



Universidad Autónoma del Estado de México

Facultad de Medicina

Departamento de Estudios Avanzados

Maestría en Ciencias de la Salud

**“IDENTIFICACIÓN DE COMPUESTOS ANTIOXIDANTES
OBTENIDOS DE HONGOS MICROSCÓPICOS AISLADOS EN EL
ESTADO DE MÉXICO MEDIANTE MÉTODOS ANALÍTICOS”**

TESIS

Que para Obtener el Grado de
Maestra en Ciencias de la Salud

Presenta:

Jocelyn Astrid Carbajal Sánchez

Comité de Tutores

Director: Dr. Martín Pablo Antonio Moreno Pérez

Co-directora: Dra. Ninfa Ramírez Durán

Asesora: Dra. María Marcela Gamboa Angulo

Toluca, Estado de México

2021

Aviso de autoría

Yo, **Jocelyn Astrid Carbajal Sánchez**, autor(a) responsable de la presente Tesis, la cual lleva como título **“Identificación de compuestos antioxidantes obtenidos de hongos microscópicos aislados en el estado de México mediante métodos analíticos”**, y en representación de las(los) coautores(as):

a) Dr. Martín Pablo Antonio Moreno Pérez,

b) Dra. Ninfa Ramírez Durán y

c) Dra. María Marcela Gamboa Angulo

declaro que la información presentada en este documento es resultado de un protocolo de investigación del cual soy representante y por tanto me responsabilizo legalmente por el contenido en caso de plagio, deslindando de toda responsabilidad a la Universidad Autónoma del Estado de México.

INDICE

Resumen / Summary		1
1. Antecedentes		3
1.1	<i>Aditivos alimentarios</i>	3
1.2	<i>Antioxidantes</i>	3
1.2.1	<i>Mecanismos de acción antioxidante</i>	5
1.2.2	<i>Clasificación de antioxidantes</i>	5
1.2.3	<i>Antioxidantes en alimentos</i>	6
1.2.4	<i>Antioxidantes naturales</i>	6
1.2.5	<i>Antioxidantes sintéticos</i>	7
1.3	<i>Los hongos</i>	7
1.3.1	<i>Hongos microscópicos</i>	7
1.3.2	<i>Antioxidantes producidos por hongos microscópicos</i>	8
1.4	<i>Antecedentes de la actividad antioxidante de compuestos de hongos microscópicos</i>	11
1.5	<i>Métodos analíticos en laboratorio</i>	11
1.5.1	<i>Ensayos para detección de antioxidantes</i>	13
1.5.2	<i>Técnicas de extracción de antioxidantes</i>	13
1.5.3	<i>Cromatografía</i>	14
1.5.3.1	<i>Tipos de cromatografía</i>	14
2. Planteamiento del Problema		16
3. Hipótesis		17
4. Objetivos		18
5. Justificación		19
6. Material y Métodos		20
6.1.	<i>Diseño de estudio</i>	20
6.2.	<i>Criterios de inclusión y eliminación</i>	20
6.3.	<i>Procedimientos</i>	20
6.4.	<i>Variables de Estudio</i>	21

6.5.	Recolección de Datos	21
6.5.1	Reactivación de cepas fúngicas con actividad antioxidante	21
6.5.2	Obtención de extractos crudos fúngicos en acetato de etilo (AcOEt)	22
6.5.3	Determinación de la actividad antioxidante	22
6.5.4	Determinación del contenido total de fenoles	22
6.5.5	Determinación del contenido total de flavonoides	23
6.5.6	Purificación por cromatografía en capa fina	23
6.5.7	Cromatografía de gases y espectrometría de masas (CG-EM)	23
6.6.	Análisis estadístico	25
6.7.	Implicaciones Bioéticas	25
7.	Referencias Bibliográficas	27
8.	Anexos	32
8.1	Carta de envío del artículo	32
8.2	Resumen del artículo	33

Resumen

Se estima que en México el 37% de los alimentos que se producen al año son desperdiciados, porcentaje mayor al promedio mundial que es del 30%. Una forma de disminuir la pérdida y desperdicio de alimentos es mediante la adición de aditivos alimentarios, como los antioxidantes; que son sustancias que inhiben o evitan las reacciones de oxidación, ya que están involucrados en los procesos de óxido reducción. Los antioxidantes pueden ser de origen natural como polifenoles, vitaminas y minerales o creados a partir de procesos químicos (sintéticos), como el butilhidroxianisol (BHA), butilhidroxitolueno (BHT) y el terbutilhidroquinona (TBHQ). Los antioxidantes sintéticos pueden generar potenciales daños a la salud, por lo que es necesario buscar fuentes de antioxidantes de origen natural, que presenten menos efectos adversos a la salud humana. Actualmente se ha encontrado que diversas especies de hongos microscópicos producen compuestos antioxidantes, los cuales representan una fuente de metabolitos con alto potencial biotecnológico. El objetivo de este estudio es identificar los compuestos con actividad antioxidante de hongos microscópicos nativos del estado de México, previamente aislados, que inhibieron la oxidación > 80% *in vitro* mediante la determinación de la actividad superóxido dismutasa (SOD). Métodos: En el laboratorio de Microbiología Médica y Ambiental de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma del Estado de México se reactivaron ocho cepas fúngicas: 04, 14, 22, 75, 95, 112, 118, y 126, se obtuvo su extracto crudo y peso seco mediante acetato de etilo. Resultados: Debido a la pandemia y confinamiento causado por SARS-CoV-2 no se pudo continuar con la investigación presencial en el laboratorio, para dar continuidad al proyecto de investigación original, se realizó una investigación exhaustiva sobre la información de los antioxidantes sintéticos butilhidroxianisol (BHA), butilhidroxitolueno (BHT) y terbutilhidroquinona (TBHQ) presentes en los alimentos envasados o enlatados en México.

Summary

It is estimated that in Mexico 37% of the food produced per year is wasted, a percentage higher than the world average of 30%. One way to decrease food loss and waste is by adding food additives, such as antioxidants; which are substances that inhibit or prevent oxidation reactions, since they are involved in the oxide reduction processes. Antioxidants can be of natural origin such as polyphenols, vitamins and minerals or created from chemical processes (synthetic), such as butylhydroxyanisole (BHA), butylhydroxytoluene (BHT) and tert-butylhydroquinone (TBHQ), synthetic antioxidants can cause possible damage to health, so it is necessary to look for sources of antioxidants of natural origin, which have fewer adverse effects on human health. Currently, it has been found that various species of microscopic fungi produce antioxidant compounds, which represent a source of metabolites with high biotechnological potential. The objective of this study is to identify compounds with antioxidant activity from microscopic fungi native to the state of Mexico, previously isolated, that inhibited oxidation > 80% *in vitro* by determining superoxide dismutase (SOD) activity. Methods: In the Laboratory of Medical and Environmental Microbiology of the Faculty of Medicine of the Autonomous University of the State of Mexico, eight fungal strains were reactivated: 04, 14, 22, 75, 95, 112, 118, and 126, their extract was obtained crude and dry weight by ethyl acetate. Results: Due to the pandemic and confinement caused by SARS-CoV-2, it was not possible to continue with the face-to-face research in the laboratory, to give continuity, an exhaustive investigation was carried out on the information of the synthetic antioxidants butylhydroxyanisole (BHA), butylhydroxytoluene (BHT) and tert-butylhydroquinone (TBHQ) present in packaged or canned foods in Mexico.

1. Antecedentes

1.1 Aditivos alimentarios

La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 2019), informó que, en el año 2011 a nivel mundial, aproximadamente el 30% de los alimentos se pierden o desperdician cada año; en México el 37% de los alimentos que se producen son desperdiciados, los principales factores causantes de esta pérdida son un inadecuado suministro y almacenamiento (Gustavsson *et al.*, 2011; Secretaría de Desarrollo Social, 2013). Los aditivos alimentarios son sustancias no consumidas normalmente como ingrediente básico en los alimentos, pueden aportar o carecer de valor nutritivo y su adición es con fines tecnológicos en los diferentes procesos de elaboración, preparación, tratamiento, envasado, empaquetado, transporte o almacenamiento (FAO, 2018).

1.2 Antioxidantes

Los antioxidantes se definen como compuestos que eliminan las especies reactivas, en su mayoría las del oxígeno, son capaces de retardar o prevenir el proceso de oxidación de otras moléculas, disminuyendo el efecto perjudicial del estrés oxidativo (Salehi *et al.*, 2018; Sugiharto, 2019). Cualquier especie química con la capacidad de encontrarse de manera independiente y presentar uno o más electrones no apareados en su estructura, siendo altamente reactiva, es denominada radical libre o especie reactiva. Aunque los radicales libres son necesarios en bajas concentraciones para el buen funcionamiento celular, un exceso puede ser tóxico provocando daño oxidativo de macromoléculas, también pueden participar en enfermedades como el cáncer, diabetes, patologías cardiovasculares, patologías gastroentéricas, procesos reumáticos, afecciones broncopulmonares y procesos neurodegenerativos (Leos-Rivas *et al.*, 2016). Existen antioxidantes de naturaleza endógena y exógena, los organismos vivos mantienen sistemas complejos de antioxidantes endógenos celulares, enzimáticos y no enzimáticos, como el glutatión o las enzimas que produce el propio organismo, con la finalidad de mantener las especies reactivas en concentraciones no tóxicas (Salehi *et al.*, 2018; Staerck *et al.*, 2017). Incorporar compuestos antioxidantes de fuentes vegetales naturales en la dieta diaria, puede favorecer la solución a varios problemas de salud; se ha demostrado que los flavonoides y fenoles son causantes de la actividad antioxidante de los compuestos naturales, además, los metales traza como cobre, zinc, magnesio, manganeso y selenio, que desempeñan una función significativa en el sistema antioxidante (Arulselvan *et al.*, 2016). De acuerdo con el *Codex alimentarius* emitido por la comisión subsidiaria de la FAO y de la Organización Mundial de la Salud (OMS), se encuentran reconocidos más de 20 aditivos alimentarios utilizados como antioxidantes en alimentos (FAO, 2018) (tabla 1).

Tabla 1. Aditivos alimentarios utilizados como antioxidantes reconocidos en el *Codex alimentarius*.

Aditivo	Etiqueta de identificación
Ácido ascórbico	E300
Ácido cítrico	E330
Ácido eritórbito	E315
Ácido fosfórico	E338
Ácido tartárico	E334
Ascorbato de calcio	E302
Ascorbato de sodio	E301
Butilhidroxianisol	E320
Butilhidroxitolueno	E321
Citrato de estearilo	E484
Citrato de isopropilo	E384
Eritorbato de sodio o isoascorbato de sodio	E316
Ésteres de ascorbilo	E304 I, II
Etilen diamino tetra acetatos (EDTA)	E385
Galato de propilo	E310
Lactato de potasio	E326
Lactato de sodio	E325
Lecitina	E322
Óxido nitroso	E942
Resina de guayaco	E314
Sulfitos	E150b E150d E221 E222 E223 E224 E225 E226 E227 E228
Terbutilhidroquinona	E319
Tiodipropionatos	E389 E390
Tocoferoles	E306 E307 E308 E309

Información obtenida de: FAO. Norma general para los aditivos alimentarios. https://www.fao.org/fao-who/codexalimentarius/shproxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcode%252Fstandards%252FCXS%2B192-1995%252FCXS_192s.pdf (Acceso: 11 octubre 2021).

Las principales fuentes de antioxidantes exógenos naturales son plantas, vegetales, frutas y flores; sin embargo, su producción comercial para la obtención de antioxidantes de origen natural puede aumentar la competencia alimentaria a nivel mundial, como una alternativa, la utilización de fuentes no tradicionales como los microorganismos resulta promisorio (Hameed *et al.*, 2017).

1.2.1 Mecanismos de acción antioxidante

De acuerdo con Carocho *et al.* (2017), los mecanismos de acción de los antioxidantes actúan de las siguientes formas:

- Secuestro de radicales libres del medio
- Quelación de iones metálicos
- Inhibición de enzimas productoras de radicales libres
- Activación de enzimas de antioxidantes endógenos
- Prevención de la peroxidación lipídica
- Prevención de daños al ADN
- Prevención de la modificación de proteínas y la destrucción de azúcares

1.2.2 Clasificación de antioxidantes

Para Flieger *et al.* (2021), los antioxidantes pueden clasificarse como se muestra en la figura 1.



Figura 1. Clasificación de antioxidantes.

Por su parte, para Salehi *et al.* (2018), también pueden ser clasificados con base en su origen, funciones y propiedades como:

- Antioxidantes solubles en agua (ácido ascórbico, glutatión y ácido úrico)
- Antioxidantes solubles en lípidos (vitamina E, vitamina A y resveratrol)
- Antioxidantes enzimáticos (superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa)
- Antioxidantes no enzimáticos (albúmina, ácido ascórbico, vitamina E)

1.2.3 Antioxidantes en alimentos

La oxidación, formación de radicales libres y reacciones de eliminación de radicales libres, no solo ocurren en el cuerpo humano; también están presentes en todos los organismos vivos y sistemas biológicos. Los antioxidantes alimentarios agregados a los alimentos, tienen la misma función que los antioxidantes endógenos del cuerpo humano, proteger a los alimentos de la oxidación, conservando sus propiedades organolépticas, como la textura, olor y sabor, además de aportar seguridad de consumo (Carocho *et al.*, 2017). La peroxidación y rancidez son los tipos más comunes de oxidación que ocurren en los alimentos mientras se almacenan, los antioxidantes son adicionados con la finalidad de prevenir la rancidez causada por la peroxidación lipídica (Carocho *et al.*, 2017), como en el caso de los alimentos con alto contenido de grasas, como las carnes.

1.2.4 Antioxidantes naturales

Los antioxidantes naturales son compuestos derivados de plantas y otros organismos vivos (Ramana *et al.*, 2018), como las vitaminas, polifenoles y carotenoides que son las moléculas con mayor poder antioxidante (Carocho *et al.*, 2014). La vitamina C (ácido ascórbico) y la vitamina E (tocoferol) son las más utilizadas como aditivos alimentarios. El ácido ascórbico al absorber oxígeno en los alimentos y oxidarse a sí mismo en ácido deshidroascórbico, reduce el oxígeno disponible, por lo tanto, se conserva el alimento. La vitamina E ejerce su actividad especialmente contra la peroxidación y rancidez de lípidos al formar radicales tocoferoxilos, donando su hidrógeno fenólico a los radicales peroxilo, a pesar de ser también radicales, no reaccionan y no pueden continuar la reacción oxidativa en cadena.

Los polifenoles pueden eliminar radicales, quelar metales, apagar átomos de oxígeno y actuar como posibles donantes de iones o hidrógeno, de los aproximadamente 8000 polifenoles descritos, estos se dividen en 8 grupos: ácidos hidroxibenzoicos, ácidos hidroxicinámicos, cumarinas, lignanos, chalcones, flavonoides, ligninas y xantonas. Algunos polifenoles exhiben una notoria actividad

antioxidante como compuestos puros incorporados en los alimentos, mientras que otros dependen de la sinergia para llevar a cabo los efectos protectores. El licopeno y los α y β - carotenos son parte de los carotenoides y éstos son los más importantes (Carocho *et al.*, 2014).

1.2.5 Antioxidantes sintéticos

Los antioxidantes sintéticos (ANSI), son compuestos sintetizados químicamente, ya que no se encuentran en la naturaleza, se agregan a los alimentos como conservantes para ayudar a prevenir la oxidación de lípidos. Los ANSI, son comúnmente utilizados por la industria alimentaria a nivel mundial (Atta *et al.*, 2017), como son el butilhidroxianisol (BHA), butilhidroxitolueno (BHT), terbutilhidroquinona (TBHQ), galato de propilo, galato de octilo, galato de dodecilo y etileno diamina tetra acetato (Atta *et al.*, 2017). No obstante, a pesar de que la utilidad y eficacia de los ANSI adicionados a los alimentos por la industria está comprobada, se encuentra evidencia científica de que algunos pueden presentar efectos adversos a la salud, como el cáncer (Mahapatra y Parija, 2018). De acuerdo con Vandghanooni *et al.* (2013), el BHA ocasiona fragmentación significativa del ADN en células de carcinoma de pulmón (A549), además de inducir la muerte celular por apoptosis; Alofe *et al.* (2019), informaron que el BHT reprimió la expresión basal de genes sensibles al estrógeno en células de Ishikawa, por su parte Karimi *et al.* (2019) reportaron que el TBHQ estimula la citotoxicidad e induce apoptosis temprana en las células endoteliales de la vena umbilical humana.

1.3 Los hongos

Los hongos son un grupo taxonómico diverso y abundante en el planeta, son organismos heterótrofos, carentes de clorofila, hojas y raíces, se reproducen mediante esporas, se desarrollan sobre materia orgánica y obtienen su alimento de plantas y animales vivos o muertos. Son esenciales para el reciclamiento de plantas y animales en el ambiente (Sugiharto, 2019). Hasta el año 2019, los hongos completamente descritos representaron sólo el 7% de su diversidad (Wu *et al.*, 2019), la cual es estimada conservadoramente en 1.5 millones de especies (Hawksworth, 1991).

1.3.1 Hongos microscópicos

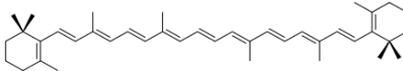
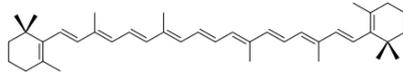
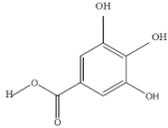
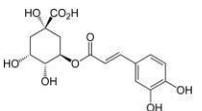
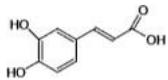
Los hongos pueden presentarse como levaduras (unicelulares) o mohos (multicelulares) (Baron, 1996). Los mohos se caracterizan por formar filamentos multicelulares denominados hifas, que junto con las esporas son importantes en la reproducción y propagación. Las hifas se extienden

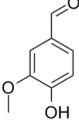
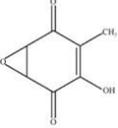
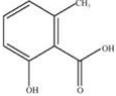
y ramifican como una red que se denomina micelio, el cual es visible a simple vista, el micelio se extiende para buscar, explotar y translocar los nutrientes disponibles, en general las hifas de crecimiento apical tienen un diámetro de 1–30 μm o más, dependiendo de la especie y condiciones de crecimiento (Sugiharto, 2019). Todos los hongos que crecen aeróbicamente son expuestos a aniones superóxido generados como un subproducto de la respiración aeróbica en las mitocondrias. Los hongos ambientales están expuestos a especies reactivas de oxígeno generadas después de la exposición a la luz UV o a drogas/xenobióticos.

1.3.2 Antioxidantes producidos por hongos microscópicos

De acuerdo con Hameed *et al.* (2017), los avances en biotecnología, microbiología y genética han permitido detectar e identificar de diversas especies de hongos que producen compuestos con diversas capacidades biotecnológicas, como compuestos que presentan actividad antioxidante (Cuadro 2). En respuesta al estrés oxidativo, las células fúngicas reaccionan con una amplia gama de estrategias de defensa y reparación. Una respuesta muy caracterizada y conservada implica la inducción de ARNm que codifica proteínas de desintoxicación y reparación del estrés oxidativo como catalasa (*CAT1*), glutatión peroxidasa (*GPX*) y superóxido dismutasa (*SOD*), así como genes que codifican antioxidantes, genes que codifican componentes de glutatión/glutaredoxina (*GSH1*, *TTR1*) y tiorredoxina (*TSA1*, *TRX1*, *TRR1*), (Brown *et al.*, 2017).

Cuadro 2. Compuestos antioxidantes producidos por hongos

<i>Especie</i>	<i>Compuesto antioxidante</i>	<i>Detección</i>	<i>Determinación o identificación</i>	<i>Referencias</i>
<i>Blakeslea trispora</i>	<p>β-caroteno</p> 	DPPH ^a y ABTS ^b	Espectrofotometria HPLC ^e LC/MS ^f	Kaur <i>et al.</i> (2019)
<i>Mucor circinelloides</i>	<p>β-caroteno</p> 	S/I ^c	S/I	Zhang <i>et al.</i> (2016)
<i>Fusarium equiseti</i>	Diversos compuestos, exopolisacáridos (mannoglucanos)	FRAP ^d Eliminación de radicales hidroxilos (OH)	Cromatografía de gases Espectroscopía	Prathyusha <i>et al.</i> (2018)
<i>Ophiocordyceps xuefengensis</i>	Diversos compuestos, nucleósidos, nucleótidos y aminoácidos	DPPH	HPLC con detección de matriz de diodos Espectrometría de masas	Qin <i>et al.</i> (2018)
<i>Penicillium flavigenum</i>	<p>Ácido gálico</p> 	DPPH y ABTS	Análisis de ácido β- caroteno-linoleico Folin-Ciocalteu HPLC-DAD ^g	Gonçalves Tavares <i>et al.</i> (2018)
	<p>Catequinas Ácido clorogénico</p> 			
	<p>Ácido cafeico</p> 			

	Vanilina				
					
	Ácido terreico				
					
<i>Pseudocercospora</i> sp.	Ácido 6-metilsalicílico	DPPH FRAP Ensayo de blanqueo con β caroteno	Análisis cristalográfico de rayos X	Prihantini and Tachibana (2017)	
					
<i>Acremonium charticola</i> <i>Rhizopus oryzae</i>	Fenoles Taninos Flavonoides	ABTS	Folin-Ciocalteu Folin-Denis Espectrofotometría con cloruro de aluminio	Sugiharto <i>et al.</i> (2016)	
<i>Aspergillus</i> sp.	Fenoles	DPPH	Folin-Ciocalteu	Khiralla <i>et al.</i> (2015)	

^a= 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl. ^b= ácido 2, 2' Azinobis-3-etil- benzotiazolin-6 sulfónico. ^c= sin información. ^d= Ferric Reducing Antioxidant Power (Poder antioxidante de reducción férrica). ^e= High Performance Liquid Chromatography (Cromatografía líquida de alta resolución). ^f= Liquid Chromatography-Mass Spectroscopy (cromatografía líquida-espectrometría de masas). ^g= High-performance liquid chromatography with diode-array detection (cromatografía líquida de alto rendimiento simple y confiable con detección de matriz de diodos).

1.4 Antecedentes de la actividad antioxidante de compuestos de hongos microscópicos

En el laboratorio de Microbiología Médica y Ambiental de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma del Estado de México (UAEM), se encuentran conservadas más de 100 cepas fúngicas, asiladas de diversos sitios del Estado de México, que, mediante una investigación previa, se detectó que 14 de ellas fueron capaces de producir compuestos con actividad antioxidante mediante la determinación de la actividad superóxido dismutasa (SOD) por medio de la oxidación del pirogalol (Cuadro 5).

Cuadro 5. Número de clave, porcentaje de inhibición de la oxidación e identificación taxonómica de las especies fúngicas que presentaron actividad antioxidante mediante la determinación de la actividad superóxido dismutasa (SOD) por medio de la oxidación del pirogalol.

Clave de cepa	% de inhibición de la oxidación	Genero taxonómico
02	46.3	<i>Penicilium</i> sp.
04	86.5	<i>Aspergillus</i> sp.
10	32.7	<i>Fusarium</i> sp.
14	97.5	Sin identificar
22	83.2	Sin identificar
57	65.5	Sin identificar
58	75.4	Sin identificar
59	79.2	Sin identificar
75	88.2	Sin identificar
95	92.3	Sin identificar
112	84.6	Sin identificar
118	96.1	<i>Penicilium</i> sp.
126	80.2	Sin identificar
127	79.1	<i>Eudarluka</i> sp.

Información obtenida de: Ayala-Cortés S. 2019. Determinación de la actividad antioxidante de extractos de hongos *in vitro* y en alimentos. Tesis de maestría. Universidad Autónoma del Estado de México.

1.5 Métodos analíticos en laboratorio

La clasificación de los métodos analíticos normalmente se divide en dos; clásicos o instrumentales. Los métodos clásicos aún son utilizados en el laboratorio, sin embargo, su aplicación general ha disminuido, al ser desplazados por los instrumentales. En los métodos clásicos se usan los procesos de destilación, extracción o precipitación, para el análisis cualitativo, los componentes separados se tratan con distintos reactivos, permitiendo la identificación por su índice de refracción, su actividad óptica, su color, su solubilidad, su olor,

su temperatura de fusión o ebullición; para los análisis cuantitativos, el analito se determinaba por mediciones gravimétricas o volumétricas (Skoog *et al.*, 2008). El contenido de fenoles totales se determina mediante el reactivo de Folin-Ciocalteu, que define que capacidad presentan los polifenoles de reducir el Mo (VI) a Mo (V), el reactivo cambia de color (de amarillo a un azul) (Ricco *et al.*, 2015; Leos-Rivas *et al.*, 2016); en el caso de los flavonoides, se utilizan métodos basados en la formación de complejos coloreados entre el grupo ceto de los flavonoides y los hidroxilos fenólicos con el 2-aminoetil difenilborato o el tricloruro de aluminio (Ricco *et al.*, 2015). Algunos de los métodos instrumentales para purificar e identificar productos naturales se observan en la Tabla 3.

Tabla 3. Métodos instrumentales usados para purificar e identificar productos naturales.

Propiedades características	Métodos instrumentales
Emisión de radiación	Espectroscopia de emisión (rayos X, UV, luz visible); fluorescencia, fosforescencia y luminiscencia (rayos X, UV y luz visible)
Absorción de radiación	Espectrofotometría y fotometría (rayos X, UV, luz visible, IR); espectroscopia foto acústica; resonancia magnética nuclear y espectroscopia de resonancia de espín electrónico
Dispersión de radiación	Turbidimetría; nefelometría; espectroscopia Raman
Difracción de radiación	Métodos de rayos X y difracción electrónica
Razón masa/carga	Espectrometría de masas

Información obtenida de: Skoog, D. A., Holler, J. H., Nieman, T. A. "Principios de Análisis Instrumental", 6a Edición. Cengage Learning. México, DF. 2008

Además de los métodos instrumentales mencionados, se encuentra otro grupo de procedimientos instrumentales utilizado en la separación o resolución de compuestos relacionados estrechamente. Algunas técnicas están basadas en la cromatografía, también en la extracción mediante disolventes o en la electroforesis y son complemento junto con los métodos instrumentales anteriores (Skoog *et al.*, 2008).

1.5.1 Ensayos para detección de antioxidantes

Las técnicas de detección de antioxidantes se dividen en técnicas de transferencia de átomos de hidrógeno y transferencia de electrones individuales, las técnicas de transferencia de átomos de hidrógeno funcionan detectando la capacidad que tiene un antioxidante de atrapar radicales

libres mediante la donación de hidrógeno; mientras que los de transferencia de electrones individuales dependen de la capacidad reductora de transferencia de electrones de un compuesto antioxidante frente a un radical libre (Prior *et al.*, 2005). Se han desarrollado diversos métodos de análisis químicos y biológicos que permiten la detección de la capacidad antioxidante total (TAC) en muestras de alimentos. Estos métodos se basan en diferentes principios y aún se están modificando, su objetivo básico es evaluar la capacidad antioxidante (reductora) como propiedad general de los alimentos en condiciones similares a las del entorno fisiológico (Bajerová *et al.*, 2014). Por ejemplo, el método DPPH puede usarse para muestras sólidas o líquidas y no es específico de ningún componente antioxidante en particular (Dureja and Dhiman, 2012).

1.5.2 Técnicas de extracción de antioxidantes

Las técnicas de extracción tienen como objetivo no solo extraer los compuestos activos de la muestra, sino también impartir selectividad y optimizar la sensibilidad de la metodología analítica aplicada debido al aumento de la concentración del compuesto de interés, de acuerdo con Pisoschi *et al.* (2016), las técnicas de extracción de antioxidantes se pueden dividir en convencionales (extracción de Soxhlet, maceración, infusiones) y no convencionales (modernas), dentro de las técnicas no convencionales podemos encontrar:

- Micro extracción en fase sólida: puede ser entendida como una columna capilar de cromatografía de gases.
- Extracción de líquido a presión: Implica ejercer una presión elevada sobre el disolvente líquido restante por encima del punto de ebullición. Cuando las temperaturas y presiones están elevadas, los rendimientos de la extracción presentan una mejora debido a que se presenta una solubilidad del analito mayor y una velocidad de transferencia de masa, también por una baja tensión superficial en los solventes y una disminución de la viscosidad.

1.5.3 Cromatografía

La cromatografía es un método mediante el cual ocurre una separación de mezclas complejas en todos sus componentes para su posterior caracterización. Está compuesta por una fase móvil (en la cual está contenida una parte de la muestra) y una fase estacionaria. En cuanto a la fase móvil, ésta se moviliza por medio de la estacionaria que se encuentra dentro de una columna, las diferencias en velocidades hacen que los componentes de la mezcla se localicen a lo largo

de la columna y se separen en bandas (Skoog *et al.*, 2008), en la Tabla 4 se pueden observar las fases móviles cromatográficas usadas más comúnmente.

Tabla 4. Fases móviles cromatográficas más comunes

Disolvente	Índice de polaridad	Punto de ebullición °C
Ciclohexano	.04	81
Hexano	0.1	69
Tolueno	2.4	110
Cloroformo	4.1	61
Etanol	4.3	78
Acetato de etilo	4.4	77
Metanol	5.1	65
Acetonitrilo	5.8	82
Etilenglicol	6.9	182
Agua	10.2	100

Información obtenida de: Skoog, D. A., Holler, J. H., Nieman, T. A. "Principios de Análisis Instrumental", 6a Edición. Cengage Learning. México, DF. 2008

El cromatograma es el resultado de la cromatografía, los picos que se encuentran en el eje que representa el tiempo sirven para determinar los elementos que componen una muestra, mientras que cada área que se encuentra debajo de los picos ayuda a determinar la cantidad de cada componente, una medida cuantitativa. Un concepto importante es el denominado tiempo muerto, que representa al tiempo necesario en el cual la especie que no es retenida alcanza el detector (Skoog *et al.*, 2008).

1.5.3.1 Tipos de cromatografía

Existen distintos tipos de cromatografía, aunque básicamente se pueden dividir en 2 grupos:

- La cromatografía de líquidos (HPLC por sus siglas en inglés High Performance Liquid Chromatography), se lleva a cabo por medio de flujo presurizado, es sensible, se adapta fácilmente a las determinaciones cuantitativas exactas, es idónea para automatización, presenta una ideal capacidad al separar especies termolábiles o no volátiles y es aplicable a sustancias importantes en la industria. De acuerdo con Skoog *et al.* (2008), existen diferentes tipos de HPLC: "*cromatografía de reparto, cromatografía de adsorción o cromatografía líquido-sólido, cromatografía de intercambio de iones o cromatografía iónica, cromatografía de exclusión por tamaño, cromatografía por afinidad y cromatografía quiral*".

- **La cromatografía de gases:** se divide en 2 tipos; la de gas-líquido y la de gas-sólido; la cromatografía gas-líquido se aplica en todos los campos de la ciencia. En algunos casos puede ser acoplada en instrumentos espectroscópicos como los detectores de espectrometría de masas que además de detectar la aparición del analito también lo identifican. La cromatografía de gases funciona para confirmar si existe o no un componente en una mezcla, mientras se disponga de un patrón. La técnica principal para separar e identificar especies en mezclas es la cromatografía de gases con espectrometría de masas (CG/ME) (Skoog *et al.*, 2008).

2. Planteamiento del Problema

Actualmente en la industria alimentaria y la cocina doméstica, se encuentran presentes los aditivos alimentarios, como los antioxidantes, que permiten aumentar la vida útil de los alimentos y postergar su calidad en el mercado, disminuyendo así pérdidas alimentarias y económicas. Los antioxidantes utilizados en la industria son eficientes y de bajo costo, no obstante, se ha encontrado evidencia *in vitro* de que pueden causar múltiples alteraciones celulares y metabólicas. Debido a su potencial riesgo es necesario buscar alternativas de antioxidantes de origen natural, que presenten menores riesgos de toxicidad en la salud.

Los hongos son un grupo taxonómico diverso con más de 1.5 millones de especies, diversas investigaciones han demostrado que los hongos microscópicos producen compuestos con capacidad antioxidante *in vitro*, debido a su metabolismo secundario, esta característica presenta un potencial biotecnológico poco explorado.

En el Laboratorio de Microbiología Médica y Ambiental de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma del Estado de México, se conservan 14 cepas de hongos microscópicos, aislados de diferentes sitios del Estado de México con bajo impacto antropogénico, que presentan una notoria actividad antioxidante, sin embargo, no se conoce que compuestos químicos están involucrados en la generación de la actividad.

Por lo que surge la siguiente pregunta de investigación:

¿Qué tipos de compuestos con actividad antioxidantes se obtienen de hongos microscópicos aislados en el Estado de México?

3. Hipótesis:

Hipótesis alterna

Los compuestos antioxidantes obtenidos de hongos microscópicos aislados en el estado de México son compuestos fenólicos.

Hipótesis nula

Los compuestos antioxidantes obtenidos de hongos microscópicos aislados en el estado de México no son compuestos fenólicos.

4. Objetivos:

General

Identificar los compuestos antioxidantes obtenidos de hongos microscópicos aislados en el estado de México mediante métodos analíticos

Específicos

- Reactivar cepas fúngicas, previamente evaluadas, que presentaron compuestos con actividad antioxidante
- Obtener los extractos crudos de las cepas mediante el disolvente acetato de etilo
- Obtener el peso seco (mg) de los extractos fúngicos
- Determinar el perfil químico de los extractos con actividad antioxidante mediante pruebas colorimétricas
- Identificar qué tipos de compuestos son los que presentan la actividad antioxidante
- Contribuir en el conocimiento de la biodiversidad de los hongos microscópicos filamentosos asociados a restos vegetales del estado de México

5. Justificación:

En las próximas décadas se espera un incremento poblacional y con ello un mayor consumo de alimentos, debido a esta situación, reducir la pérdida y el desperdicio de los alimentos debe convertirse en una prioridad global. Utilizar aditivos alimentarios es una estrategia para prolongar o extender la vida útil de los alimentos, conservando así sus características organolépticas. Actualmente, los antioxidantes sintéticos utilizados por la industria alimentaria pueden generar potenciales daños a la salud. Por ello es necesaria la búsqueda de fuentes novedosas de antioxidantes de origen natural, cuyas estructuras tengan distintos sitios de acción y menor toxicidad, que puedan ser aplicables a una gran variedad de alimentos.

Los hongos microscópicos producen una gran variedad de compuestos que han sido la base para obtener importantes fármacos como antibióticos, antifúngicos, inmunosupresores y anticancerígenos; adicionalmente se ha reportado que también producen compuestos antioxidantes. Sin embargo, solo se ha descrito aproximadamente el 7% de las 1.5 millones de especies. Es notable que en la mayoría de los estados de México no se tiene información sobre los hongos microscópicos y su potencial biotecnológico. El conocer qué tipo de compuestos químicos son los que presentan actividad antioxidante en alimentos, permitirá proponer una alternativa para disminuir la utilización de antioxidantes sintéticos.

6. Material y Métodos:

6.1. Diseño de Estudio

Tipo de estudio

Observacional transversal prospectivo.

Universo

- 14 cepas fúngicas aisladas en el estado de México que presentaron previa actividad antioxidante mediante la determinación de la actividad superóxido dismutasa (SOD), reportadas en la tesis titulada “Determinación de la actividad antioxidante de extractos de hongos *in vitro* y en alimentos”.

Tamaño de muestra

- Se seleccionaron 8 cepas con actividad antioxidante (> 80%), de cada cepa se obtendrá la fracción de acetato de etilo y su peso seco.

6.2. Criterios de inclusión y eliminación

Criterios inclusión:

- Cepas fúngicas que se logren reactivar
- Cepas fúngicas que presenten crecimiento de micelio
- Cepas fúngicas que presentaron más del 80% de inhibición antioxidante

Criterios de eliminación:

- Cepas de actinomicetos (con pseudo micelio)
- Cepas fúngicas que presenten contaminación con otro tipo de microorganismo.

6.3. Procedimientos

Se reactivarán las cepas fúngicas que presentaron actividad antioxidante previa. Se cultivarán en medios específicos para su óptimo crecimiento. Posteriormente se obtendrá su extracto crudo por medio de rota-evaporación a presión reducida y se obtendrá su peso seco. La fracción de cada cepa se re-suspenderá y se tratarán por distintos métodos analíticos, hasta obtener el perfil cromatográfico de los compuestos con actividad.

6.4. Variables de Estudio

Independientes:

- Extracto fúngico con actividad antioxidante

Dependientes:

- Perfil cromatográfico

6.5 Recolección de datos

6.5.1 Reactivación de cepas fúngicas con actividad antioxidante

Se reactivaron las cepas previamente aisladas de la sierra de Nanchititla, Valle de Bravo y los humedales de Lerma, que presentaron actividad antioxidante. Las cepas fueron inoculadas en cajas Petri con agar Papa Dextrosa (PDA) Bioxon[®] se incubaron a 26° C durante 14 días. En la tabla 6, se presentan las cepas fúngicas que presentaron actividad antioxidante (Inhibición de oxidación >80%) mediante la determinación de la actividad superóxido dismutasa (SOD) por medio de la oxidación del pirogalol.

Tabla 6. Cepas fúngicas que presentaron actividad antioxidante mediante la determinación de la actividad superóxido dismutasa (SOD) por medio de la oxidación del pirogalol.

Clave de cepa	% de inhibición de la oxidación
02	46.3
004	85.6
10	32.7
14	97.5
22	83.2
57	65.5
58	75.4
59	79.2
75	88.2
95	92.3
112	84.6
118	96.1
126	80.2
127	79.1

Las filas remarcadas fueron las cepas seleccionadas (>80%).

6.5.2 Obtención de extractos crudos fúngicos en acetato de etilo (AcOEt)

Las cepas fúngicas que previamente presentaron evidencia de la actividad antioxidante (> 80%) se inocularon en 1000 mL de Caldo Papa Dextrosa (PDB) Bioxon[®], se incubaron a 26°C durante 14 días, posteriormente el cultivo se filtró a través de papel filtro #5 Whatman[®] previamente esterilizado. La fracción acuosa se extrajo tres veces por partición líquido-líquido (1:1) AcOEt (C₄H₈O₂). Se agitó durante 1 minuto separando las fases; el disolvente se eliminó mediante rotaevaporación a presión reducida (450pa) a 40°C, en un rotaevaporador Ika[®] (Karmakar *et al.*, 2013).

6.5.3 Determinación de la actividad antioxidante

El método de eliminación del radical DPPH se realizará de acuerdo con Gonçalves Tavares *et al.* (2018), con ligeras modificaciones. Los extractos diluidos en alcohol etílico se mantendrán en oscuridad. Posteriormente 100 µL de cada dilución de los extractos se transferirá al tubo de ensayo y se agregarán 900 µL de la solución de DPPH a una concentración de 0.004%. El control negativo será el alcohol etílico y el antioxidante Trolox 0.05% el control positivo. Las muestras se incubarán durante 30 min a temperatura ambiente (22-25 °C) en total ausencia de luz. Las lecturas se realizarán utilizando un espectrofotómetro a 517 nm. El experimento se realizará por triplicado (Gonçalves Tavares *et al.*, 2018).

6.5.4 Determinación del contenido total de fenoles

Los compuestos fenólicos totales se determinarán mediante el método Folin-Ciocalteu, de acuerdo con Gonçalves Tavares (2018), con ligeras modificaciones. Se mezclará un total de 0,5 ml del extracto fúngico (5 mg/mL) diluido en alcohol etílico con 2,5 ml de solución de Folin-Ciocalteu al 10% (v/v) y 2 ml de solución de carbonato de sodio al 4% (p/v). La mezcla se homogeneizará y se dejará reposar durante 2 h, protegida de la luz. El espectrofotómetro se ajustará a una longitud de onda de 750 nm correspondiente al pico de absorción de los óxidos de molibdeno y tungsteno. Para calibrar el espectrofotómetro se utilizará una solución blanco compuesta por los reactivos y 0,5 mL de alcohol etílico. El contenido fenólico total se calculará a partir de una ecuación en línea recta de la curva estándar de ácido gálico, los resultados se expresarán en mg de equivalente de ácido gálico (GAE) por gramos de extracto. El experimento se realizará por triplicado (Gonçalves Tavares *et al.*, 2018).

6.5.5 Determinación del contenido total de flavonoides

El ensayo para el contenido de flavonoides en los extractos de hongos se realizará por el método espectrofotométrico con cloruro de aluminio de acuerdo con Sugiharto *et al.* (2016) con ligeras modificaciones. El extracto fúngico (1 mL), el nitrito de sodio al 5% y el etanol al 30% (10 mL) se mezclarán durante 5 minutos, posteriormente el cloruro de aluminio al 10% se agregará y se mezclará por completo. Después de 6 minutos, se añadirá hidróxido de sodio 1 mol/L, la mezcla se diluirá a 25 ml con etanol al 30% y se dejará reposar durante 10 minutos. La absorbancia de la solución se medirá a 430 nm con un espectrofotómetro. Se traza una curva estándar usando quercetina, el ensayo se realizará por triplicado (Sugiharto *et al.*, 2016).

6.5.6 Purificación por cromatografía en capa fina

Se tomarán placas cromatográficas a diferentes concentraciones hasta purificar los compuestos antioxidantes.

6.5.7 Cromatografía de gases y espectrometría de masas (CG-EM)

Los análisis por CG-EM se realizarán en un cromatógrafo de gases Agilent Technologies® modelo 6890N Network GC system, acoplado a un detector másico Agilent Technologies® modelo 5975B inter MSD controlado por una computadora HP. Se utilizará una columna Ultra 1 (fase estacionaria no polar, 100% dimetilpolisiloxano; 25 mL x 0.32 diámetro interno). Helio de ultra alta pureza se utilizará como gas acarreador, con flujo de 1.5 mL·minuto⁻¹ o 1.2 mL·minuto⁻¹. Las rampas de temperatura que se utilizarán son las siguientes: Método A. T1 = 150 °C por 4 minutos, con gradiente de 10 °C·minuto⁻¹ y T2 = 280° C durante 20 minutos, con un tiempo total de corrida de 37 minutos; Método B. T1 = 75 °C por 4 minutos, con gradiente de 5 °C·minuto⁻¹ y T2 = 200° C durante 30 minutos, con un tiempo total de corrida de 59 minutos; Método C. T1 = 150 °C por 8 minutos⁻¹. Los resultados se compararán con las bases de datos hasta obtener el nombre de los compuestos activos.

Operacionalización de variables

Variable	Definición conceptual	Definición operativa	Tipo de variable	Escala de medición	Análisis Estadísticos
Extracto de hongos	Sustancia muy concentrada que se obtiene de un hongo en medios de cultivo específicos por diversos procedimientos.	mg de extracto (en peso seco)	Cuantitativa	Continua miligramos/mililitro	Estadísticos descriptivos ANOVA
Perfil Cromatográfico	Método físico de separación en el que los componentes a separar se distribuyen entre dos fases una móvil y otra inmóvil.	Perfil obtenido después de procesar la muestra del extracto fúngico o su fracción en el CG-EM	Cualitativa	Nominal	Frecuencias

6.6 Análisis Estadísticos

Se obtendrán frecuencias para el perfil cromatográfico, para la cantidad del extracto antioxidante de las muestras se les realizará un análisis de varianza de una vía (ANOVA) con una p de 0.05 con el software SPSS versión 22.

6.7 Implicaciones bioéticas

Se tomarán en consideración las siguientes Normas, Convenios o Protocolos:

- “Norma Oficial Mexicana NOM-065-SSA1-1993, Que establece las especificaciones sanitarias de los medios de cultivo. Generalidades.” Determina las especificaciones mínimas que deben tener los medios de cultivo para microorganismos en general (*Norma Oficial Mexicana NOM-065-SSA1-1993*).
- “Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección ambiental – Salud Ambiental – Residuos Peligrosos Biológico-Infeciosos – Clasificación y especificaciones de manejo. Numeral 4. Clasificación de los residuos peligrosos biológico-infecciosos. Numeral 6. Manejo de residuos peligrosos biológico-infecciosos” (*Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002*).
- “Convenio sobre la diversidad biológica de las Naciones Unidas, suscrito en Río de Janeiro en junio de 1992” (*Declaración de Río sobre el Medio Ambiente y el Desarrollo. - Google Search, 1972*). Decisión del Consejo 93/626/CEE. El Convenio tiene tres objetivos:
 - Uso sostenible de componentes de la diversidad biológica.
 - Conservación de la diversidad biológica.
 - Reparto justo y equitativo de los beneficios derivados de la utilización de recursos genéticos.
- “Protocolo de Cartagena Sobre Seguridad de la Biotecnología del Convenio sobre la diversidad biológica”. (2002/628/CE). Artículo 2. Disposiciones generales: Reducir los riesgos para la diversidad biológica, teniendo también en cuenta los riesgos para la salud humana (Biológica, 2000).

Debido a la pandemia y confinamiento obligatorio por parte de las autoridades mexicanas, ocasionado por el virus SARS-COV-2, no se pudo concluir el proceso experimental en laboratorio.

Para dar continuidad al proyecto de tesis original, se realizó una investigación sobre la información del contenido de los antioxidantes sintéticos butilhidroxianisol (BHA), butilhidroxitolueno (BHT) y terbutilhidroquinona (TBHQ) en alimentos envasados y enlatados en México.

Basado en esta investigación, se elaboró un artículo de revisión que fue enviado para ser publicado a publicación en una revista científica.

7. Referencias Bibliográficas:

- Alofe, O., Kisanga, E., Inayat-Hussain, S. H., Fukumura, M., Garcia-Milian, R., Perera, L., Vasiliou, V. and Whirlledge, S. (2019) Determining the endocrine disruption potential of industrial chemicals using an integrative approach: Public databases, in vitro exposure, and modeling receptor interactions. *Environment international*, 131, 104969. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.104969>
- Arulselvan, P., Fard, M. T., Tan, W. S., Gothai, S., Fakurazi, S., Norhaizan, M. E., and Kumar, S. S. (2016) Role of Antioxidants and Natural Products in Inflammation. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2016, 5276130. <https://doi.org/10.1155/2016/5276130>
- Atta, E. M., Mohamed, N. H. and Abdelgawad, A. A. M. (2017) Antioxidants: an Overview on the Natural and Synthetic Types, *European Chemical Bulletin*, 6(8), p. 365. doi: 10.17628/ecb.2017.6.365-375.
- Ayala-Cortés S. 2019. *Determinación de la actividad antioxidante de extractos de hongos in vitro y en alimentos*. Tesis de maestría. Universidad Autónoma del Estado de México.
- Bajerová, P., Adam, M., Bajer, T., and Ventura, K. (2014) Comparison of various techniques for the extraction and determination of antioxidants in plants. *Journal of separation science*, 37(7), 835–844. <https://doi.org/10.1002/jssc.201301139>
- Baron, S. 1996. Medical Microbiology. 4ta edn, *Methods for General and Molecular Microbiology*. 4ta edn. University of Texas Medical Branch at Galveston. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK8125/> (Accessed: 6 October 2020).
- Brown, A., Cowen, L. E., di Pietro, A. and Quinn, J., (2017). Stress Adaptation. *Microbiology spectrum*, 5(4), 10.1128/microbiolspec.FUNK-0048-2016. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.FUNK-0048-2016>
- Carocho, M., Barreiro, M. F., Morales, P. and Ferreira, I. (2014) Adding molecules to food, pros and cons: A review on synthetic and natural food additives, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(4), pp. 377–399. doi: 10.1111/1541-4337.12065.
- Carocho, M., Morales, P., and Ferreira, I. C.F.R. (2017) Antioxidants: Reviewing the chemistry, food applications, legislation and role as preservatives, *Trends in Food Science and Technology*. Elsevier Ltd, 71, pp. 107–120. doi: 10.1016/j.tifs.2017.11.008.
- Convenio sobre la diversidad biológica. (2000) Protocolo de Cartagena Sobre Seguridad de la Biotecnología del Convenio sobre la diversidad biológica. Montreal. Available at: <http://www.biodiv.org> (Accessed: 15 October 2020).

Declaración de Río sobre el Medio Ambiente y el Desarrollo. - Google Search. 1972. Available at:

<https://www.google.com/search?q=Declaración+de+Río+sobre+el+Medio+Ambiente+y+el+Desarrollo.&oq=Declaración+de+Río+sobre+el+Medio+Ambiente+y+el+Desarrollo.&aqs=chrome..69i57j0l5.1418j0j4&sourceid=chrome&ie=UTF-8> (Accessed: 15 October 2019).

Dureja, A. G. and Dhiman, K. (2012) Free radical scavenging potential and total phenolic and flavonoid content of *Ziziphus mauritiana* and *Ziziphus nummularia* fruit extracts, *International Journal of Green Pharmacy (IJGP)*, 6(3). doi: 10.22377/IJGP.V6I3.259.

FAO. (2018) Norma general para los aditivos alimentarios. Available at: <http://www.who.int/ipcs/food/jecfa/en/> (Accessed: 4 November 2020).

FAO. (2019) The State of Food and Agriculture 2019. Moving forward on food loss and waste reduction. Rome. Available at: www.fao.org/publications (Accessed: 20 November 2020).

Gustavsson J, Cederberg C, Sonesson U, van Otterdijk R and Meybeck A. (2011) Global food losses and food waste, *Food Loss and Food Waste: Causes and Solutions*, pp. 1–37. doi: 10.4337/9781788975391.

Hameed, A., Hussain, S. A., Yang, J., Ijaz, M. U., Liu, Q., Suleria, H., and Song, Y. (2017) Antioxidants Potential of the Filamentous Fungi (*Mucor circinelloides*). *Nutrients*, 9(10), 1101. <https://doi.org/10.3390/nu9101101>

Hawksworth, D. L. (1991) The fungal dimension of biodiversity: magnitude, significance, and conservation, *Mycological Research*. British Mycological Society, 95(6), pp. 641–655. doi: 10.1016/S0953-7562(09)80810-1.

Karimi, Z., Ghaffari, M., Ezzati Nazhad Dolatabadi, J. and Dehghan, P. (2019) The protective effect of thymoquinone on tert-butylhydroquinone induced cytotoxicity in human umbilical vein endothelial cells. *Toxicology research*, 8(6), 1050–1056. <https://doi.org/10.1039/c9tx00235a>

Karmakar, R., Kumar, S. and Prakash, H. S. (2013) Fungal Endophytes from *Garcinia* Species, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5(3), pp. 889–897.

Kaur, P., Ghoshal, G. and Jain, A. (2019) Bio-utilization of fruits and vegetables waste to produce β -carotene in solid-state fermentation: Characterization and antioxidant activity, *Process Biochemistry*. Elsevier Ltd, 76, pp. 155–164. doi: 10.1016/j.procbio.2018.10.007.

- Khiralla, A., Mohamed, I., Thomas, J., Mignard, B., Spina, R., Yagi, S., and Laurain-Mattar, D. (2015) A pilot study of antioxidant potential of endophytic fungi from some Sudanese medicinal plants. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 8(9), 701–704. <https://doi.org/10.1016/j.apjtm.2015.07.032>
- Leos-Rivas, C., Rivas-Morales, C. and García-Hernández, D. (2016) Actividad antioxidante y toxicidad. En Rivas-Morales, C., Oranday-Cardenas, M.A., & Verde-Star, M.J. (Eds.). *Investigación en plantas de importancia médica*. Barcelona, España: OmniaScience. 41-76.
- Mahapatra, S. K. and Parija, S. C. (2018) Food additives: potential risk for cancer, *World Journal of Pharmaceutical Research*, 7(9), pp. 405–410. doi: 10.20959/wjpr20189-12120.
- Norma Oficial Mexicana NOM-065-SSA1-1993* (1993) Available at: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/065ssa13.html> (Accessed: 15 October 2021).
- Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002* (2002) Available at: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/087ecolssa.html> (Accessed: 15 October 2021).
- Pisoschi, A. M., Pop, A., Cimpeanu, C. and Predoi, G. (2016) Antioxidant capacity determination in plants and plant-derived products: A review, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. Hindawi Limited. doi: 10.1155/2016/9130976.
- Prathyusha, A. M. V. N., Mohana Sheela, G. and Bramhachari, P. V. (2018) Chemical characterization and antioxidant properties of exopolysaccharides from mangrove filamentous fungi *Fusarium equiseti* ANP2, *Biotechnology Reports*. Elsevier B.V., 19. doi: 10.1016/j.btre.2018.e00277.
- Prihantini, A. I. and Tachibana, S. (2017) Antioxidant compounds produced by *Pseudocercospora* sp. ESL 02, an endophytic fungus isolated from *Elaeocarpus sylvestris*, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. Hainan Medical University, 7(2), pp. 110–115. doi: 10.1016/j.apjtb.2016.11.020.
- Prior, R. L., Wu, X., and Schaich, K. (2005) Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. American Chemical Society, 53(1), pp. 4290–4302. doi: 10.1021/JF0502698.
- Qin, Y., Chen, L., Jin, J., Huang, J., Li, J., Zhou, Q., Zhou, R., and Zhang, S. H. (2018) Screening and Identification of Antioxidants from *Ophiocordyceps xuefengensis*

- (Ascomycetes) by Using DPPH-HPLC-DAD-Q-TOF-MS/MS. *International journal of medicinal mushrooms*, 20(9), pp. 887–899. doi: 10.1615/IntJMedMushrooms.2018027390.
- Ramana, K. V., Reddy, A., Majeti, N., and Singhal, S. S. (2018) Therapeutic potential of natural antioxidants, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, Hindawi. doi: 10.1155/2018/9471051.
- Ricco, R. A., Agudelo, I. J. and Wagner, M. L. (2015) Métodos empleados en el análisis de los polifenoles en un laboratorio de baja complejidad, *Lilloa*, 52(2), pp. 161–174. doi: doi.org/10.30550/j.lil.
- Salehi, B., Martorell, M., Arbiser, J. L., Sureda, A., Martins, N., Maurya, P. K., Sharifi-Rad, M., Kumar, P., and Sharifi-Rad, J. (2018) Antioxidants: Positive or Negative Actors?, *Biomolecules*, 8(4). doi: 10.3390/biom8040124.
- SEDESOL (Secretaría de Desarrollo Social) 2013. *Desperdicio de Alimentos en México*. Available at: http://www.sedesol.gob.mx/boletinesSinHambre/Informativo_02/infografia.html (Accessed: 28 September 2020).
- Skoog, D. A., Holler, J. H., Nieman, T. A. (2008) *Principios de Análisis Instrumental*, 6a Edición. Cengage Learning. México, DF.
- Staerck, C., Gastebois, A., Vandeputte, P., Calenda, A., Larcher, G., Gillmann, L., Papon, N., Bouchara, J. P., and Fleury, M. (2017) Microbial antioxidant defense enzymes, *Microbial Pathogenesis*. Academic Press, pp. 56–65. doi: 10.1016/j.micpath.2017.06.015.
- Sugiharto, S. (2019) A review of filamentous fungi in broiler production, *Annals of Agricultural Sciences*. Faculty of Agriculture, Ain-Shams University. doi: 10.1016/j.aoas.2019.05.005.
- Sugiharto, S., Yudiarti, T. and Isroli, I. (2016) Assay of antioxidant potential of two filamentous fungi isolated from the Indonesian fermented dried cassava, *Antioxidants*. MDPI AG, 5(1). doi: 10.3390/antiox5010006.
- Gonçalves Tavares, D., Lessa Barbosa B.V., Lopes Ferreira, R., Ferreira Duarte, W., Gomes Cardoso, P. (2018) Antioxidant activity and phenolic compounds of the extract from pigment-producing fungi isolated from Brazilian caves, *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. Elsevier Ltd, 16(June), pp. 148–154. doi: 10.1016/j.bcab.2018.07.031.

- Vandghanooni, S., Forouharmehr, A., Eskandani, M., Barzegari, A., Kafil, V., Kashanian, S. and Ezzati Nazhad Dolatabadi, J. (2013) Cytotoxicity and DNA fragmentation properties of butylated hydroxyanisole, *DNA and Cell Biology*, 32(3), pp. 98–103. doi: 10.1089/dna.2012.1946.
- Wu, B., Hussain, M., Zhang, W., Stadler, M., Liu, X. and Xiang, M.B. (2019) Current insights into fungal species diversity and perspective on naming the environmental DNA sequences of fungi, *Mycology*. Taylor & Francis, 10(3), pp. 127–140. doi: 10.1080/21501203.2019.1614106.
- Zhang, Y., Navarro E., Cánovas-Márquez J.T., Almagro L., Chen H., Chen Y.Q., Zhang H., Torres-Martínez S., Chen W. and Garre V. (2016) A new regulatory mechanism controlling carotenogenesis in the fungus *Mucor circinelloides* as a target to generate β -carotene over-producing strains by genetic engineering, *Microbial cell factories*, 15, p. 99. doi: 10.1186/s12934-016-0493-8.

8. Anexos:

8.1 Carta de envío del artículo

← [ES] Recepción de artículo +

 Lauro Paz <estudiosociales@ciad.mx>
 Mar 22/06/2021 06:27 PM
 Para: Usted ↶ ↷ → ...

Jocelyn Astrid Carbajal:

La revista Estudios Sociales. Revista de Alimentación Contemporánea y Desarrollo Regional, ha recibido su material: "Estado de la información del consumo en México de antioxidantes sintéticos en alimentos ultra-procesados, basados en los productos de la canasta básica "

El trabajo pasará a revisión por parte del editor y del Comité Editorial Interno para determinar la pertinencia con respecto de las temáticas y líneas de investigación de la revista. Le informaremos el resultado de la revisión en, aproximadamente, un mes. Si el resultado es positivo, su trabajo será enviado a evaluación externa por pares en la modalidad de doble ciego. El proceso de evaluación toma entre tres y cuatro meses en promedio.

Agradecemos su envío y apreciamos su interés en nuestra revista.

Con nuestro sistema de gestión de revistas en línea, podrá iniciar sesión en el sitio web de la revista y hacer un seguimiento de su progreso a través del proceso editorial.

URL del manuscrito: <https://www.ciad.mx/estudiosociales/index.php/es/authorDashboard/submission/1143>
 Nombre de usuario/a: astrid_c

En caso de dudas, contacte conmigo. Gracias por elegir esta revista para enviar su trabajo.

Jesús Lauro Paz Luna
 Estudios Sociales.
 Revista de Alimentación Contemporánea y Desarrollo Regional
 Master of Arts
 Editor
 -- M of A Lauro Paz Estudios Sociales. Revista de Investigación Científica <http://www.ciad.mx/estudiosociales>

8.2 Resumen del artículo

Estado de la información del consumo en México de antioxidantes sintéticos en alimentos ultra - procesados, basados en los productos de la canasta básica

State of the information on the consumption in Mexico of synthetic antioxidants in ultra-processed foods, based on the products of the basic basket

Jocelyn Astrid Carbajal-Sánchez¹, Ninfa Ramírez-Durán¹, Marcela Gamboa-Angulo², Pablo Antonio Moreno-Pérez¹

¹Facultad de Medicina, Universidad Autónoma del Estado de México, México

²Centro de Investigación Científica de Yucatán, México

Objetivo: El objetivo de esta revisión es dar a conocer el estado de la información del consumo de antioxidantes sintéticos en alimentos ultra-procesados en México, basándose en los productos de la canasta básica. **Metodología:** Se seleccionaron los alimentos, disponibles envasados o enlatados, que comprenden la canasta básica mexicana, de tiendas de conveniencia y misceláneas representativas de los 125 municipios del estado de México, se registró la información del contenido y concentración de los antioxidantes sintéticos (AS) butilhidroxianisol (BHA), butilhidroxitolueno (BHT) y terbutilhidroquinona (TBHQ), posteriormente los alimentos se clasificaron bajo el sistema NOVA. **Resultados:** Se encontraron 53 productos alimenticios derivados de la canasta básica mexicana que son comercializados envasados o enlatados, el 71% menciona el tipo de antioxidante utilizado y solo el 18% la concentración. De acuerdo con la clasificación NOVA, más del 73% de los alimentos pertenecen a la clasificación 4 de productos ultra-procesados, de los cuales solo 11 reportan el antioxidante sintético utilizado, ninguno menciona la concentración. **Limitaciones:** Se carece de información del contenido y concentración del antioxidante utilizado en la etiqueta de información nutricional. **Conclusiones:** Solo el 18% de los productos analizados informa la concentración del antioxidante sintético utilizado, consecuentemente la Ingestión Diaria Admisible puede ser subestimada. Es necesario realizar más investigaciones sobre la exposición dietética a AS en los mexicanos.