concluyeron que las semillas presentaron la mayor actividad antioxidante.

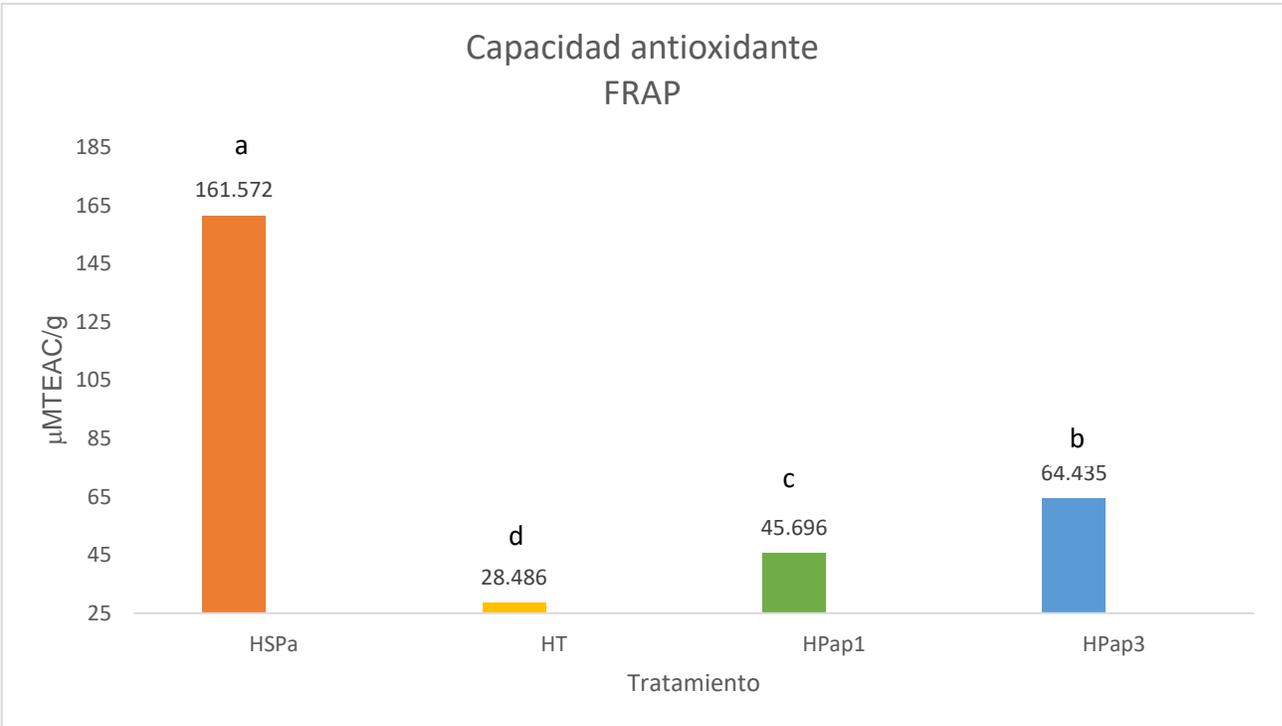


Figura 7. Cuantificación de capacidad antioxidante por método FRAP en harinas. HSPa= harina de semillas de papaya. HT= harina de trigo. HPap1= 5 % HSPa + 95 % HT. HPap3= 15 % HSPa + 85 % HT. Valores promedio de tres repeticiones (n= 3) con desviación estándar (\pm). Las medias con distintas letras ^{abcd}, son significativamente diferentes, utilizando una prueba de Tukey ($p < 0.05$).

En la figura 8, se observan los datos obtenidos para el pan a cuatro tiempos diferentes de almacenamiento (0, 4, 8, y 12 días), en el caso del tratamiento Pap3 con 15 % de HSPa, los valores obtenidos fueron 58.87 ± 2.14 , 54.46 ± 1.06 , 51.58 ± 0.57 , 47.69 ± 0.42 $\mu\text{MTE}/100$ g, para el tratamiento Pap1 con 5 % de sustitución de HSPa, fueron de 44.76 ± 0.31 , 37.05 ± 0.37 , 35.30 ± 0.15 , 24.39 ± 0.09 $\mu\text{MTE}/100$ g y para el pan control se encontraron los siguientes valores 32.83 ± 0.74 , 27.82 ± 0.53 , 16.60 ± 0.44 , 3.65 ± 0.05 $\mu\text{MTE}/100$ g habiendo una diferencia significativa entre los tratamientos ($p < 0.05$). En el estudio realizado por Chlopicka *et al.*, (2012) en donde utilizan trigo sarraceno, amaranto y quinoa para hacer pan, encontraron que la adición de harina de trigo sarraceno a la harina de trigo mejoró más efectivamente el estado antioxidante del pan que otros pseudocereales estudiados (amaranto y la quinoa).

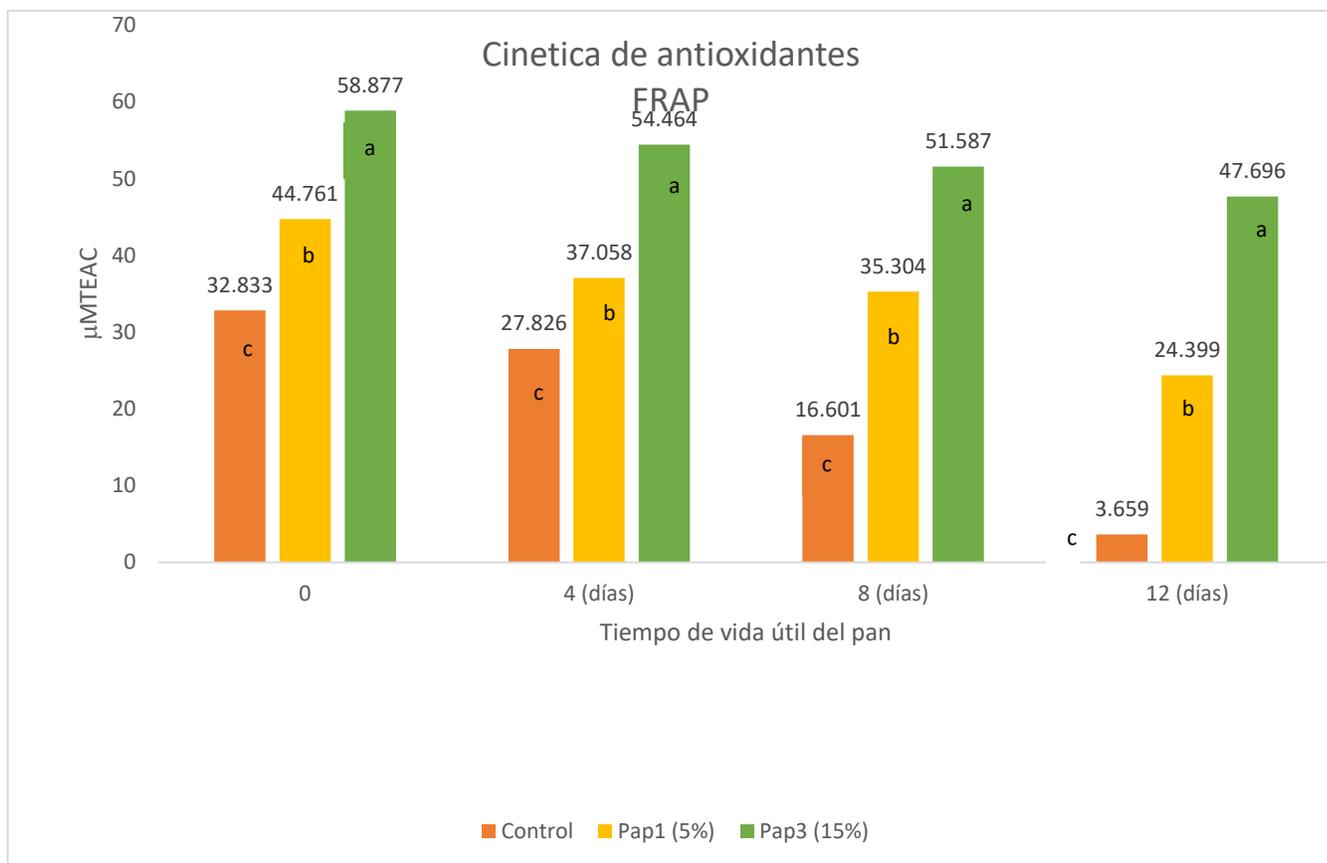


Figura 8. Cinética de cuantificación de capacidad antioxidante por método FRAP en pan. Pan control= 100 % HT= Pan Pap1= 5 % HSPa + 95 % HT. Pan Pap3= 15 % HSPa + 85 % HT. Cuatro tiempos de evaluación (0, 4, 8, 12 días). Valores promedio de tres repeticiones (n= 3) con desviación estándar (\pm). Las medias con distintas letras ^{abc}, son significativamente diferentes, utilizando una prueba de Tukey ($p < 0.05$).

3.2 Fenoles totales

El contenido fenólico de los cuatro tipos de harina y tres panes se expresaron como mg de GAE/100g de peso seco (figura 9 y 10). La harina de semillas de papaya (HSPa) tuvo el contenido fenólico más alto (21.04 ± 0.012 mgGAE/ 100g) y el siguiente valor fue la HPap3 con 15 % de sustitución (7.64 ± 0.013 mgGAE/100 g), inclusive la HPap1 con 5 % de sustitución tuvo un mejor contenido fenólico (4.64 ± 0.014 mg GAE/100 g) que la harina refinada de trigo (0.302 ± 0.004 mg GAE/100 g) que presento el contenido más bajo de fenoles, habiendo diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$). En el estudio de análisis fitoquímico, actividad antioxidante y antibacteriana en extractos etanólicos de semillas de papaya realizado por Ying *et al.*, (2021) reportaron un contenido menor de componentes fenólicos totales de 6.420 mgGAE/g que los valores encontrados en este análisis. Zhou *et al.*, (2023) caracterizaron compuestos fenólicos en pulpa y subproductos de papaya, encontraron

en semillas inmaduras de papaya amarilla 4.73 mg GAE/g siendo el valor más alto en su análisis.

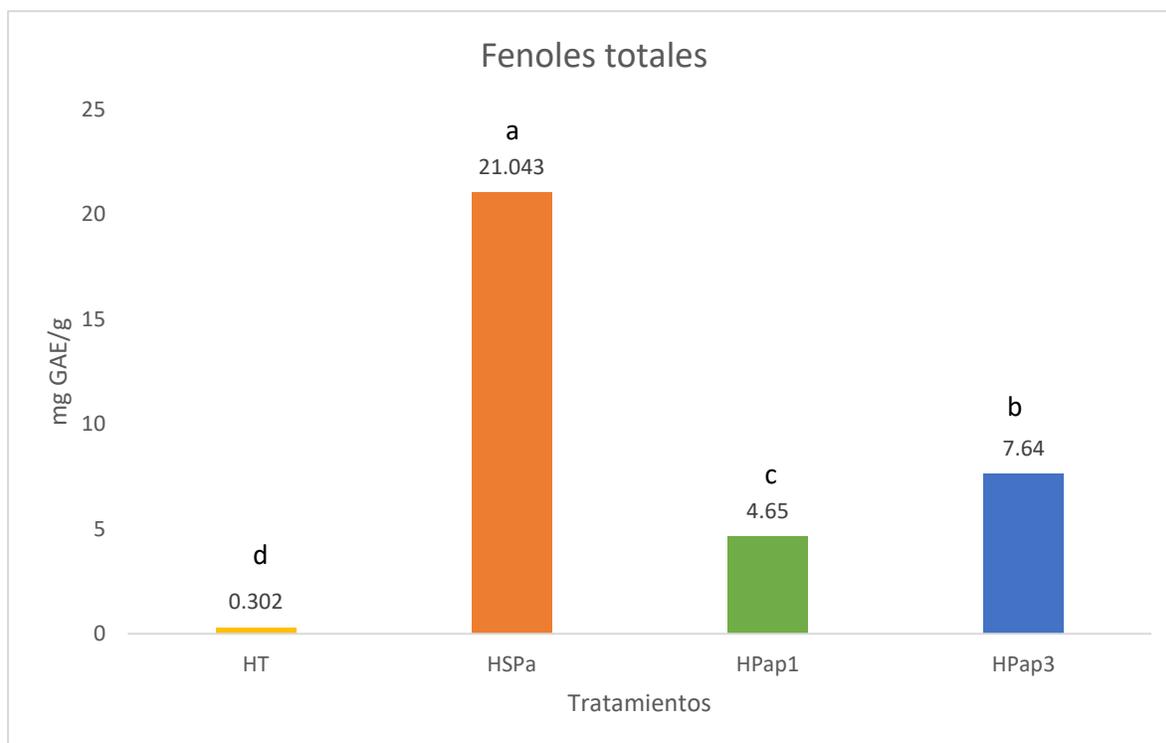


Figura 9. Cuantificación de fenoles totales en harinas. HSPa= harina de semillas de papaya. HT= harina de trigo. HPap1= 5 % HSPa + 95 % HT. HPap3= 15 % HSPa + 85 % HT. Valores promedio de tres repeticiones (n= 3) con desviación estándar (\pm). Las medias con distintas letras ^{abcd}, son significativamente diferentes, utilizando una prueba de Tukey ($p < 0.05$).

De acuerdo con los resultados anteriores, el contenido de fenoles en panes fue más alto en aquellos enriquecidos con HSPa, como es el tratamiento Pap3 con 15 % de sustitución, durante el tiempo de almacenamiento obtuvo los siguientes valores 8.51 ± 0.01 , 7.50 ± 0.04 , 6.62 ± 0.01 , 5.29 ± 0.06 mgGAE/100 g. Inclusive el tratamiento Pap1 con 5 % de sustitución (7.22 ± 0.07 , 6.45 ± 0.02 , 5.03 ± 0.02 , 2.91 ± 0.05 mgGAE/100 g) tuvo un mejor contenido de fenoles totales que el pan control (100 % HT) 2.72 ± 0.02 , 2.61 ± 0.02 , 2.10 ± 0.02 , 1.05 ± 0.03 mgGAE/100 g, habiendo una diferencia estadística significativa entre los tratamientos ($p < 0.05$), las mediciones se realizaron a cuatro diferentes tiempos de almacenamiento (0, 4, 8, 12 días). El incremento de fenoles totales en el tratamiento control, de harina a pan probablemente se deba al proceso de fermentación, Katina *et al.*, (2007) quienes determinaron que el contenido de ácido ferúlico en pan de centeno aumento con la fermentación de la levadura. De la misma manera, Wang *et al.*, (2014) determinaron que cereales fermentados tuvieron una mejor actividad antioxidante y mayor contenido fenólico que los cereales no fermentados. Así mismo Meral y Köse (2019) en el análisis que realizaron mostraron

que la actividad antioxidante y cantidad de compuestos fenólicos en masa enriquecida con semillas de granada y uva aumentó con la fermentación y la fermentación cambio el perfil fenólico.

La mayoría de los compuestos fenólicos que están presentes en la actividad antioxidante de las frutas se caracterizan por ser hidrosolubles y estables a temperatura ambiente, pero son susceptibles a los cambios químicos, físicos y térmicos, ya que el aumento excesivo del calor los degrada (Agostini *et al.*, 2004).

Sepúlveda y Zapata (2019), en su investigación, destacaron que los parámetros de degradación térmica y almacenamiento de extracto de *Bixa orellana* en el contenido de fenoles totales tienen tendencias similares y valores con un alto nivel de similitud a los parámetros de pérdida de actividad antioxidante, como los resultados obtenidos en esta investigación.

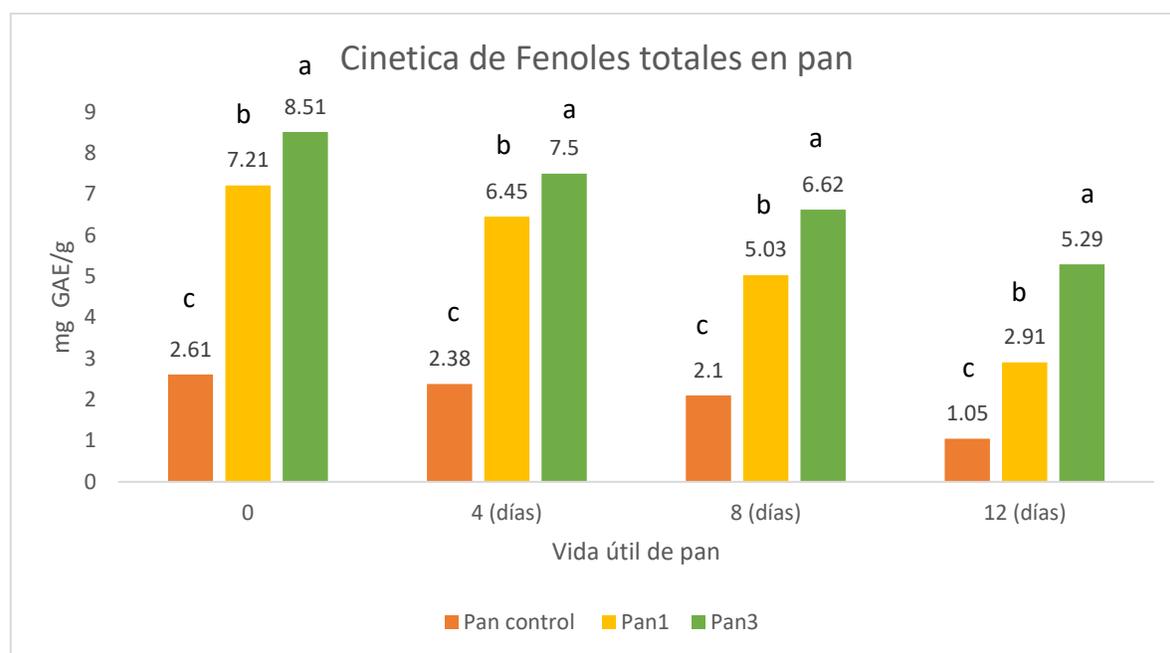


Figura 10. Cinética de cuantificación de fenoles totales en pan. Pan control= 100 % HT= Pan Pap1= 5 % HSPa + 95 % HT. Pan Pap3= 15 % HSPa + 85 % HT. Cuatro tiempos de evaluación (0, 4, 8, 12 días). Valores promedio de tres repeticiones (n= 3) con desviación estándar (\pm). Las medias con distintas letras ^{abc}, son significativamente diferentes, utilizando una prueba de Tukey ($p < 0.05$).

3.3 Carotenos

Los carotenos forman una de las clases más importantes de pigmentos vegetales y juegan un papel crucial en la definición de la calidad parámetros de frutas y hortalizas. Los carotenos son de gran interés debido a sus funciones biológicas esenciales en plantas y animales (Omayma y Nasser, 2013).

Los β -carotenos se cuantificaron en harinas, masas y pan. Como se observa en la figura 11, la harina refinada de trigo obtuvo la cuantificación más baja 3.76 ± 0.44 mg/100 g para la fracción isocrómica amarilla (Cy), no se detectó fracción isocrómica roja (Cr), para la HSPa los resultados obtenidos fueron $Cy= 44.15 \pm 0.66$ mg/100 g y $Cr= 26.95 \pm 0.28$ mg/100 g, para la HPap1 con 5% de sustitución se obtuvo para $Cy=14.43 \pm 0.63$ mg/Kg y para $Cr= 4.4 \pm 0.23$ mg/Kg. La cuantificación de las fracciones isocrómicas en el tratamiento HPap3 con 15% de sustitución fueron $Cy=16.41 \pm 0.41$ mg/100 g y para $Cr= 5.48 \pm 0.10$ mg/100 g. Habiendo una diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos ($p<0.05$). Marfo *et al.*, (2011) realizaron una caracterización de aceite alto oleico en semillas de papaya, encontrando β -criptoxantina y β -caroteno con 4.29 mg/100 g y 2.76 mg/100 g respectivamente, cantidades más bajas que las encontradas en esta investigación. Sancho *et al.*, (2011) identificaron y cuantificaron carotenoides en pulpa de papaya obtuvieron licopeno (0.36 a 3.40 mg/100 g peso seco), β -criptoxantina (0.28 a 1.06 mg/100 g peso seco), β -caroteno (0.23 a 0.50 mg/100 g peso seco).

La inestabilidad de los carotenoides se debe principalmente a que son compuestos altamente insaturados, degradándose fundamentalmente debido a procesos oxidativos. Muchos factores como temperatura, pH, fuentes de carbono y nitrógeno tipo de fermentaciones y minerales afectan su función, pueden producir importantes cambios cualitativos en estos compuestos debido a reacciones de isomerización (Radomska y Harasym, 2018).

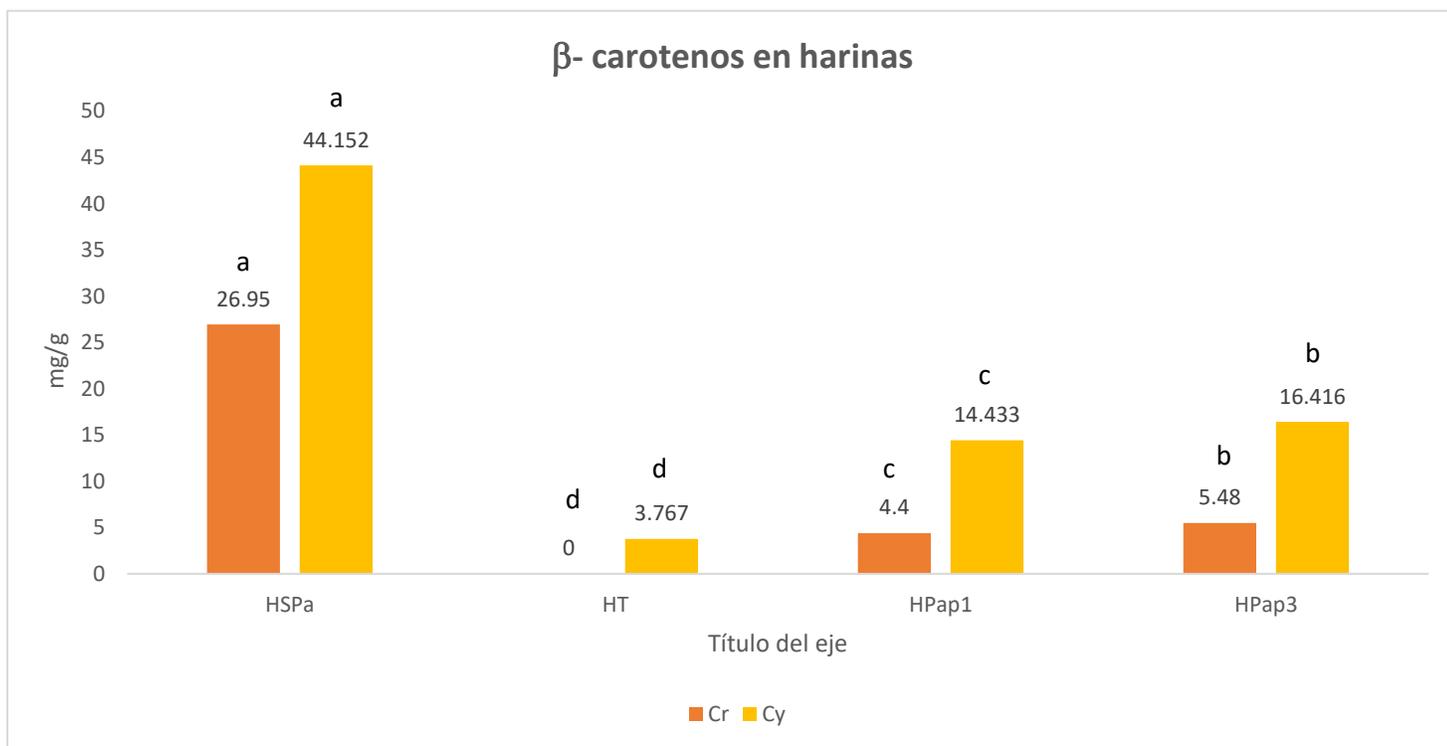


Figura 11. Cuantificación de β -carotenos en harinas. HSPa= harina de semillas de papaya. HT= harina de trigo. HPap1= 5 % HSPa + 95 % HT. HPap3= 15 % HSPa + 85 % HT. Cr= fracción roja, Cy= fracción amarilla. Valores promedio de tres repeticiones (n= 3) con desviación estándar (\pm). Las medias con distintas letras ^{abcd}, son significativamente diferentes, utilizando una prueba de Tukey ($p < 0.05$).

Se cuantificaron las fracciones Cy y Cr en un proceso de fermentación de masas, con harina refinada de trigo como tratamiento control y harina de semillas de papaya en 5 % (HPap1) y 15 % (HPap3) de enriquecimiento, se analizaron las masas antes de fermentar, el tiempo de fermentación fue de 30 min, los datos obtenidos se observan en la figura 12, se obtuvieron valores para la masa hecha con 100% HT en Cy= 2.49 ± 0.19 mg/Kg con 66.17 % de retención (antes de fermentar) y 0.52 ± 0.09 mg/Kg con 13.98 % de retención (después de fermentar). La masa HPap1 obtuvo valores para Cy= 21.61 ± 0.22 mg/Kg con 150.15 % de retención y 10.61 ± 0.38 mg/Kg, con 73.56 % de retención, para Cr= 3.2 ± 0.12 mg/Kg con 72.72 % de retención y 1.76 ± 0.25 mg/Kg con 40.15 % de retención (antes y después de fermentar), para la masa HPap3 se obtuvieron para Cy= 23.60 ± 0.08 mg/Kg con 143.78 % de retención y 14.98 ± 0.79 mg/kg con 91.25 % de retención, para Cr= 4.21 ± 0.13 mg/Kg con 76.97 % de retención y 2.63 ± 0.07 mg/Kg con 48.04 % de retención (antes y después de fermentación), de acuerdo con estos datos encontrados existe una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre las masas hechas con harina de refinada de trigo y las masas enriquecidas con harina de semillas de papaya. De acuerdo con Nzamwita *et al.*, (2017) la harina de trigo es una fuente pobre de betacarotenos. Algunos estudios que involucran el uso de harina hecha con camote amarillo en formulaciones de

productos han informado concentraciones significativas de carotenoides provitamina A en el producto final, En el estudio realizado por Sowa *et al.*, (2017) en donde analizaron la retención de β -carotenos en productos de maíz biofortificados, encontraron valores de retención aparentemente superiores al 100% para uno o más carotenoides individuales en papillas, hojaldres y muffins. El procesamiento y cocción de harina de maíz se pueden separar los carotenoides de la matriz alimentaria y aumentar su extractabilidad del alimento, resultando en un aumento aparente en su contenido (Rodríguez-Amaya, 1997).

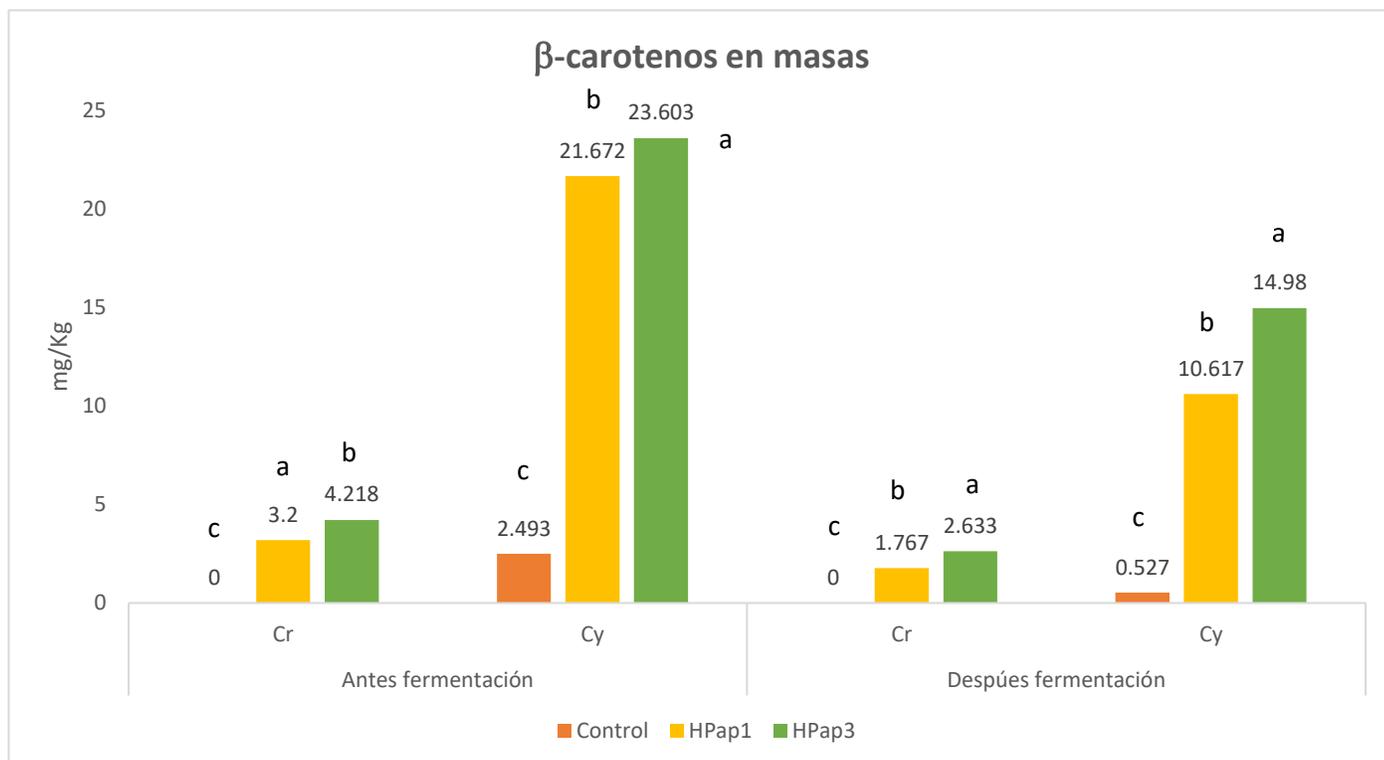


Figura 12. Cuantificación de β -carotenos en masas antes y después de fermentar. Masa control= 100 % HT. Masa HPap1= 5% HSPa + 95% HT. Masa HPap3= 15% HSPa + 85% HT. Cr= fracción roja, Cy= fracción amarilla. Valores promedio de tres repeticiones (n= 3) con desviación estándar (\pm). Las medias con distintas letras ^{abc}, son significativamente diferentes, utilizando una prueba de Tukey (p<0.05).

La cuantificación del pan durante el tiempo de almacenamiento fue para el pan control Cy= 11.68 ± 0.89 con 65.54 % de retención (0 días), 2.42 ± 1.05 con 13.58 % de retención (4 días), 1.59 ± 0.27 con 8.92 % de retención (8 días) mg/Kg, para el día 12 de almacenamiento no se detectó la fracción Cy, para el pan Pap1 con 5 % de enriquecimiento con HSPa se obtuvieron valores para la Cr= 3.44 ± 0.060 (43.17 % de retención), 2.46 ± 0.10 (30.87 % de retención), 0.44 ± 0.02 (5.52 % de retención), 0.35 ± 0.06 (4.39 % de retención) mg/Kg se obtuvieron los siguientes valores para la fracción Cy= 16.26 ± 0.42 (55.19 % de retención), 7.52 ± 0.14 (25.52 % de retención),

1.88 ± 0.77 (6.38 % de retención), 0.72 ± 0.12 (2.44 % de retención) durante el tiempo de almacenamiento. Para el pan Pap3 con 15% de HSPa los resultados fueron Cr= 5.35 ± 0.19 (60.94 % de retención), 2.86 ± 0.17 (32.57 % de retención), 2.57 ± 0.25 (29.27 % de retención), 0.36 ± 0.08 (4.10 % de retención) mg/Kg para la fracción Cy= 18.96 ± .050 (73.30 % de retención), 16.55 ± 0.57 (63.98 % de retención), 1.94 ± 0.21 (7.50 % de retención), 0.94 ± 0.15 (3.63 % de retención) mg/Kg, en los 0, 4, 8, y 12 días de almacenamiento, mostrando una diferencia significativa ($p < 0.05$) entre tratamientos. Mbogo *et al.*, (2021) determinaron la bioaccesibilidad de β -caroteno en pan elaborado con pure de camote naranja y harina de trigo encontraron valores de β C total de 4.3, 9.2, 16.5, 23.3 y 33.6 μ g/g en pan al 10, 20, 30, 40 y 50 %, de pure de camote. Como se ha documentado en numerosos estudios, los carotenoides en los alimentos se degradan durante el procesamiento térmico (Sampaio *et al.*, 2013). En este estudio, las masas se hornearon a 180°C por 30 min, por lo tanto, los carotenoides

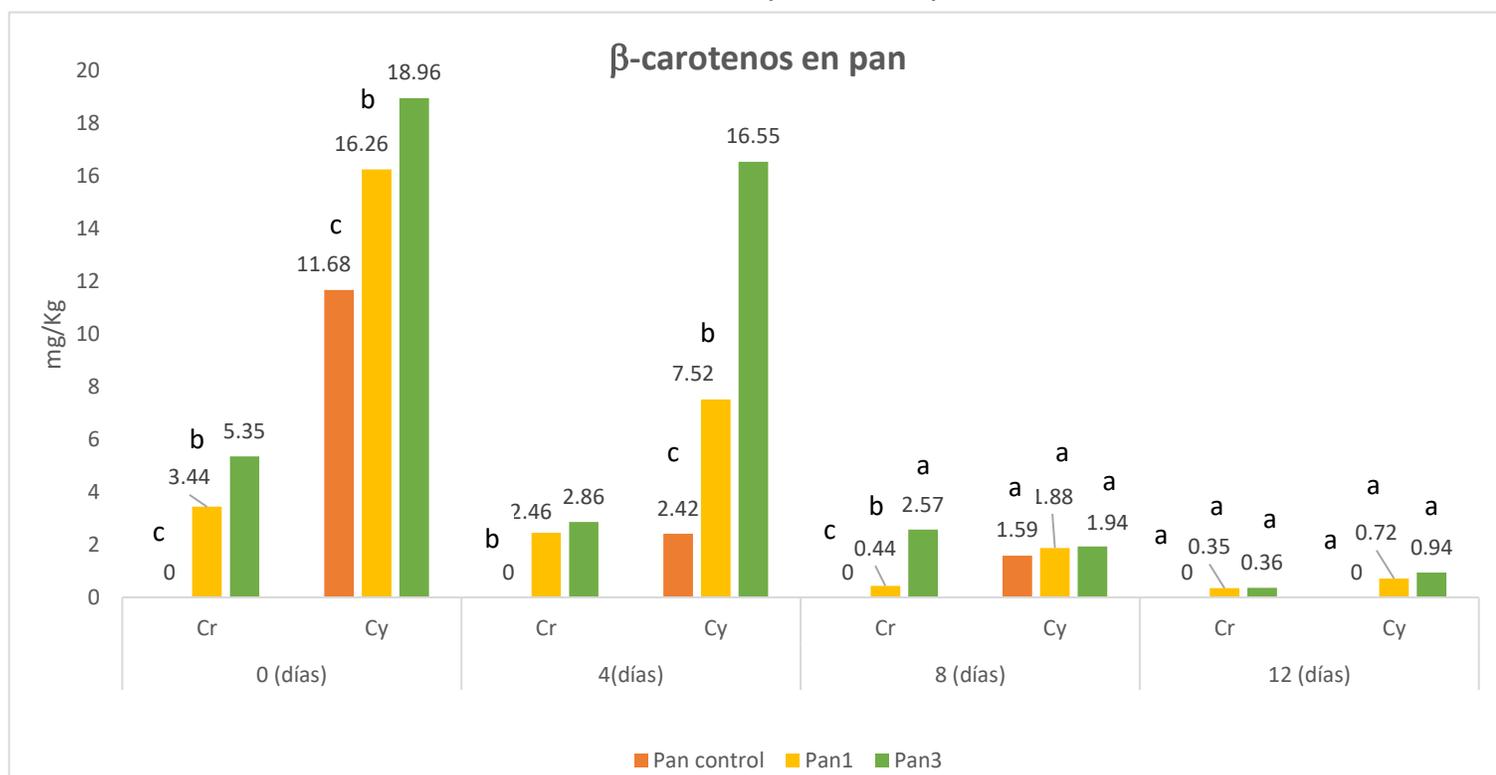


Figura 13. Cinética de cuantificación de β -carotenos en pan. Pan control= 100 % HT. Pan 1= 5% HSPa + 95% HT. Pan 3= 15% HSPa + 85% HT. Cr= fracción roja, Cy= fracción amarilla. Valores promedio de tres repeticiones ($n = 3$) con desviación estándar (\pm). Las medias con distintas letras abc , son significativamente diferentes, utilizando una prueba de Tukey ($p < 0.05$).

4. Conclusiones

El enriquecimiento de harina de trigo con harina de semillas de papaya como ingrediente en las formulaciones de pan resultó en productos horneados con concentraciones mejoradas en compuestos bioactivos, β -carotenos y actividades

antioxidantes más altas, como lo indican dos ensayos diferentes (ABTS y FRAP) que se realizaron. Los resultados obtenidos en este estudio resaltan la efectividad de la HSPa como ingrediente novedoso para el desarrollo de alimentos enriquecidos con antioxidantes, como compuestos fenólicos y carotenoides. Dichas sustancias bioactivas son objeto de gran interés debido a sus propiedades biológicas que pueden promover la salud del consumidor, lo que convierte a esta harina en una fuente promisorio para su aprovechamiento en la industria de los alimentos y más específicamente en la industria panadera.

Por otro lado, es importante la identificación de los compuestos fenólicos presentes en este producto y su posterior evaluación funcional mediante metodologías *in vivo* con el fin de establecer la naturaleza y el potencial biológico de estos compuestos.

5. Referencias bibliográficas

Alara, O.R., Abdurahman, N.H., Alara, J.A. (2022). *Carica papaya*: comprehensive overview of the nutritional values, phytochemicals and pharmacological activities. *Advances in Traditional Medicine (ADTM)* 22, 17–47. <https://doi.org/10.1007/s13596-020-00481-3>

Albarici, T.R. Pessoa, J.D.C. (2012). Effects of Heat Treatment and Storage Temperature on the Use of Açaí Drink by Nutraceutical and Beverage Industries. Doi: 10.1590/S0101-20612012005000026. *Journal of Food Science and Technology (Campinas)*, 32(1), 9-14.

Agostini, L.; Morón, M.; Ayala A., Ramón A. (2004). Determinación de la capacidad antioxidante de flavonoides en frutas y verduras frescas y tratadas térmicamente. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 54, 1, 89-92. ALAN [online]. Vol.54, n.1 [citado 2023-03-21], pp.89-92. Disponible en: <<http://ve.scielo.org/scielo.php?>

Aravind, G., Bhowmik, D.S., Duraivel, S., Harish, G. (2013). Traditional and medicinal uses of *Carica papaya*. *Journal of Medicinal Plants Studies*. 1. 7-15. ISSN: 2320-3862

Ávila, S., Kugo, M., Silveira Hornung, P., Apea-Bah, F.B., Songok, E.M., Beta, T. (2020). *Carica papaya* seed enhances phytochemicals and functional properties in cornmeal porridges. *Food Chemistry*. 323, 126808. Doi: 10.1016/j.foodchem.2020.126808.

Bennett B.C. (2010). Plants as Food. In: Bennett Brad., editor. *Economic Botany. Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS)*; Developed under the Auspices of the UNESCO; Eolss Publishers; Oxford, UK.

Benzie IF, Strain JJ. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*. 15;239(1):70-6. Doi: 10.1006/abio.1996.0292. PMID: 8660627.

Bunea, A., Rugină, D., Sconta, Z. (2013). Anthocyanin determination in extracts of various varieties of blueberries and their apoptotic properties in B16-F10 metastatic

murine melanoma cells. *Phytochemistry*. 95, 436–444 Doi: 10.1016/j.phytochem.2013.06.018.

Ceylan, Z. (2018). Determination of some quality parameters of fish samples taken out of the refrigerator at different preservation period and cooked at different temperature. *YYU Journal of Agricultural Science* 28(3): 317-324. <http://doi.org/10.29133/yyutbd.425528>

Ceylan, Z., Sengor, G.F.U. Yilmaz, M.T., (2018). Nanoencapsulation of liquid smoke/thymol combination in chitosan nanofibers to delay microbiological spoilage of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) filets. *Journal of Food Engineering* 229: 43-49 <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.01.062>

Cutrim, C.S., Cortez, M.A.S. (2018). A review on polyphenols: Classification, beneficial effects, and their application in dairy products. *Int. J. Dairy Technol.* 71, 564–578.

Chlopicka, J., Pasko, P., Gorinstein, S., Jedryas, A., Zagrodzki, P. (2012). Total phenolic and total flavonoid content, antioxidant activity and sensory evaluation of pseudocereal breads. *LWT - Food Science and Technology*, Volume 46, Issue 2, Pages 548-555, ISSN 0023-6438, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.11.009>.

Dastmalchi, K., Dorman, H. D., Koşar, M. and Hiltunen, R. (2007). Chemical composition and in vitro antioxidant evaluation of a water-soluble Moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.) extract. *LWT-Food Science and Technology*, 40(2), pp. 239-248. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2005.09.019>

Durazzo, A., Lucarini, M., Souto, EB., Cicala, C., Caiazzo, E., Izzo, AA., Novellino, E., Santini, A. (2019). Polyphenols: A concise overview on the chemistry, occurrence, and human health. *Phytotherapy Research*. 33(9):2221-2243. Doi: 10.1002/ptr.6419. PMID: 31359516.

Fernando WG. (2012). Plants: An International Scientific Open Access Journal to Publish All Facets of Plants, Their Functions and Interactions with the Environment and Other Living Organisms. *Plants (Basel)*.1(1):1-5. Doi: 10.3390/plants1010001. PMID: 27137635.

Gadzama, P. A., Wurochekke, A. U., Mahmoud, S. J. (2016). Anti-oxidant activity of *carica papaya* seed extracts on indomethacin-induced ulcer in rats. *International Journal of Science and Research (IJSR)*, 5(1), 699–703. ID: NOV152843

Hornero-Méndez D, Mínguez-Mosquera MI. (2001). Rapid spectrophotometric determination of red and yellow isochromic carotenoid fractions in paprika and red pepper oleoresins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49(8):3584-8. Doi: 10.1021/jf010400l. PMID: 11513632.

Jeon, Y.A., Chung, S.W., Kim, S.C., Lee, Y.J. (2022). Comprehensive Assessment of Antioxidant and Anti-Inflammatory Properties of Papaya Extracts. *Foods* 11, 3211. <https://doi.org/10.3390/foods11203211>

Katina, K., Liukkonen, K.H., Kaukovirta-Norjaa, A., Adlercreutzb, H., Heinonenb, S.M., Lampic, A.M., Pihlavad, J.M. and Poutanen, K. (2007). Fermentation-induced changes in the nutritional value of native or germinated rye. *Journal of Cereal Science* 46: 348-355. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2007.07.006>

Li, D., Li, B., Ma, Y., Sun, X., Lin, Y. y Meng, X. (2017). Polyphenol, anthocyanin and flavonoid content and antioxidant capacity of various highbush and half-high blueberry cultivars. *Journal of Food Composition and Analysis*, 62, 84 – 93. Doi: 10.1016/j.jfca.2017.03.006

Liu, Y., Cai, C., Yao, Y., & Xu, B. (2019). Alteration of phenolic profiles and antioxidant capacities of common buckwheat and tartary buckwheat produced in China upon thermal processing. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99, 5565–5576. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9825>

López-Alarcón, C. y Denicolab, A. (2013). Evaluating the antioxidant capacity of natural products: A review on chemical and cellular-based assays. *Analytica Chimica Acta.*, 763, 1 -10. Doi: 10.1016/j.aca.2012.11.051.

Marc, F., Davin, A., Deglène-Benbrahim, L., Ferrand, C., Baccaunaud, M. (2004). Studies of various analytical methods for the evaluation of the antioxidant potential in foods. *Medicine Sciences: M/S*, 20, 458 – 463. Doi: 10.1051/medsci/2004204458.

Marfo, E. K., Oke, O. L., Afolabi, O. A. (1986). Chemical composition of papaya (*Carica papaya*) seeds. *Food Chemistry*, 22(4), 259–266. [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(86\)90084-1](https://doi.org/10.1016/0308-8146(86)90084-1).

Martín-García, B., Verardo, V., Diaz de Cerio, E., Razola-Díaz, M-C., Messia, M. C., Marconi, E., Gomez-Caravaca, A.M. (2021). Air classification as a useful technology to obtain phenolics-enriched buckwheat flour fractions. *LWT – Food Science and Technology* 150, 111893. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111893>

Meral, R., (2017). The effect of different temperatures on antioxidant activity and phenolic profile of the Rheum ribes. *YYU Journal of Agricultural Science* 27: 88-94. <https://doi.org/10.29133/yyutbd.285999>.

Meral, R. Köse, Y.E. (2019). The effect of bread-making process on the antioxidant activity and phenolic profile of enriched breads. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*. 11. 1-12. Doi: 10.3920/QAS2018.1350.

Mbogo, D., Muzhingji, T., Janaswamy, S. (2021). Starch digestibility and β -carotene bioaccessibility in the orange-fleshed sweet potato puree-wheat bread. *Journal of Food and Science*, 86, 901–906. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15620>

Neethu, S., Sreeja, DP. (2017). The surprising health benefits of papaya seeds: a review. *J Pharmacogn Phytochem* 6:424–429

Nzamwita, M., Duodu, KG., Minnaar, A. (2017). Stability of beta-carotene during baking of orange-fleshed sweet potato-wheat composite bread and estimated contribution to

vitamin A requirements. Food Chemistry. 228:85–90. Doi: 10.1016/j.foodchem.2017.01.133

Omayma, E., Nasser, S.A. (2013). Carotenoids. Singab, Journal of Pharmacogosity and Phytochemistry 2: 225-234. ISSN Impreso: 2349-8234, ISSN En línea: 2278-4136. <https://dx.doi.org/10.22271/phyto>

Panzarini, E., Dwikat, M., Mariano, S., Vergallo, C., Dini, L. (2014). Administration Dependent Antioxidant Effect of *Carica papaya* Seeds Water Extract. Evidence-based complementary and alternative medicine: eCAM. 281508. Doi:10.1155/2014/281508.

Pellegrini, N., Serafini, M., Colombi, B., Del Rio, D., Salvatore, S., Bianchi, M., & Brighenti, F. (2003). Total antioxidant capacity of foods, beverages and vegetable oils consumed in Italy evaluated by three different in vitro assays. The nutrition diary, 133 (9), 2812 – 2819. Doi: 10.1093/jn/133.9.2812.

Radomska, BL., Harasym, J. (2018). β -Carotene—properties and production methods, Food Quality and Safety, Volume 2, Issue 2, Pages 69–74, <https://doi.org/10.1093/fqsafe/fyy004>

Rodriguez-Amaya, D. B. (1997). Carotenoids and Food Preparation: The Retention of Provitamin A Carotenoids in Prepared, Processed, and Stored Foods; OMNI/USAID: Washington, DC. pp 1–93 ID: 10846527

Salla, S., Sunkara, R., Ogutu, S., Walker, L. T., Verghese, M. (2016). Antioxidant activity of papaya seed extracts against H₂O₂ induced oxidative stress in HepG2 cells. LWT – Food Science and Technology, 66, 293–297. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.09.008>.

Sampaio, KA., Ayala, JV., Silva, SM., Ceriani, R., Verhé, R., Meirelles, AJ. (2013). Thermal degradation kinetics of carotenoids in palm oil. Journal of the American Oil Chemists' Society 90(2): 191–198. Doi: 10.1007/s11746-012-2156-1

Sancho, L.E. G-G., Yahia, E.M., Aguilar, G.A.G. (2011). Identification and quantification of phenols, carotenoids, and vitamin C from papaya (*Carica papaya* L., cv. Maradol) fruit determined by HPLC-DAD-MS/MS-ESI. Food Research International, Volume 44, Issue 5. Pages 1284-1291, ISSN 0963-9969, <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.12.001>.

Santana, LF., Inada, AC., Espirito Santo, BLSD., Filiú, WFO., Pott, A., Alves, FM., Guimarães, RCA., Freitas, KC., Hiane, PA. (2019). Nutraceutical Potential of *Carica papaya* in Metabolic Syndrome. Nutrients. 11(7):1608. Doi: 10.3390/nu11071608. PMID: 31315213; PMCID: PMC6682863.

Subenthiran, S., Choon, T., Chee, C.K., Thayan, R., Teck, M.B., Muniandy, P.K., Afzan, A., Abdullah, N.LI., Ismail, Z. (2013). *Carica papaya* Leaves Juice Significantly Accelerates the Rate of Increase in Platelet Count among Patients with Dengue Fever

and Dengue Haemorrhagic Fever. Evidence-based complementary and alternative medicine: eCAM. 2013. 616737. Doi: 10.1155/2013/616737.

Sowa, M., Yu, J., Palacios, NR., Goltz, R.S., Howe, JA., Davis, CR., Rocheford, T., Tanumihardjo, SA. (2017). Retention of Carotenoids in Biofortified Maize Flour and β -Cryptoxanthin-Enhanced Eggs after Household Cooking. ACS Omega. volume 2, 10, 7320-7328. Doi: 10.1021/acsomega.7b01202, PMID: 31457305

Shen, Y., Zhao, J., Zhou, G., Xia, H., Liang, D. (2020). Antioxidant Capacity Assessment of Two White Table Grape E3S. Web Conference. 145 01006 Doi: 10.1051/e3sconf/202014501006

Teng, H., Chen, L. (2019). Polyphenols and bioavailability: An update. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 59:2040–2051. Doi: 10.1080/10408398.2018.1437023.

Tufarelli, V., Casalino, E., D'Alessandro, A.G., Laudadio, V. (2017). Dietary Phenolic Compounds: Biochemistry, Metabolism and Significance in Animal and Human Health. Current Drug Metabolism 18:905–913. Doi: 10.2174/1389200218666170925124004.

Van den Berg H., Faulks R., Granado HF., Hirschberg J., Olmedilla B., Sandmann G., Southon S., Stahl W. (2000). The potential for the improvement of carotenoid levels in foods and the likely systemic effects. Journal of the Science of Food and Agriculture. 80 (7): 880-912. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(20000515\)80:7%3C880::AID-JSFA646%3E3.0.CO;2-1](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(20000515)80:7%3C880::AID-JSFA646%3E3.0.CO;2-1)

Wahyono, A., Dewi, AC., Oktavia, S., Jamilah, S., Kang, WW. (2020). Antioxidant activity and Total Phenolic Contents of Bread Enriched with Pumpkin Flour. IOP Conference Series: Earth Environmental Science 411 012049. Doi: 10.1088/1755-1315/411/1/012049.

Wang, C.Y., Wu, S., Shyu, Y.T. (2014). Antioxidant properties of certain cereals as affected by food-grade bacteria fermentation. Journal of Bioscience and Bioengineering 117: 449-456. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2013.10.002>

Yadav, J., Yadav, S., Mishra, S. (2017). Experimental evidence showing nutritional and medicinal property of *Carica papaya* plant. International Journal of Science Research. 6:21–25. <https://doi.org/10.21275/ART20178569>

Ying, K.C.J., Perveen, N., Paliwal, N., Khan, H.N. (2021). Phytochemical Analysis, Antioxidant and Antibacterial Activity Determination of Ethanolic Extract of *Carica Papaya* Seeds. Biomedical Journal of Science & Technology Res 33(5). BJSTR. MS.ID.005459 Doi: 10.26717/BJSTR.2021.33.005459

Yogiraj V, Goyal PK, Chauhan, CS. (2015). *Carica papaya* Linn: an overview. International Journal of Herbal Medicine 2:1–8. <https://doi.org/10.1021/jf1031229>

Zhang, XL., Guo, YS., Wang, CH., Li, GQ., Xu, JJ., Chung, HY., Ye, WC., Li, YL., Wang, GC. (2014). Phenolic compounds from *Origanum vulgare* and their antioxidant

and antiviral activities. Food Chemistry.152:300-6. Doi: 10.1016/j.foodchem.2013.11.153. Epub 2013 Dec 1. PMID: 24444941.

Zhou, Y., Cao, Y., Li, J., Tuncay Agar, O., Barrow, C., Dunshea, F., Suleria, H. A.R (2023). Screening and characterization of phenolic compounds by LC-ESI-QTOF-MS/MS and their antioxidant potentials in papaya fruit and their by-products activities. Food Bioscience, Volume 52, 102480, ISSN 2212-4292, <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102480>.

CAPÍTULO

VIII



Efecto de la adición de harina de semillas de papaya (*Carica papaya*) en las propiedades fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales de pan de caja

Resumen

La sustitución parcial de la harina de trigo por harina de semillas de papaya (HSPa) en el pan puede aumentar la ingesta de nutrientes entre los consumidores. En este estudio se analizó la influencia de la sustitución de la harina de trigo (HT) con un 5% y 15% de harHSPa) en la composición proximal, actividad de agua (a_w), calidad de conservación microbiana y análisis sensorial. El contenido de humedad, proteína cruda, grasa cruda, cenizas totales, fibra cruda y carbohidratos en el pan varió de 24.35 a 36.89%, 8.69 a 11.55%, 3.49 a 7.39%, 1.05 a 1.94%, 0.04 a 2.37% y 39.84 a 61.60%, respectivamente. El contenido nutrimental del pan aumento significativamente con la adición de harina de semillas de papaya. El pan Pap3 mostro recuentos inferiores de bacterias mesófilas aerobias (\log_5 1.4, \log_5 1.1 y \log_5 2.8 ufc/g) y hongos y levaduras (\log_4 2.3, \log_4 1.5 y \log_5 1.5 ufc/g), así mismo aumento el recuento de bacterias ácido lácticas (\log_5 2.2, \log_6 2.7 y \log_6 1.6 ufc/g), no se detectó crecimiento de coliformes fecales en este tratamiento. En el análisis de sensorial, los resultados de los panes mostraron que la adición de harina de semillas de papaya a la masa podría mejorar la percepción subjetiva de las propiedades del pan y aumentar los atributos de calidad aceptables como el sabor, el color o el olor.

Palabras clave: harina de semillas de papaya, pan, ufc, sabor, olor, a_w

Abstract

Partial substitution of wheat flour for papaya seed flour (HSPa) in bread may increase nutrient intake among consumers. This study investigated the influence of replacing wheat flour (HT) with 5% and 15% HSPa on proximal composition, water activity (a_w), microbial keeping quality, and sensory analysis. The moisture, crude protein, crude fat, total ash, crude fiber and carbohydrate content in the bread ranged from 24.35 to 36.89%, 8.69 to 11.55%, 3.49 to 7.39%, 1.05 to 1.94%, 0.04 to 2.37% and 39.84 to 61.60%, respectively. The nutritional content of the bread increased significantly with the addition of papaya seed flour. The Pap3 bread showed the lowest counts of aerobic mesophilic bacteria (\log_5 1.4, \log_5 1.1 y \log_5 2.8 cfu/g) and fungi and yeasts (\log_4 2.3, \log_4 1.5 y \log_5 1.5 cfu/g), as well likewise, a better count of lactic acid bacteria was seen (\log_5 2.2, \log_6 2.7 y \log_6 1.6 cfu/g), no growth of fecal coliforms was detected in this treatment. In the sensory analysis, the results of the breads showed that the addition of papaya seed flour to the dough could improve the subjective perception of the properties of the bread and increase the acceptable quality attributes such as taste, color or smell.

Keywords: papaya seed flour, bread, cfu, taste, smell, a_w

1. Introducción

Entre las consecuencias derivadas de los problemas sociales, sanitarios y ambientales (pobreza, salud, alimentación, agricultura, consumo y producción sostenibles, falta de agua, asentamientos humanos, energía, COVID-19, cambio climático), que se han suscitado en el mundo, la producción de alimentos es de las que más preocupa, el pan es un alimento básico mundial que juega un papel vital en la seguridad alimentaria (Scarano *et al.*, 2022). El cambio en los hábitos de consumo ha aumentado enormemente la demanda de alimentos a base de trigo, como el pan, en los países en desarrollo (Eriksson *et al.*, 2014). La harina de trigo es la principal materia prima para la elaboración del pan, la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) estima una menor producción de trigo para el 2023, debido principalmente a las condiciones meteorológicas desfavorables y a los altos precios de los insumos agrícolas mientras que una fuerte desaceleración de la economía nacional, en medio de un aumento vertiginoso en los precios de la mayoría de los alimentos, comprometerá agudamente la seguridad alimentaria (FAO, 2023).

Existen un gran interés por promover la utilización de fuentes alternativas de harina tanto para sustituir parcialmente el uso del trigo como para incrementar la calidad de los nutrientes de productos a base de este cereal (Arabinar *et al.*, 2018; Caleja *et al.*, 2018; Nguyen *et al.*, 2023). La economía circular es un concepto importante en muchas áreas del mundo, muchos sectores de producción y sobre todo dentro de la producción agrícola y alimentaria. El sector agroalimentario ha tomado especial conciencia del problema de la eliminación y/o reutilización de residuos, que se define mejor como "materias primas secundarias" (SRM por sus siglas en inglés "secondary raw material"). Los SRM de origen agroalimentario tienen un importante valor cuantificado en compuestos moleculares y funcionales (Wang *et al.*, 2019). Dentro de este contexto la comunidad científica participa en la investigación del uso de residuos alimentarios de toda la cadena de suministro para producir resultados innovadores de mayor valor (da Silva Veloso *et al.*, 2022). La industria de procesamiento de papayas produce grandes cantidades de subproductos que se desechan como biorresiduos, a pesar de contener compuestos bioactivos (Panzarini *et al.*, 2014; Salla *et al.*, 2016; Ying *et al.*, 2021).

El deterioro físicoquímico y microbiológico hace que la vida útil de los productos de panadería se vea limitada, pero debido a la alta humedad que el pan presenta ($a_w=0,949$) también se ve implicado el impacto sanitario sobre los usuarios que lo consumen. Es por ello por lo que la calidad microbiológica es uno de los principales focos de atención en cuanto a la calidad higiénica del pan, ya que compromete su

seguridad alimentaria (Nyangena *et al.*, 2020). El objetivo de esta investigación fue evaluar los efectos de la adición de harina de semillas de papaya en la composición químico-proximal, vida útil y aceptación sensorial de pan de caja.

2. Materiales y métodos

2.1 Materia prima

Para elaborar los panes se utilizó harina de trigo (HT) comercial Osasuna de los molinos Elizondo (10.38% humedad, 0.27% cenizas, 12.27% proteína, 1.07% extracto etéreo, 0.061% fibra cruda, 75.93% carbohidratos) como pan control. Sustituida por harina de semillas de papaya (6.59% humedad, 9.18% cenizas, 21.61% proteína, 22.22% extracto etéreo, 24.46% fibra cruda, 15.92% carbohidratos) en porcentajes del 5% y 15%. Los ingredientes mostrados en la tabla 1 con excepción de la harina de semillas de papaya (HSPa) fueron comprados en la ciudad de Tulancingo, Hgo (México), se formularon tres tratamientos, pan control (100:0), Pap1 (95:5) y Pap3 (85:15).

Tabla 1. Ingredientes para la elaboración de pan de caja.

Ingrediente	Tratamiento		
	Control (100:0)	Pan1 (95:5)	Pan3 (85:15)
Harina de trigo (g)	250	237.5	212.5
Harina de semillas de papaya (g)	-----	12.5	37.5
Agua tibia 22°C (mL)	160	160	160
Levadura (Tradipan) (g)	4.5	4.5	4.5
Sal (La Fina) (g)	1.0	1.0	1.0
Azúcar (estándar) (g)	4.0	4.0	4.0

Mantequilla (La Gloria, sin sal) (g)	25.0	25.0	25.0
Leche en polvo (Nido, Néstle) (g)	5.0	5.0	5.0

2.2 Elaboración de pan

El pan fue producido, incorporando manualmente los ingredientes secos. El agua se entibio a 30°C incorporándola al resto de los ingredientes hasta obtener una masa homogénea, se hicieron porciones de 23 g colocándolas en un molde para hornear cupcake (Wilton 2105-6819 antiadherente 26.2 x 41.5 cm) previamente engrasado, la charola se cubrió con plástico autoadherible colocándola en fermentador (Infrico, F848) a 30°C por 40 min, 70% humedad relativa (HR), se hornearon (Hornos América, H3mil) a 180°C hasta su cocción. Las piezas de pan se enfriaron y desmoldaron para ser envasadas en bolsas de celofán termoselladas, se trasladaron al laboratorio multidisciplinario de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo para su posterior análisis.

2.3 Preparación de la muestra

Para los análisis químico proximales se tomaron tres piezas de pan de cada tratamiento una pieza por cada repetición, la muestra se tomó del centro del pan para pesarla de acuerdo con lo indicado para cada metodología empleada, se analizó el contenido de humedad, proteína cruda, grasa cruda, fibra, cenizas y los carbohidratos se obtuvieron por diferencia. La actividad de agua (a_w) y el análisis microbiológico se realizó a cuatro tiempos diferentes (0, 4, 8 y 12 días de almacenamiento). Las condiciones de almacenamiento fueron a temperatura ambiente (25°C – 27°C) en un estante de laboratorio para imitar las condiciones normales de almacenamiento en panadería, para el análisis sensorial del pan, se hicieron porciones de 4.5 g.

2.4 Determinación de la composición proximal en el pan de caja

El contenido de humedad, grasa bruta, proteína bruta, fibra bruta y el total de cenizas se determinaron de acuerdo con los métodos oficiales de análisis de AOAC International (AOAC, 2012). Los carbohidratos se determinaron por diferencia de peso.

2.4.1 Determinación del contenido de humedad (AOAC 925.10)

Se pesaron 5 g de cada tratamiento (pan control, pan1 y pan3) en cápsulas de aluminio puestas previamente a peso constante en una estufa de aire caliente marca FELISA

(modelo 242a) a 100°C por 24 h. Después de este tiempo las cápsulas con las muestras secas y calientes se colocaron en un desecador hasta que se enfriaran a temperatura ambiente, para después pesarlas frías, se utilizó la siguiente ecuación 1 para determinar el contenido de humedad:

Ecuación 1.

$$\% \text{ Humedad} = \left[\frac{w1 - w2}{w} \right] * 100$$

Donde:

w1= peso de la capsula más muestra húmeda

w2= peso de la capsula más muestra seca

w= peso de la muestra

2.4.2 Determinación de cenizas AOAC (923.03)

En un crisol de porcelana a peso constante y pesado en frío con anticipación, fueron colocados 5 g de las muestras, los cuales fueron calcinadas a fuego directo, montando un aro con tripie y un triángulo de porcelana, una vez que ya no se desprendieron humos negros de la muestra, los crisoles se colocaron en la mufla de marca FELISA (modelo FE-36) a 600°C durante 3 h, transcurrido este tiempo, los crisoles fueron puestos en un desecador para que se enfriaran a temperatura ambiente y fueron pesados, para obtener el contenido de cenizas se utilizó la siguiente ecuación:

Ecuación 2.

$$\% \text{ cenizas} = \left[\frac{w1-w2}{w} \right] * 100$$

Donde:

w1= peso del crisol más muestra calcinada

w2= peso del crisol

w= peso de la muestra

2.4.3 Determinación de proteínas AOAC (929.87)

El contenido de proteína fue realizado por el método Kjeldhal, el cual consistió en pesar 1 g aproximadamente de muestra, envuelta en plástico autoadherible libre de nitrógeno, se colocaron en los tubos Kjeldhal a los cuales se les adicionaron 5 g de mezcla digestora (Sulfato de potasio y sulfato cúprico pentahidratado) junto con 15 mL

de ácido sulfúrico concentrado (H₂SO₄). Los tubos fueron llevados al digestor, terminado el tiempo de este proceso (de 4-6 h), se dejaron enfriar los tubos, se les agregaron 10 mL de agua destilada a cada uno y se procedió a destilarlos, agregando 5 mL de una solución de NaOH al 35% (p/v), la solución de amoníaco se recibió en un matraz Erlenmeyer que contenía 50 mL de ácido bórico al 2% y 3 gotas de rojo de metilo como indicador, la titulación se realizó con una solución de ácido sulfúrico 0.1 N hasta el vire. Se utilizó la ecuación 3 para determinar el porcentaje de nitrógeno y la ecuación 4 para calcular el contenido de proteína.

Ecuación 3.

$$\% \text{ nitrógeno} = \left[\frac{(w1-w2)(w3)(w4)}{w} \right] * 100$$

Donde:

w1= gasto de titulación

w2= gasto del blanco

w3= normalidad del ácido utilizado

w4= 0.014 mEq de nitrógeno

w= peso de la muestra

El porcentaje de proteínas se obtuvo multiplicando el porcentaje de nitrógeno obtenido por el factor 6.25

Ecuación 4.

$$\% \text{ proteína} = (\% \text{ nitrógeno})(6.25)$$

2.4.4 Determinación de grasa cruda AOAC (920.39)

La determinación de grasa cruda fue realizada en un equipo automatizado Büchi (E – 812/E – 816 HE). El cual consistió en colocar los vasos Büchi a peso constante en la estufa de secado durante 24 h a 100°C y enfriados en un desecador a temperatura ambiente para posteriormente pesarlos, la muestra sin humedad fue colocada en un cartucho de celulosa, la extracción fue realizada con éter de petróleo como solvente, el equipo fue programado con 2 h y 30 min para el proceso de extracción, 30 min para el proceso de lavado y 30 min para el proceso de secado, una vez terminado el programa, los vasos Büchi fueron retirados del equipo y se pusieron en la estufa sin cerrarla por completo, para evaporar el solvente residual de la muestra, se colocaron

en un desecador para su enfriado a temperatura ambiente y posteriormente pesarlos y determinar el contenido por diferencia de peso.

Ecuación 5.

$$\% \text{ grasa cruda} = \left[\frac{w_1 - w_2}{w} \right] * 100$$

Donde:

w_1 = peso del vaso con grasa

w_2 = peso del vaso

w = peso de la muestra utilizada en la determinación de humedad

2.4.5 Determinación de fibra cruda AOAC (962.09)

Se emplearon vasos Berzelius en los que se introdujeron las muestras (pan control, pan1 y pan3) desgrasadas y sin humedad junto con 200 mL de ácido sulfúrico 0.225 N, los vasos fueron colocados en el equipo LABCONCO (LAC300001-00) a ebullición ácida por 30 min. Se monto un equipo para filtración. Una vez terminados los 30 min de la ebullición ácida se vació el contenido de los vasos Berzelius en la tela, realizando lavados con agua destilada y 15 mL de hidróxido de sodio hasta tener pH neutro. La muestra contenida en el trozo de tela se exprime y se retira con ayuda de una espátula para regresarla nuevamente al vaso Berzelius y ponerla a ebullición con 200 mL de hidróxido de sodio, para filtrar nuevamente, la tela se debe de enjugar con agua destilada y a la muestra se lava con suficiente agua destilada y 25 mL de alcohol etílico. La muestra exprimida y recuperada se coloca en un crisol de porcelana a peso constante, el cual es llevado al horno de secado marca FELISA (modelo 242A) a 100°C por 2 h, posteriormente se colocan en un desecador para que se enfríen y pesen y por último se introducen en una mufla marca FELISA (modelo FE-36) a 600°C por 30 min, se pasan a un desecador para que se enfríen a temperatura ambiente para pesarlos. Se utilizo la ecuación 6 para determinar el contenido de fibra cruda.

Ecuación 6.

$$\% \text{ fibra cruda} = \left[\frac{w_1 - w_2}{w} \right] * 100$$

Donde:

w_1 = peso crisol con la muestra seca

w_2 = peso crisol con la muestra calcinada

w= peso de la muestra utilizada en la determinación de humedad

2.4.6 Determinación de carbohidratos disponibles

El porcentaje de carbohidratos disponibles se calculó restando los contenidos totales de humedad, cenizas totales, proteína, grasa y fibra brutas del 100%:

Ecuación 7.

$$\% \text{ carbohidratos disponibles} = 100 - (\%h + \%c + \%pc + \%gc + \%fc)$$

Donde:

h=humedad

c=cenizas

pc=proteína cruda

gc=grasa cruda

fc=fibra cruda

2.4.7 Contenido de energía bruta

El contenido de energía bruta se determinó mediante el cálculo de los contenidos de grasa y proteína bruta, carbohidratos utilizando los factores de conversión de Atwater (Bulbula y Urga, 2018). La expresión matemática es la siguiente:

Ecuación 8.

$$\text{Energía bruta (Kcal/g)} = \left(\frac{4\text{Kcal}}{g} * \%pc \right) + \left(\frac{9\text{Kcal}}{g} * \%gc \right) + \left(\frac{4\text{Kcal}}{g} * \%cd \right)$$

Donde:

pc=proteína cruda

gc=grasa cruda

cd=carbohidratos disponibles

2.5 Determinación de la actividad de agua (a_w) en el pan

La actividad de agua (a_w) se determinó con el equipo Aqua Lab Series 4TE, Decagon Devices, Inc., (NE Hopkins Ct., Pullman, WA, EE. UU.). El análisis se realizó por triplicado a los 0, 4, 8 y 12 días de almacenamiento (Wanjuu *et al.*, 2018).

2.6 Análisis microbiológico del pan

Para este análisis las muestras de los tratamientos pan control, pan1 y pan3 se tomaron aleatoriamente durante el tiempo de almacenamiento de 0, 4, 8, y 12 días, posteriormente se hicieron determinaciones por duplicado, por el método de vaciado en placa, de recuento total de coliformes (AOAC 966.24; NOM-113-SSA1-1994), cuantificación de bacterias mesófilas aerobias (NOM-092-SSA1-1994), determinación de bacterias ácido lácticas (Teleky *et al.*, 2020) y determinación de mohos y levaduras (Bonnet *et al.*, 2019). La preparación y dilución de las muestras, se llevó a cabo mediante la NOM-110-SSA1-1994. En la figura 1 se establece el diagrama de flujo para los análisis microbiológicos en alimentos. Se tomó 10 g de pan y se mezcló con 90 mL de agua peptonada (dilución 1:10), se realizaron diluciones seriadas base 10 con agua peptonada estéril, para la dilución 10^{-1} , se tomó 1 mL de la dilución y se mezcló con 9 mL de agua peptonada en un tubo de ensaye para la dilución 10^{-2} y así sucesivamente hasta obtener la dilución óptima de trabajo. 1 mL de la dilución deseada y se distribuyó uniformemente junto con el agar en cajas Petri estériles. Las placas se incubaron a 37 °C con la tapa hacia arriba en estufa regulada y monitoreada después de este tiempo se realizó el conteo de colonias.

2.6.1 Cálculo para el recuento de UFC en alimentos

Para que el recuento de colonias sea válido, se deben de elegir las cajas que contengan de 30 a 250 ufc/mL. El número de microorganismos N presentes en la muestra para análisis se realiza el cálculo como la media corregida de dos diluciones consecutivas, utilizando la ecuación 9.

Ecuación 9.

$$N = \left[\frac{\Sigma c}{V * 1.1 * d} \right]$$

Donde

Σc = es la suma de las colonias contadas en dos placas de las dos diluciones consecutivas, de las cuales al menos una contiene un mínimo de 30 colonias

V= es el volumen de inóculo utilizado en cada placa, en mL

d= es la dilución correspondiente a la primera dilución elegida

2.7 Prueba sensorial afectiva de nivel de agrado

La prueba se realizó con 110 consumidores de diferentes localidades del Estado de Hidalgo, se llevó a cabo en el Instituto de Ciencias Agropecuarias (ICAp) de la

Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. La población objeto de estudio para el análisis de pan de caja adicionado con harina de semillas de papaya, comprendió edades de 18-24 años en un 72.47%, de 25-31 años en 4.58%, de 31-37 años en 4.58%, 38-43 años en un 5.50%, de 44-60 años en un 4.58% y 61-67 años con 8.25%. El 69.72% de los participantes fueron mujeres y el 30.28% hombres. Se realizó una prueba afectiva empleando una escala hedónica escrita de siete puntos correspondientes a distintos grados de satisfacción, equilibrados alrededor de un punto neutro, donde se le pide al consumidor marcar la respuesta que mejor refleje su opinión acerca del olor, sabor, color y suavidad (textura). A los participantes se les entregaron una serie de tres muestras, correspondiente al pan control Pan1 y Pan3. Las muestras fueron identificadas con códigos de tres dígitos aleatorios (Figura 1).

Sexo: F M

Edad: _____ Frecuencia de consumo de pan: _____

Instrucciones: frente a usted se encuentran 3 muestras de pan, favor de probarlas de izquierda a derecha, y anotar en el recuadro correspondiente el nivel de agrado, en relación a su olor, sabor, color y suavidad de cada muestra. No olvide tomar un poco de agua entre cada muestra. Si existe alguna observación, especifique el código. Gracias por su participación.

Olor	967	542	813	Observaciones
Me gusta mucho				
Me gusta moderadamente				
Me gusta poco				
No me gusta ni me disgusta				
Me disgusta poco				
Me disgusta moderadamente				
Me disgusta mucho				

Color	967	542	813	Observaciones
Me gusta mucho				
Me gusta moderadamente				
Me gusta poco				
No me gusta ni me disgusta				
Me disgusta poco				
Me disgusta moderadamente				
Me disgusta mucho				

Sabor	967	542	813	Observaciones
Me gusta mucho				
Me gusta moderadamente				
Me gusta poco				
No me gusta ni me disgusta				
Me disgusta poco				
Me disgusta moderadamente				
Me disgusta mucho				

Suavidad (Textura)	967	542	813	Observaciones
Me gusta mucho				
Me gusta moderadamente				
Me gusta poco				
No me gusta ni me disgusta				
Me disgusta poco				
Me disgusta moderadamente				
Me disgusta mucho				

Figura 1. Formato para la prueba hedónica sensorial de pan adicionado con harina de semillas de papaya (HSPa).

2.8 Análisis estadístico

Los datos experimentales se sometieron a evaluación estadística mediante análisis de varianza (ANOVA) seguido de la prueba de Tukey para determinar las diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las características de nutrición del pan de las diversas formulaciones. Para el análisis de los datos obtenidos en la aceptación sensorial del pan se aplicó una prueba del nivel de agrado en escala de Likert ($\alpha = 0.87$). Los análisis se realizaron utilizando el software estadístico SPSS 26.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL, EE. UU.).

3. Resultados y discusión

3.1. Composición proximal del pan

La tabla 2 muestra la composición aproximada de los tratamientos de pan de caja elaborados con la harina de trigo y harina de semillas de papaya. En esta investigación el contenido de humedad varió significativamente ($p < 0.05$), con el valor inferior se observó en el pan de caja (24.36%) y el valor superior lo tuvo el pan con 15% de HSPa (36.90%). Estos resultados son similares a los encontrados por Amandikwa *et al.* (2015), quienes realizaron un pan a base de harinas compuestas de yuca y trigo, obteniendo valores de 26.82% y 38.90% utilizando un alto porcentaje de sustitución de harina de yuca (25% y 75%). Mientras que Kure *et al.* (2021), reportan un menor contenido de humedad de 23.80% y 30.83% (con 2.5% y 12.5 % de sustitución, respectivamente) en pan compuesto de harina de semillas de papaya, valores inferiores a los encontrados en este estudio, ya que utilizaron menos cantidad de harina de semilla de papaya. El alto contenido de humedad en el pan con HSPa probablemente se atribuya a la capacidad de retención de agua en harinas compuestas de trigo y semillas de esta fruta, como lo demostraron Mérida *et al.* (2023), así como al contenido de fibra en esta harina (24.46%). Afzal *et al.* (2016), determinaron que los altos contenidos de fibra son responsables de una mayor cantidad de absorción de agua. Por otro lado, el contenido de humedad relativamente bajo en el pan blanco puede deberse a la baja capacidad de unión del almidón en la harina de trigo, lo que resulta en una pérdida excesiva de humedad durante el horneado (Kotoki y Deka, 2010). La Norma Oficial Mexicana NOM-F-159-S-1979 determinó 30% como mínimo y 38% de humedad para pan blanco de caja.

Tabla 2. Análisis químico proximal de pan de caja elaborado con harina de trigo y harina de semillas de papaya.

Parámetro (%)	Tratamientos		
	Control	Pan1	Pan3
Humedad	24.36 ±4.217 ^a	33.61±3.534 ^b	36.90±2.966 ^b
Cenizas	1.05±0.050 ^a	1.19±0.023 ^a	1.95±0.081 ^b
Proteína cruda	8.69±0.259 ^a	10.33±0.046 ^b	11.55±0.416 ^c
Grasa cruda	3.50±0.648 ^a	4.25±0.232 ^a	7.40±0.979 ^b
Fibra cruda	0.04±0.019 ^a	0.38±0.105 ^a	2.37±0.623 ^b
¹ Carbohidratos	61.61±3.616 ^a	50.99±3.245 ^b	39.84±2.703 ^c
Energía bruta (Kcal)	312.62±15.70 ^a	283.52±18.67 ^b	272.11±10.03 ^b

Valores promedio de tres repeticiones (n=3) con desviación estándar (±). ¹ valor de carbohidratos obtenido por diferencia. Control= 100% harina de trigo. Pan1= 95% harina de trigo + 5% harina de semillas de papaya. Pan3= 85% harina de trigo + 15% harina de semillas de papaya. Valores con diferentes letras en la misma fila ^{abcd} son significativamente diferentes p<0.05.

El contenido de cenizas es equivalente al contenido total de minerales en los alimentos. La harina de semillas de papaya tiene una considerable cantidad de cenizas 6.59% (Mérida *et al.*, 2023), y un aumento en la tasa de suplementación aumentó el porcentaje de este parámetro en el pan. Los valores observados en el presente estudio variaron de 1.05% en pan control a 1.95% en pan con 15% de harina de semillas de papaya. Kure *et al.* (2021), reportan valores superiores de 1.59 a 3.0% en su investigación.

El contenido de proteína en los tratamientos osciló entre 11.55% en pan3 (15% de sustitución de HSPa), 10.33% en pan1 (5% de HSPa) y 8.69% en pan control, mostrando diferencias significativas entre los tratamientos (p<0.05). Estos resultados fueron similares a los reportados por Malavi *et al.* (2022), quienes realizaron un estudio en pan elaborado con harina de camote amarillo y el contenido de proteínas (9.9% - 10.6%) tomando en cuenta que los porcentajes de sustitución fueron más altos en sus formulaciones. Por otra parte, los resultados de esta investigación fueron inferiores a los reportados por Kure *et al.* (2021), encontraron valores desde 13.74% a 17.71%.

Los lípidos son componentes importantes en la elaboración del pan, ya que brindan una variedad de propiedades beneficiosas durante el procesamiento y el

almacenamiento, lo que refleja su diversidad general. En el pan, los lípidos se originan a partir de múltiples ingredientes. Las tres fuentes principales de lípidos en una fórmula común de pan son la harina de trigo, la manteca vegetal y los tensioactivos (Pareyt *et al.*, 2011). El contenido de grasa cruda del pan en este estudio varió de 3.50% para el tratamiento control, 4.25% para el tratamiento pan1 y 7.40% para el tratamiento pan3, siendo significativamente diferentes ($p < 0.05$). Estos resultados obtenidos están en un rango inferior en comparación con Kure *et al.* (2021), que reportaron valores de 2.20–9.68% en sus tratamientos, sin embargo, Ali *et al.* (2020), realizaron una investigación en panes elaborados con semillas de *opuntia ficus-indica*, reportaron valores más bajos en el contenido de grasa cruda de 3.94% a 5.09% a los encontrados en esta investigación.

Los resultados obtenidos en el contenido de fibra cruda en el pan elaborado con harina de semillas de papaya oscilaron entre 2.37% para el pan3 (15% de HSPa) y 0.38% para el pan1 (5% de HSPa), hubo una diferencia significativa ($p < 0.05$) con el pan control que tuvo 0.04%. El porcentaje en el tratamiento pan3 fue superior en comparación con el pan formulado con harinas de trigo, maíz y camote de la investigación realizada por Igbabul *et al.* (2014), inclusive se obtuvieron valores más altos que los reportados por Omran *et al.* (2021), quienes elaboraron un pan con cascara de cebolla 0.60% a 1.28%. Sin embargo, el contenido de fibra en el tratamiento pan1 fue inferior en comparación con el valor reportado de 1.25% para la misma sustitución de harina de semillas de papaya informado por Kure *et al.*, (2021). Las diferencias en el contenido de fibra pueden deberse a las diferencias de composición varietal y de fibra entre los distintos sustitutos de la harina de trigo. Este estudio revela que el pan elaborado con harina de semillas de papaya es una fuente alimenticia adicional de fibra, por lo que, el consumo de este tipo de pan es benéfico ya que puede proporcionar fibra dietética esencial para la salud humana. La fibra también puede brindar beneficios para la salud del colon al actuar como un prebiótico para el microbioma intestinal (Singh *et al.*, 2017). El consumo de fibra también podría prolongar la saciedad después de las comidas (Soliman, 2019).

Los contenidos de carbohidratos disponibles y energía alimentaria bruta en los tratamientos oscilaron entre 50.99% (pan1) y 39.84% (pan3), entre 283.52 y 272.11 Kcal/100 g, respectivamente. En el pan control se observaron valores superiores para estos parámetros 61.61% y 312.62 Kcal/100 g, habiendo diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$). El contenido de carbohidratos en el pan en este estudio fue similar al estudio realizado por Kure *et al.* (2021), al aumentar el porcentaje de sustitución de harina de semillas de papaya disminuyó considerablemente el contenido de carbohidratos totales ($p < 0.05$). La inclusión de pan elaborado con harina de semillas de papaya en la dieta podría contribuir sustancialmente a los requerimientos energéticos diarios necesarios para las funciones metabólicas.

3.2 Actividad de agua (a_w) del pan

La actividad de agua es un factor significativo que influye en el crecimiento microbiano en los alimentos (Tapia *et al.*, 2008). Además de influir en la firmeza de la miga, esta variable es un factor de almacenamiento vital para el pan (Lazaridou *et al.*, 2007). Los resultados obtenidos en este análisis, se observa que en el pan control fue significativamente menor ($p < 0.05$) en comparación con el pan que contenía harina de semillas de papaya en diferentes porcentajes de sustitución (5% y 15%). Como se muestra en la tabla 3, en el tiempo 0, la actividad de agua en el pan tuvo una variación de entre 0.955 y 0.963. En el cuarto y octavo día de almacenamiento no hubo diferencias significativas entre los tratamientos. En el día 12 el pan3 presento el menor valor.

Tabla 3. Actividad de agua (a_w) en pan de caja elaborado con harina de trigo y sustitución parcial de harina de semillas de papaya durante el tiempo de almacenamiento (0, 4, 8, 12 días).

Tratamiento	a_w							
	0 días	T °C	4 días	T °C	8 días	T °C	12 días	T °C
Pan control	0.955±0.003 ^a	24.7	0.981±0.005 ^a	21.76	0.962±0.001 ^a	23.56	0.965±0.000 ^b	22.8
Pan1	0.963± 0.003 ^b	24.93	0.980±0.012 ^a	23.06	0.975±0.010 ^a	23.93	0.965±0.000 ^b	23.06
Pan3	0.963± 0.001 ^b	25.06	0.991±0.003 ^a	22.93	0.958±0.011 ^a	24.3	0.962±0.003 ^a	23.23

Valores promedio de tres repeticiones (n=3) con desviación estándar (±). Pan control= 100% harina de trigo. Pan1= 95% harina de trigo + 5% harina de semillas de papaya. Pan3= 85% harina de trigo + 15% harina de semillas de papaya. Valores con diferentes letras en la misma fila ^{ab} son significativamente diferentes p<0.05.

Hubo una disminución significativa en la a_w del pan con el aumento de la temperatura de almacenamiento tanto para el pan con HSPa como para el pan control ($p < 0.05$). Estudios previos realizados por Gray y Bemiller (2006), demostraron que el pan almacenado a temperaturas inferiores (19°C) se seca rápidamente, lo que acelera la tasa de envejecimiento. Estos valores otorgan condiciones propicias para la aparición de mohos y levaduras en el pan. Valores de a_w entre 0.98-0.93 implican que todos los microorganismos causantes de toxiinfecciones alimentarias pueden multiplicarse.

3.3 Calidad de conservación microbiana del pan con HSPa

La vida útil del pan es una gran limitación para toda la industria panadera, ya que el pan es propenso a la contaminación por moho debido a su contenido de humedad. En cuestión de días, la contaminación microbiana estropea el producto (Goel *et al.*, 2021).

Los perfiles de calidad microbiana del pan en el estudio se muestran en el tabla 4. Los recuentos de bacterias mesófilas aerobias en el pan con harina de semillas de papaya fueron significativamente más bajos ($p < 0.05$) en comparación con el pan control (figura 3). Los recuentos en el pan control oscilaron entre \log_5 3.6, \log_5 2.3 y \log_5 8.6 UFC/g, el pan1 entre \log_4 2.1, \log_5 2.7 y \log_5 2.8. En el pan3 entre \log_5 1.4, \log_5 1.1 y \log_5 2.8 UFC/g después de 4, 8 y 12 días de almacenamiento, respectivamente. Talukder *et al.* (2017), observaron el mismo comportamiento de crecimiento microbiano durante el almacenamiento en pan en la investigación que realizaron sobre la seguridad microbiana y la vida útil de pan y pasteles.

Tabla 4. Recuento en placa de bacterias mesófilas aerobias durante el tiempo de vida útil en pan de caja elaborado con harina de trigo y sustitución parcial de harina de semillas de papaya (HSPa).

Tratamiento	Bacterias mesófilas aerobias (UFC/g)			
	0 (días)	4 (días)	8 (días)	12 (días)
Pan control	\log_4 2.7	\log_5 3.6	\log_5 2.3	\log_5 8.6
Pan1	\log_4 2.2	\log_5 2.1	\log_5 2.7	\log_5 2.9
Pan3	\log_4 0.5	\log_5 1.4	\log_5 1.1	\log_5 2.8

Valores promedio de dos repeticiones ($n=2$). Control= 100% harina de trigo. Pan1= 95% harina de trigo + 5% harina de semillas de papaya. Pan3= 85% harina de trigo + 15% harina de semillas de papaya.

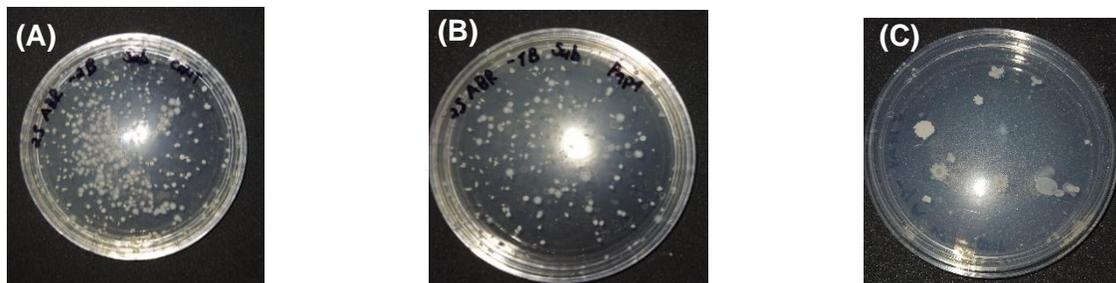


Figura 2. Recuento en placa de bacterias mesófilas aerobias en pan de caja elaborado con harina de trigo (HT) y sustitución parcial de harina de harina de semillas de papaya (HSPa). (A) Pan control=100% HT. (B) Pan1= 95% HT + 5% HSPa. (C) Pan3= 85% HT + 15% HSPa. Cero días de almacenamiento.

La tabla 5 muestra el efecto de la sustitución de la harina de semillas de papaya en 5 y 15% del recuento total de hongos (levadura y mohos) en pan durante el período de almacenamiento de doce días a temperatura ambiente (25°C). Los datos revelaron un aumento gradual de hongos conforme pasaron los días durante almacenamiento de todos los tratamientos (figura 7), en el pan control se observaron los recuentos más altos, fluctuaron entre \log_5 2.7, \log_6 4.0 y \log_6 1.8 UFC/g, el pan1 entre \log_5 1.0, \log_4 1.3 y \log_5 1.9 y el pa3 entre \log_4 2.3, \log_4 1.5 y \log_5 1.5 UFC/g. Los resultados obtenidos son similares a los reportados por Mossel *et al.* (1995), hacen mención de que los hongos son la forma más importante de microorganismos que causan deterioro en productos de panadería y en general en los alimentos se deterioran cuando contienen más de 10^5 UFC/ de mohos.

Se mostró una disminución en el recuento de hongos en el pan aumentando la concentración de harina de semillas de papaya durante el almacenamiento y esto puede deberse al contenido de compuestos bioactivos que tienen un efecto antifúngico (figura 4). Ijah *et al.* (2014), concluyeron que el deterioro en pan fue realizado por *Aspergillus flavus*, *Penicillium* sp., *Rhizopus stolonifer* y *Mucor mucedo* que condujo a su deterioro después de 6-8 días y forma un color negro, amarillo y verde en el pan, resultados similares se obtuvieron en este análisis como se puede observar en la figura 7. Existen algunas investigaciones con extractos de semillas de papaya es los que determinan los compuestos bioactivos de estas, clasificándolos mayoritariamente como ésteres metílicos de ácido grasos, amidas heterocíclicas y compuesto fenólicos que tienen mecanismos en la inducción de actividad antifúngica ya que fueron probados contra *Rhizopus stolonifer*, *Fusarium* spp., *Colletotrichum gloeosporioides*, *Aspergillus flavus*, *Candida albicans* (Chávez-Quintal *et al.*, 2011; Abd El-Zaher, 2014; Siamngunsong *et al.*, 2022).

Tabla 5. Recuento en placa de hongos y levaduras durante el tiempo de vida útil de pan de caja elaborado con harina de trigo y con sustitución parcial de harina de semillas de papaya (HSPa).

Tratamiento	Hongos y levaduras (UFC/g)			
	0 (días)	4 (días)	8 (días)	12 (días)
Pan control	Log ₄ 5.1	Log ₅ 2.7	Log ₆ 4.0	Log ₆ 1.8
Pan1	Log ₄ 3.0	Log ₅ 1.0	Log ₄ 1.3	Log ₅ 1.9
Pan3	Log ₄ 2.0	Log ₄ 2.3	Log ₄ 1.5	Log ₅ 1.5

Valores promedio de dos repeticiones (n=2). Control= 100% harina de trigo. Pan1= 95% harina de trigo + 5% harina de semillas de papaya. Pan3= 85% harina de trigo + 15% harina de semillas de papaya.

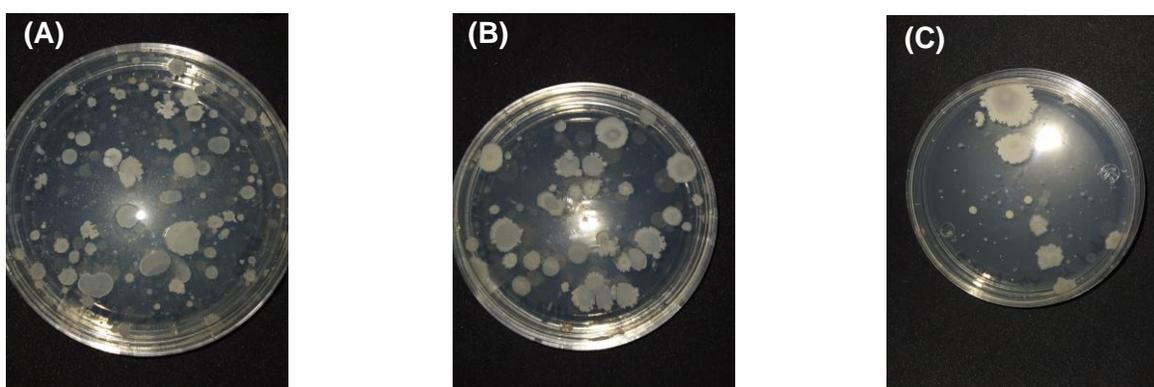


Figura 3. Recuento en placa de hongos y levaduras en pan de caja elaborado con harina de trigo (HT) y sustitución parcial de harina de semillas de papaya (HSPa). (A) Pan control=100% HT. (B) Pan1= 95% HT + 5% HSPa. (C) Pan3= 85% HT + 15% HSPa. Cuatro días de almacenamiento.

Como se muestra en la tabla 6 el recuento de bacterias ácido lácticas en pan3 (15% HSPa) obtuvo la mayor cantidad de UFC/g de log₅ 2.2, Log₆ y log₅ 1.6 UFC/g en comparación con el pan control que tuvo Log₄ 1.2, Log₄ 4.2 y < 100 UFC/g para los 4, 8 y 12 días de almacenamiento. De acuerdo con la formulación de los tratamientos no llevan cultivos iniciadores de BAL (tabla 1), probablemente provengan de la harina de trigo, ya que los granos de trigo están naturalmente contaminados con microorganismos que luego pueden estar presentes en las harinas (Corsetti *et al.*, 2007). Los microorganismos que contaminan los cereales se concentran generalmente en las capas externas de los granos y tienden a permanecer en fracciones ricas en salvado durante la molienda. En consecuencia, la harina obtenida de la molienda teóricamente debería contener una carga bacteriana menor que las carioopsis, pero la fase de acondicionamiento posterior puede aumentar el contenido microbiano de la harina (Berghofer *et al.*, 2003). Entre las poblaciones microbianas asociadas con los granos de trigo, las bacterias ácido lácticas protecnológicas (BAL) se detectan a menudo (Corsetti *et al.*, 2007) y también se encuentran en las harinas de trigo (Russo *et al.*, 2010).

La figura 5 (A) corresponde al pan control y se puede observar contaminación en la placa y poco crecimiento de BAL, la placa (B) corresponde al tratamiento pan1 con 5% de sustitución de HSPa y la contaminación disminuyo considerablemente y mejoro el crecimiento de BAL, la placa (C) es del tratamiento pan3 con 15% de HSPa sin contaminación y buen crecimiento de bacterias, estos resultados observados, probablemente sean a la acción del isotiocianato de bencilo (BITC) de la harina de semillas de papaya, Li *et al.* (2012), determinaron el contenido de bencil glucosinolatos en pulpa y semillas de *Carica papaya*. Por otra parte, Nazareth *et al.* (2016), utilizaron isotiocianato de alilo (AITC) gaseoso para inhibir la producción de aflatoxinas en harina de trigo, concluyeron que AITC podría usarse como conservador natural en envases inteligentes para mejorar la seguridad alimentaria de las harinas. Finalmente, Bartkiene *et al.* (2022), mencionan que una aplicación muy prometedor de BAL es su uso en combinación con ingredientes de origen vegetal o animal para aumentar las propiedades funcionales de toda la combinación debido a los diferentes mecanismos de acción, así como la actividad simbiótica deseable.

Tabla 6. Recuento en placa de bacterias ácido lácticas durante el tiempo de vida útil de pan de caja elaborado con harina trigo y sustitución parcial de semillas de papaya (HSPa).

Tratamiento	Bacterias ácido lácticas (UFC/g)			
	0 (días)	4 (días)	8 (días)	12 (días)
Pan control	<100	Log ₄ 1.2	Log ₄ 4.2	<100
Pan1	<100	Log ₅ 1.6	Log ₆ 1.8	Log ₅ 1.2
Pan3	<100	Log ₅ 2.2	Log ₆ 2.7	Log ₅ 1.6

Valores promedio de dos repeticiones (n=2). Control= 100% harina de trigo. Pan1= 95% harina de trigo + 5% harina de semillas de papaya. Pan3= 85% harina de trigo + 15% harina de semillas de papaya

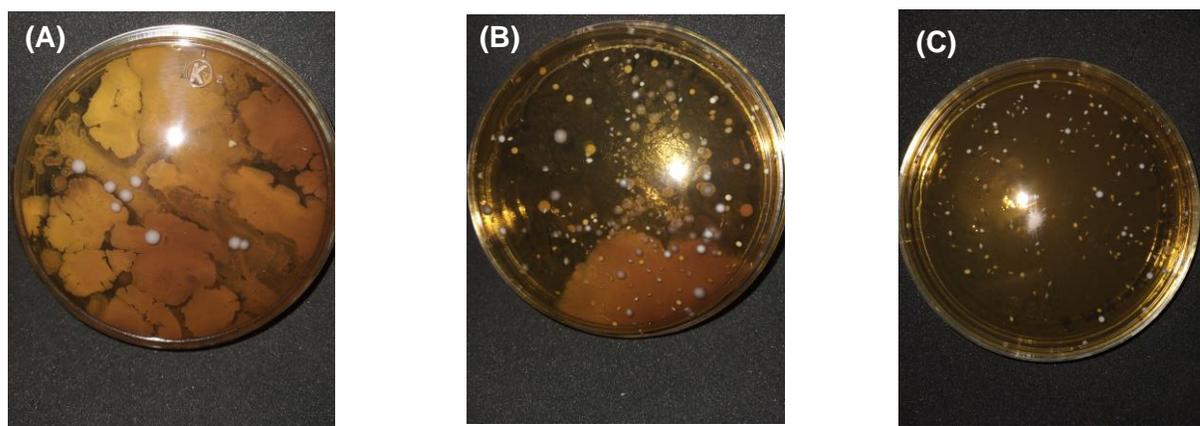


Figura 4. Recuento en placa de bacterias ácido lácticas en pan de caja elaborado con harina de trigo (HT) y sustitución parcial de harina de semillas de papaya (HSPa). (A) Pan control=100% HT. (B) Pan1= 95% HT + 5% HSPa. (C) Pan3= 85% HT + 15% HSPa. Doce días de almacenamiento.

Los datos obtenidos del recuento para coliformes totales se observan en la tabla 7, el pan control tuvo el conteo superior de todos los tratamientos, los valores fueron de \log_5 4.1, \log_2 5.2 y <100 UFCUFC/g. el pan1 con 5% de HSPa tuvo <100 , \log_2 1.4 y <10 UFC/g a los 4, 8 y 12 días de muestreo. El pan3 con 15% de HSPa no hubo crecimiento de coliformes (figura 6). Masfufatun *et al.* (2019), Amin *et al.* (2019), realizaron ensayos fitoquímicos de extractos etanolicos de semillas de papaya, mostraron que había alcaloides, flavonoides, esteroides, polifenoles, taninos y saponinas, probando su efecto contra hongos y bacterias. Xu *et al.* (2019), informan que en productos horneados aumenta la propiedad antimicrobiana con la adición de compuestos fenólicos, también se mejoran los beneficios para la salud y extendiendo la vida útil del pan.

Tabla 7. Recuento en placa de coliformes totales durante el tiempo de vida útil de pan de caja elaborado con harina trigo y sustitución parcial de semillas de papaya (HSPa).

Tratamiento	Coliformes totales (UFC/g)			
	0 (días)	4 (días)	8 (días)	12 (días)
Pan control	<100	\log_5 4.1	\log_2 5.2	<100
Pan1	<10	<100	\log_2 1.4	<10
Pan3	ND	ND	ND	ND

Valores promedio de dos repeticiones (n=2). Control= 100% harina de trigo. Pan1= 95% harina de trigo + 5% harina de semillas de papaya. Pan3= 85% harina de trigo + 15% harina de semillas de papaya.

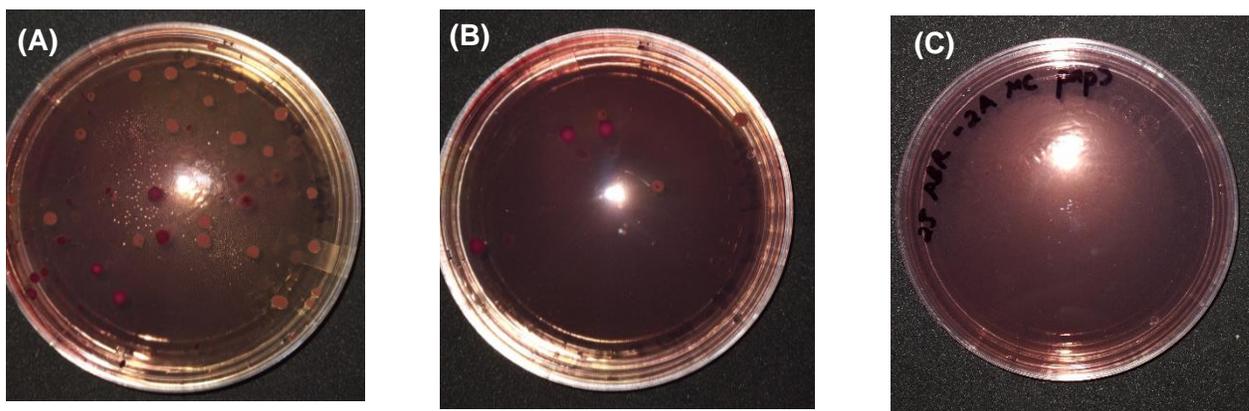


Figura 5. Recuento en placa de bacterias coliformes totales en pan de caja elaborado con harina de trigo (HT) y sustitución parcial de harina de semillas de papaya (HSPa). (A) Pan control=100% HT. (B) Pan1= 95% HT + 5% HSPa. (C) Pan3= 85% HT + 15% HSPa. Cuatro días de almacenamiento.

3.4 Análisis sensorial

El proceso de sustitución en la elaboración de pan con HSPa derivó en la variación de los parámetros de olor, sabor, color y suavidad (relacionada a la textura). Como se puede observar en la figura 6, desde el punto de vista olfativo el pan control (código 813) obtuvo la mayor puntuación con 5.3 ± 1.36 seguido del pan1 (código 967) con 5% de HSPa con 4.3 ± 1.69 y el pan3 (código 542) con 15% de HSPa con 3.9 ± 1.71 .

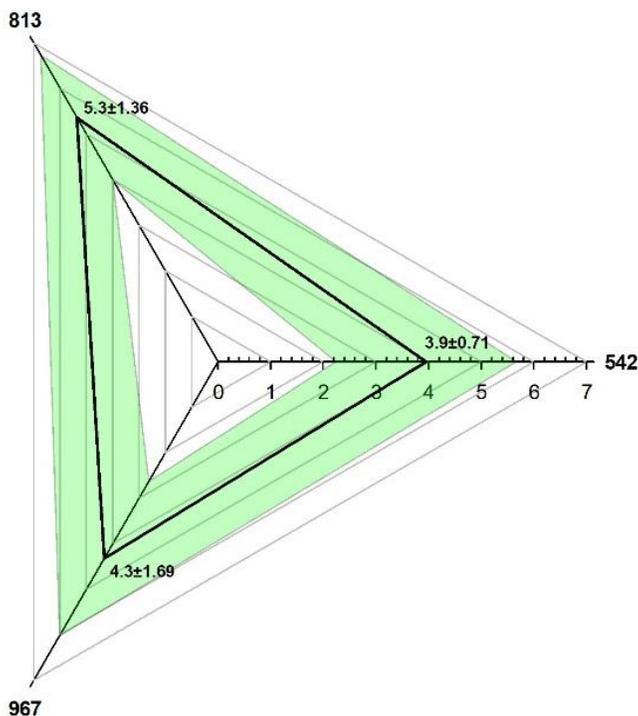


Figura 6. Evaluación sensorial del olor en pan adicionado con HSPa. Código 813= Pan control 100% HT. Código 967= pan1 95% HT, 5% HSPa. Código 542= pan3 85% HT, 15% HSPa. Datos mostrados con \pm desviación estándar (n=110).

La figura 7 representa, el atributo de color, el pan control mostró una mejor uniformidad en este parámetro con una puntuación de 5.9 ± 1.17 los encuestados no percibieron diferencias en este parámetro entre el pan1 y el pan3, 4.5 ± 1.50 y 4.6 ± 1.69 respectivamente, ya que por la naturaleza de la HSPa se percibió el color achocolatado de los panes evaluados.

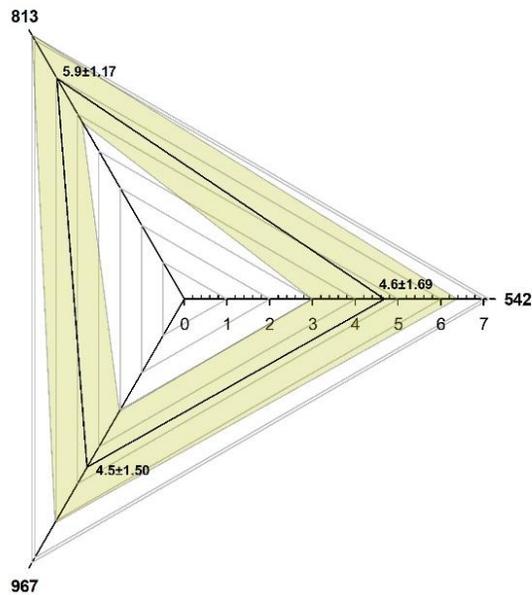


Figura 7. Evaluación sensorial del color en pan adicionado con HSPa. Código 813= Pan control 100% HT. Código 967= pan1 95% HT, 5% HSPa. Código 542= pan3 85% HT, 15% HSPa. Datos mostrados con \pm desviación estándar (n=110).

Las sensaciones gustativas más influenciadas por la sustitución de harina de trigo por harina de semillas de papaya (HSPa) fueron el picor y el amargor. En particular, se percibieron más en el pan3 (3.4 ± 1.91), siendo más amargo y pungente en comparación con la muestra control (5.4 ± 1.32). Sin embargo, como se observa en la figura 9, el puntaje inferior se registró para el pan 542 suplementado con 15% de HSPa.

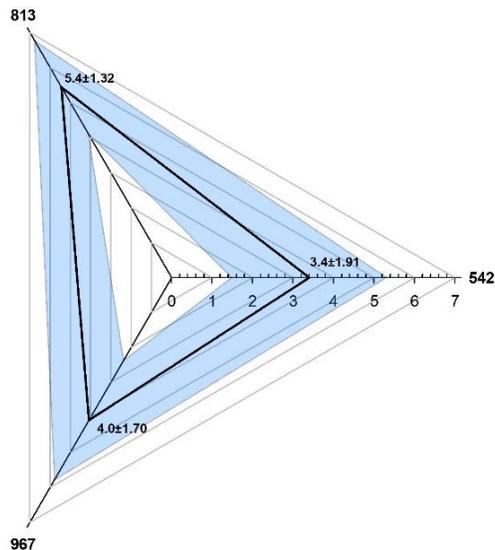


Figura 8. Evaluación sensorial del sabor en pan adicionado con HSPa. Código 813= Pan control 100% HT. Código 967= pan1 95% HT, 5% HSPa. Código 542= pan3 85% HT, 15% HSPa. Datos mostrados con \pm desviación estándar (n=110).

En la figura 9 se muestran los resultados de la evaluación de la suavidad de los panes, en este parámetro hubo ligeras variaciones en la percepción de los encuestados, el

pan control tuvo una puntuación de 6.0 ± 1.18 , para el pan con 5% de sustitución de HSPa la puntuación fue de 5.3 ± 1.54 y para el pan con 15% de sustitución fue de 5.2 ± 1.57 . El porcentaje de sustitución de HSPa en el pan, no influyó en este parámetro.

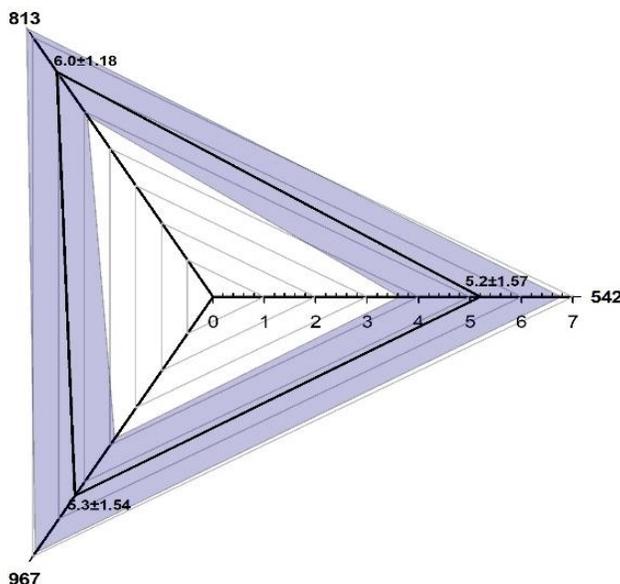


Figura 9. Evaluación sensorial de la suavidad en pan adicionado con HSPa. Código 813= Pan control 100% HT. Código 967= pan1 95% HT, 5% HSPa. Código 542= pan3 85% HT, 15% HSPa. Datos mostrados con \pm desviación estándar (n=110).

En la figura 10, se muestran en resumen todos los atributos sensoriales utilizados para evaluar los tratamientos de manera simultánea y general, coincidiendo con los resultados de la prueba de Likert, de los 7 puntos de escala de valoración (me gusta mucho, me gusta moderadamente, me gusta poco, no me gusta ni me disgusta, me disgusta poco, me disgusta moderadamente y me disgusta mucho), los porcentajes más altos los tuvo el pan control (código 813) con 33%, 31%, 18%, 11%, 4%, 2% y 1%. El pan1(código 967) con 14%, 19%, 23%, 17%, 15%, 6% para los últimos dos niveles y finalmente el pan3 (código 542) tuvo 10%, 9%, 14%, 16%, 20%, 19% y 13%, respectivamente. Tebben *et al.* (2018), mencionan que las características del pan de trigo como atributos físicos de textura, color y volumen se encuentran entre los parámetros más importantes tomados en cuenta por los consumidores.

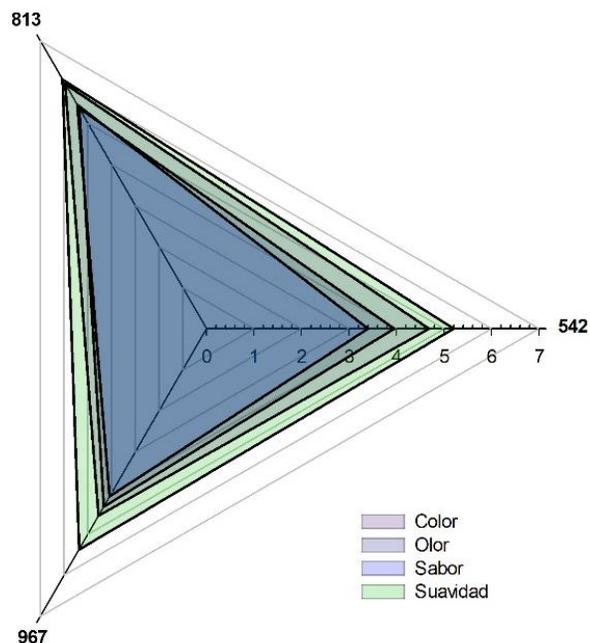


Figura 10. Evaluación sensorial global en pan adicionado con HSPa. Código 813= Pan control 100% HT. Código 967= pan1 95% HT, 5% HSPa. Código 542= pan3 85% HT, 15% HSPa. Datos mostrados con \pm desviación estándar (n=110).

4. Conclusiones

La incorporación de harina de semillas de papaya (HSPa) a la harina de trigo mejoró el valor nutricional del pan, elevando el contenido de proteínas y fibra, disminuyendo el aporte de carbohidratos, los resultados mostraron que a mayor porcentaje de sustitución menor fue la energía bruta calórica. En la vida útil del pan, los mohos comunes en el medio ambiente contaminaron el pan y provocaron su deterioro después de 4 a 8 días; sin embargo, la harina de semillas de papaya no afectó el crecimiento de la bacterias ácido lácticas pero si el desarrollo de bacterias coliformes. De acuerdo con los resultados mostrados de la evaluación sensorial indicaron que el pan3 con 15% de HSPa fue aceptable para el consumidor sin comprometer características sensoriales de olor, color, sabor y suavidad.

5. Referencias bibliográficas

Abd El-Zaher, E. H. (2014). Antifungal Activity of *Carica papaya* Seed Extract Against *Aspergillus flavus* as Serious Mycotoxins Producing Organism and Causal Organism for Aspergillosis. Egyptian Journal of Experimental Biology, 10(1); 51–62 Corpus ID: 82994647

Afzal, B., Pasha, I., Zahoor, T., Nawaz, H. (2016). Nutritional potential of fenugreek supplemented bread with special preference to antioxidant profiling. *Pakistan Journal and Agricultural Science*. 53 (1), 217–223. <https://doi.org/10.21162/PAKJAS/16.4664>

Ali, R. F. M., El-Anany, A. M., Mousa, H. M., Hamad, E. M. (2020). Nutritional and sensory characteristics of bread enriched with roasted prickly pear (*Opuntia ficus-indica*) seed flour. *Food and Function*, 11(3), 2117–2125. <https://doi.org/10.1039/C9FO02532D>

Amandikwa, C., Iwe, M.O., Uzomah, A., Olawuni, A.I. (2015). Physico-chemical properties of wheat-yam flour composite bread. *Niger Food Journal*. 33, 12–17. <https://doi.org/10.1016/j.nifoj.2015.04.011>

Amin AH, Bughdadi FA, Abo-Zaid MA, Ismail AH, El-Agamy SA, Alqahtani A, El-Sayyad HHH, Rezk BM, Ramadan MF. Immunomodulatory effect of papaya (*Carica papaya*) pulp and seed extracts as a potential natural treatment for bacterial stress. *Journal of Food Biochemistry*. 2019 Dec;43(12): e13050. Doi: 10.1111/jfbc.13050. Epub 2019 Oct 1. PMID: 31571245.

Aranibar, C., Pigni, BN., Martinez, M., Aguirre, A., Ribotta, P., Wunderlin, D., Borneo, R. (2018). Utilization of a partially-deoiled chia flour to improve the nutritional and antioxidant properties of wheat pasta, *LWT Food Science and Technology*, Volume 89, Pages 381-387, ISSN 0023-6438, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.11.003>.

Association of Official Analytical Chemists (AOAC). (2012). *Official Methods of Analysis*, 15th ed.; AOAC: Washington, DC, USA.

Bartkiene, E.; Özogul, F.; Rocha, J.M. (2022). Bread Sourdough Lactic Acid Bacteria—Technological, Antimicrobial, Toxin-Degrading, Immune System-, and Faecal Microbiota-Modelling Biological Agents for the Preparation of Food, Nutraceuticals and Feed. *Foods* 11, 452. <https://doi.org/10.3390/foods11030452>

Berghofer, L.K., Hocking, A.D., Miskelly, D., Jansson, E. (2003). Microbiology of wheat and flour milling in Australia, *International Journal of Food Microbiology*, Volume 85, Issues 1–2, Pages 137-149, ISSN 0168-1605, [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(02\)00507-X](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(02)00507-X).

Bonnet, M., Lagier, JC., Raoult, D., Khelaifia, S. (2019). Bacterial culture through selective and non-selective conditions: the evolution of culture media in clinical microbiology. *New Microbes New Infected*. 34:100622. Doi: 10.1016/j.nmni.2019.100622. PMID: 31956419; PMCID: PMC6961714.,

Bulbula, D.D., Urga, K. (2018). Study on the effect of traditional processing methods on nutritional composition and anti-nutritional factors in chickpea (*Cicer arietinum*). *Cogent Food Agriculture*. 4, 1422370. <https://doi.org/10.1080/23311932.2017.1422370>

Caleja, C., Barros, L., Barreira, J.C.M., Ciric, A., Sokovic, M., Calhelha, R.C., Oliveira, M.B.P.P., Ferreira, I.C.F.R. (2018). Suitability of *Melissa officinalis* L. extract rich in rosmarinic acid as a potential enhancer of functional properties in newly developed cupcakes. *Food Chemistry*. 250, 67–74.

Chávez-Quintal, P., González-Flores, T., Rodríguez-Buenfil, I. Gallegos-Tintoré, S. (2011). Antifungal Activity in Ethanolic Extracts of *Carica papaya* L. cv. Maradol Leaves and Seeds. *Indian Journal of Microbiology* 51, 54–60. <https://doi.org/10.1007/s12088-011-0086-5>

Corsetti, A., Settanni, L., Chaves López, Cl., Felis, G.E., Mastrangelo, M., Suzzi, G. (2007). A taxonomic survey of lactic acid bacteria isolated from wheat (*Triticum durum*) kernels and non-conventional flours, *Systematic and Applied Microbiology*, Volume 30, Issue 7, Pages 561-571, ISSN 0723-2020, <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2007.07.001>.

da Silva Veloso, F., Caleja, C., Calhelha, R. C., Pires, T. C., Alves, M. J., Barros, L., Genena AK., Barreira JCM, Ferreira ICFR. (2020). Characterization and application of pomegranate epicarp extracts as functional ingredients in a typical Brazilian pastry product. *Molecules*, 25(7), 1481. <https://doi.org/10.3390/molecules25071481>

Eriksson, E., Koch, K., Tortoe, C., Akonor, T.P., Oduro-Yeboah, C. (2014). Evaluation of the physical and sensory characteristics of bread produced from three varieties of cassava and wheat composite flours. *Food Public Health* 4, 214–222. Doi: 10.5923/j.fph.20140405.02

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2023). *Crop Prospects and Food Situation – Quarterly Global Report No. 1, March 2023*. Rome. <https://doi.org/10.4060/cc4665en> ISBN 27027-2223.

Goel, S., Singh, M., Grewal, S., Razzaq, A., Wani, S. H. (2021). Wheat Proteins: A Valuable Resources to Improve Nutritional Value of Bread. *Journal Frontiers in Sustainable Food Systems*. Volume 5, Doi: 10.3389/fsufs.2021.769681 ISSN=2571-581X

Gray, J. A., Bemiller, J. (2006). Bread staling: Molecular basis and control. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2(1), 1–21. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2003.tb00011.x>

Ijah, U.J.J., H.S. Auta, M.O. Aduloju and S.A. Aransiola (2014). Microbiological, nutritional and sensory quality of bread produced from wheat and potato flour blends. *Inter. Journal of Food and Science*. 1-6. <https://doi.org/10.1155/2014/671701>

Igbabul, B., Num, G., Amove, J. (2014). Quality Evaluation of Composite Bread Produced from Wheat, Maize and Orange Fleshed Sweet Potato Flours. *American Journal of Food and Science Technol.* 2, 109–115. doi:10.12691/ajfst-2-4-1

Kotoki, D., Deka, S.C. (2010). Baking loss of bread with special emphasis on increasing water holding capacity. *Journal of Food and Science Technol.* 47, 128–131. <https://doi.org/10.1007/s13197-010-0008-2>

Kure, O.A., Inelo, E.D., Donaldben, N.S. (2021). Effects of pawpaw (*Carica papaya*) seed flour addition on the quality of wheat bread. *Asian Food Science Journal*. 20 (4), 51–63. <https://doi.org/10.1006/JCRS.1997.0136>.

Lazaridou, A., Duta, D., Papageorgiou, M., Belc, N., Biliaderis, C.G. (2007). Effects of hydrocolloids on dough rheology and bread quality parameters in gluten-free formulations. *Journal of Food and Engineering*. 79, 1033–1047. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.03.032>

Li, ZY., Wang, Y., Shen, WT., Zhou, P. (2012). Content determination of benzyl glucosinolate and anti-cancer activity of its hydrolysis product in *Carica papaya* L. *Asian Pacific Journal Tropical Medicine*. 5:231–233. doi: 10.1016/S1995-7645(12)60030-3

Malavi, D., Mbogo, D., Moyo, M., Mwaura, L., Low, J., Muzhingi, T. (2022). Effect of Orange-Fleshed Sweet Potato Purée and Wheat Flour Blends on β -Carotene, Selected Physicochemical and Microbiological Properties of Bread. *Foods* 11, 1051. <https://doi.org/10.3390/foods11071051>

Martiasih, M., Sidharta, B B R., Atmodjo, P K. (2014). Antibacterial activity of extract papaya seeds (*Carica papaya* L.) againts *Escherichia coli* and *Streptococcus pyogenes* *Journal Penelitian*. Pp5–7

Masfufatun, N., Yani, PW., Putri., NPYK. (2019). Antimicrobial assay of papaya seed ethanol extract (*Carica papaya* Linn) and phytochemical analysis of its active compounds *Journal of Physical: Conf. Ser.* 1277 012018. Doi: 10.1088/1742-6596/1277/1/012018

Mérida, E.L., Soto, S.S., Martínez, V.M.J., Quintero, A.L., Piloni, M.J. (2023). Proximate chemical, functional, and texture characterization of papaya seed flour (*Carica papaya*) for the preparation of bread. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, Volume 31, 100675, ISSN 1878-450X, <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2023.100675>.

Mossel, D.A.A., Corry, J.E.L., Struijk, C.B., Baird, R.M. (1995). *Essential of the Microbiology of Foods: A Textbook for Advanced Studies*. John Wiley and Sons. Chichester, UK. ISBN: 0-471-93036-9

Nazareth, T.M., Bordin, K., Manyes, L., Meca, G., Mañes, J., Luciano, F.B., (2016). Gaseous allyl isothiocyanate to inhibit the production of aflatoxins, beauvericin and enniatins by *Aspergillus parasiticus* and *Fusarium poae* in wheat flour. *Food Control*, Volume 62, Pages 317-321, ISSN 0956-7135, <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.11.003>.

Nyangena, D.N., Mutungi, C., Imathiu, S., Kinyuru, J., Affognon, H., Ekesi, S., Fiaboe, K.K. (2020) Effects of Traditional processing Techniques on the Nutritional and Microbiological Quality of Four Edible Insect Species Used for Food and Feed in East Africa. *Foods*, 9, 574. <https://doi.org/10.3390/foods9050574>

Nguyen, T. P. T., Tran, T. T. T., Ton, N. M. N., Le, V. V. M. (2023). Use of Cashew Apple Pomace Powder in Pasta Making: Effects of Powder Ratio on the Product Quality. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 73(1), 50-58. <https://doi.org/10.31883/pjfns/159360>

Omran, A.A., Seleem, H.A., Alfauomy, G.A. (2021). Evaluation of pan bread quality enriched with onion. *Plant Archives*. Volume 20 No. 2, 2020 pp. 9029-9038 e-ISSN:2581-6063 (online), ISSN:0972-5210

Panzarini, E., Dwikat, M., Mariano, S., Vergallo, C., Dini, L. (2014). Administration Dependent Antioxidant Effect of *Carica papaya* Seeds Water Extract. Evidence-based complementary and alternative medicine. *eCAM*. 281508. 10.1155/2014/281508.

Pareyt, B., Finnie, S.M., Putseys, J.A., Delcour, J.A. (2011). Lipids in bread making: Sources, interactions, and impact on bread quality. *Journal of Cereal Science*. 54, 266–279. ISSN 0733-5210, <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2011.08.011>.

Russo, P., Beleggia, R., Ferrer, S., Pardo, I., Spano, G. (2010). A polyphasic approach in order to identify dominant lactic acid bacteria during pasta manufacturing, *LWT - Food Science and Technology*, Volume 43, Issue 6, Pages 982-986, ISSN 0023-6438, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.01.013>.

Salla, S., Sunkara, R., Ogutu, S., Walker, L. T., Verghese, M. (2016). Antioxidant activity of papaya seed extracts against H₂O₂ induced oxidative stress in HepG2 cells. *LWT – Food Science and Technology*, 66, 293–297. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.09.008>.

Secretaría de Salud. (1995, agosto 25). Norma Oficial Mexicana NOM-113-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa. *Diario Oficial de la Federación*. https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5398468

Secretaría de Salud. (1994, diciembre 12). Norma Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. *Diario Oficial de la Federación*. https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5398468

Secretaría de Salud. (1994, mayo 26). Norma Oficial Mexicana NOM-110-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos. *Diario Oficial de la Federación*. https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5398468

Secretaría de Patrimonio y Fomento Industrial. (1979, agosto 6). Pan blanco de caja. (Esta norma cancela la NOM-F-159-1967). Dirección General de Normas.- Departamento de Normalización Nacional. *Diario Oficial de la Federación*. https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5398468

Simangunsong, T.L., Putra, A., Ginting, S.F., Wardhani, F.M., Abdullah, H., Ikhtiari, R. (2022). Antifungal Analysis of Papaya Seed Extracts and Biosynthesized Silver Nanoparticles. *Science and Technology Indonesia*.

Singh, R.K., Chang, H.-W., Yan, D., Lee, K.M., Ucmak, D., Wong, K., Abrouk, M., Farahnik, B., Nakamura, M., Zhu, T.H., Bhutani, T. Liao, W. (2017). Influence of Diet on the Gut Microbiome and Implications for Human Health. *Journal of Translational Medicine*. 15, 73 <https://doi.org/10.1186/s12967-017-1175-y>

- Soliman, G.A. (2019). Dietary Fiber, Atherosclerosis, and cardiovascular disease. *Nutrients* 11, 1155. <https://doi.org/10.3390/nu11051155>
- Scarano, P., Sciarrillo, R., Tartaglia, M., Zuzolo, D., Guarino, C. (2022). Circular economy and secondary raw materials from fruits as sustainable source for recovery and reuse. A review, *Trends in Food Science & Technology*, Volume 122, Pages 157-170, ISSN 0924-2244, <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.02.003>.
- Talukder, M., Huq, A.K., Akter, N., Hossen, MU., Parvin, K. (2017). Investigation of Microbial Safety and Shelf-life of Locally Produced Bread and Cake in Tangail City, Bangladesh. *Journal of Environmental Science and Natural Resources*. 10. 81. 10.3329/jesnr.v10i1.34699.
- Tapia, M.S., Alzamora, S.M., Chirife, J. (2008). Effects of Water Activity (aw) on Microbial Stability: As a Hurdle in Food Preservation. In *Water Activity in Foods: Fundamentals and Applications*, 2nd ed.; John Wiley & Sons, Inc.: Hoboken, NJ, USA, pp. 239–271. <http://dx.doi.org/10.1002/9780470376454.ch10>
- Tebben, L., Shen, Y., and Li, Y. (2018). Improvers and functional ingredients in whole wheat bread: a review of their effects on dough properties and bread quality. *Trends Food Science Technology*. 81, 10–24. doi: 10.1016/j.tifs.2018.08.015
- Teleky, B-E., Martău, AG., Ranga, F., Chețan, F., Vodnar, DC. (2020). Exploitation of Lactic Acid Bacteria and Baker's Yeast as Single or Multiple Starter Cultures of Wheat Flour Dough Enriched with Soy Flour. *Biomolecules*. 10(5):778. <https://doi.org/10.3390/biom10050778>
- Wanjuu, C., Abong, G., Mbogo, D., Heck, S., Low, J., Muzhingi, T. (2018). The physicochemical properties and shelf-life of orange-fleshed sweet potato puree composite bread. *Food Science. Nutrition*. 6, 1555–1563 <https://doi.org/10.1002/2Ffsn3.710>
- Wang, J. S., Wang, A. B., Zang, X. P., Tan, L., Xu, B. Y., Chen, H. H., Jin, Z. Q. 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. Doi: 10.1016/j.foodchem.2019.02.098
- Xu, J., Wang, W., and Li, Y. (2019). Dough properties, bread quality, and associated interactions with added phenolic compounds: a review. *Journal of Functional Foods* 52, 629–639. doi: 10.1016/j.jff.2018.11.052
- Ying, K.C.J., Perveen, N., Paliwal, N., Khan, H.N. (2021). Phytochemical Analysis, Antioxidant and Antibacterial Activity Determination of Ethanolic Extract of *Carica Papaya* Seeds. *Biomedical Journal Science and Technical Research* 33(5). BJSTR. MS.ID.005459 DOI: 10.26717/BJSTR.2021.33.005459



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

VICEDECANATURA DE INVESTIGACIÓN Y EXTENSIÓN
FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA
SEDE MANIZALES

CERTIFICAN QUE

*Elizabeth Mérida Lira, Sergio Soto Simental, Aurora
Quintero Lira*

PRESENTARON EN EL

**V CONGRESO INTERNACIONAL EN INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN EN
INGENIERÍA, CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS- IICTA 2021**

Aprobado según Resolución 0854 de 30/07/2021 de la Facultad de Ingeniería y Arquitectura

LA PONENCIA ORAL TITULADA “CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES
FUNCIONALES DE HARINA DE SEMILLAS DE PAPAYA (CARICA PAPAYA)”

REALIZADO DEL 13 AL 15 DE OCTUBRE DE 2021 - MODALIDAD ONLINE
CON UNA INTENSIDAD DE 8 HORAS DIARIAS

MANIZALES, 15 DE OCTUBRE DE 2021

SANTIAGO RUIZ HERRERA
DECANO
FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA
UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA
SEDE MANIZALES

CARLOS EDUARDO ORREGO ALZATE
DIRECTOR IICTA 2021
PROFESOR TITULAR
UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA
SEDE MANIZALES