



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS
Y BIOTECNOLOGÍA
CARRERA DE ALIMENTOS



Capacidad antioxidante del Kimchi elaborado en Ecuador a partir de *Brassica oleracea var. capitata*.

Informe final de integración curricular, modalidad Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniero en Alimentos, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Autor: Juan Pablo Castro Palacios

Tutor: PhD. Rubén Darío Vilcacundo Chamorro

Ambato – Ecuador

Septiembre - 2022

APROBACIÓN DEL TUTOR

PhD. Rubén Darío Vilcacundo Chamorro

Certifica:

Que el presente Informe Final de Integración Curricular ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de este Informe Final de Integración Curricular, Modalidad Proyecto de Investigación, el mismo que se responde a las normas establecidas en el Reglamento de Títulos y Grados de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Ambato, 26 de agosto del 2022.

PhD. Rubén Darío Vilcacundo Chamorro

C.I. 1802738102

TUTOR

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Juan Pablo Castro Palacios, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Informe Final de Integración Curricular, modalidad Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniero en Alimentos, son absolutamente originales, auténticos y personales, a excepción de las citas bibliográficas.



Juan Pablo Castro Palacios

1850331925

Autor

APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos Profesores Calificadores, aprueban el presente Informe Final de Integración Curricular, modalidad Proyecto de Investigación, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

Para constancia firman:

Presidente del Tribunal

Dra. Dayana Morales

1804135570

Dr. Orestes López

1754784864

Ambato, 05 septiembre del 2022

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Informe Final de Integración Curricular o parte de él, un documento disponible para su lectura consulta y proceso de investigación según las normas de la Institución.

Cedo los Derechos en línea patrimoniales de mi Informe Final de Integración Curricular, con fines de difusión pública, además apruebo de este, dentro de las regulaciones de la universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.



Juan Pablo Castro Palacios

1850331925

Autor

DEDICATORIA

A mi madre, Patricia Palacios que ha sido el pilar fundamental de mi familia, quien siempre creyó, cree y seguirá creyendo en mí, quien siempre me apoyó en mis estudios incondicionalmente y gracias a quien aprendí a ser un estudiante responsable con deseos de superarse día a día para ser el mejor en todo lo que haga.

A mi padre, Patricio Castro que siempre estuvo a mi lado apoyándome en mis estudios, gracias a quien aprendí el valor de la puntualidad y el respeto hacia las demás personas.

A mi hermano, Ismael Castro por su apoyo incondicional.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco desde el fondo de mi corazón a mis padres por todo su sacrificio y esfuerzo durante toda mi carrera universitaria, desde hoy en adelante mi principal objetivo en la vida será devolverles todo y más de lo que me han dado, gracias por confiar en mí mami Paty y papi Pato.

A mi hermano Ismael y a mi primo Fernando que siempre con su apoyo y palabras de aliento me ayudaron a entender que siempre tendré a alguien en quien confiar y acudir cuando tenga dudas o inconvenientes.

A la Universidad Técnica de Ambato, especialmente a la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología por haberme formado durante estos 5 años de carrera.

A mi tutor, Dr. Rubén Vilcacundo por su paciencia y confianza tanto en mí como en el proyecto propuesto.

A todos los docentes que formaron parte de mi educación durante la carrera.

A mi compañera y amiga Carla que siempre estuvo a mi lado ayudándome y recordándome de las asignaciones y tareas pendientes.

A todos mis compañeros que de alguna u otra forma me ayudaron durante la carrera.

¡Gracias a todos!

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

APROBACIÓN DEL TUTOR	ii
DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD	iii
APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE GRADO	iv
DERECHOS DE AUTOR	v
DEDICATORIA	vi
AGRADECIMIENTOS	vii
ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS	viii
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE TABLAS	xii
ÍNDICE DE GRÁFICOS	xiii
RESUMEN	xiv
ABSTRACT	xv
CAPITULO I	
MARCO TEÓRICO	1
1.1. Antecedentes investigativos	1
1.1.1. Origen.....	1
1.1.2. Beneficios a la salud.....	2
1.1.3. Matriz	3
1.1.4. Nutrición	4
1.1.5. Compuestos bioactivos.....	6
1.1.6. Actividad antioxidante	6
1.1.7. Fermentación.....	7
1.1.8. Liofilización	8
1.1.9. Pulverización.....	9

1.1.10.	Metodología ABTS (Ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico).....	9
1.1.11.	Consideraciones.....	10
1.2.	Objetivos	10
1.2.1.	Objetivo General	10
1.2.2.	Objetivos específicos	10
1.3.	Hipótesis.....	11
1.3.1.	Hipótesis Nula.....	11
1.3.2.	Hipótesis Alternativa.....	11
1.4.	Señalamiento de variables de la hipótesis.....	11
1.4.1.	Variable independiente.....	11
1.4.2.	Variable dependiente.....	11
CAPITULO II		
METODOLOGÍA		
12		
2.1.	Materiales.....	12
2.1.1.	Materia prima.....	12
2.1.2.	Materiales de laboratorio	13
2.1.3.	Equipos	13
2.1.4.	Reactivos.....	14
2.2.	Métodos.....	14
2.2.1.	Preparación del Kimchi.....	14
2.2.2.	Determinación de la capacidad antioxidante del Kimchi.....	15
2.2.3.	Diseño Experimental.....	16
CAPITULO III		
RESULTADOS Y DISCUSIÓN		
18		
3.1.	Análisis y discusión de los resultados	18
3.1.1.	Preparación de Kimchi utilizando <i>Brassica oleracea var. capitata</i>	18

3.1.2. Capacidad antioxidante en la matriz alimentaria antes y después de pasar por un proceso de fermentación	21
3.1.3. Efecto del tiempo sobre la capacidad antioxidante de la matriz alimentaria	24
3.2. Verificación de hipótesis	26
CAPITULO IV	
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	27
4.1. Conclusiones.....	27
4.2. Recomendaciones	28
MATERIALES DE REFERENCIA	29
5.1. Referencias bibliográficas	29
5.2. Anexos.....	33

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Península surcoreana	1
Figura 2. Baechu Kimchi (Kimchi tradicional elaborado con <i>Brassica rapa pekinensis</i>).....	4
Figura 3. Condiciones para sublimación de agua en un diagrama de fases.	9
Figura 4. Ingredientes para la preparación de Kimchi.....	33
Figura 6. Frascos de vidrio modificados.....	33
Figura 5. Frascos de vidrio y airlockers.....	33
Figura 7. Remojo de la col en solución de sal al 10%.	34
Figura 8. Recipientes e ingredientes preparados.....	34
Figura 9. Recipientes e ingredientes post mezcla	34
Figura 10. Preparación de la salsa de Kimchi.....	35
Figura 11. Mezcla de los ingredientes	35
Figura 12. Kimchi preparado y envasado	35
Figura 13. Colocación de fundas de plástico negras.....	35
Figura 14. Congelación de muestras a – 80°C.....	36
Figura 15. Liofilización de las muestras	36
Figura 16. Muestras Liofilizadas	36
Figura 17. Muestras Trituradas	37
Figura 18. Radical ABTS.....	37
Figura 19. Pesaje de las muestras.....	38
Figura 20. Preparación de los patrones para la curva de calibrado.....	38
Figura 21. Centrifugación de las muestras.....	38
Figura 22. Medición de las absorbancias de las muestras.....	38

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N1. Información nutricional de baechu Kimchi (media tasa de Kimchi)	5
Tabla N2. Diseño aleatorio al azar	17
Tabla N3. Ingredientes utilizados en la preparación de Kimchi	19
Tabla N4. Resultados de la capacidad antioxidante del Kimchi obtenidos mediante la metodología ABTS.....	21
Tabla N5. Variación de la CA por intervalos.....	24
Tabla N6. Resultados de la capacidad antioxidante del Kimchi obtenidos mediante la metodología ABTS.....	39
Tabla N7. Tabla ANOVA para Tratamientos por Observaciones	40
Tabla N8. Pruebas de Múltiple Rangos para Tratamientos por Observaciones.....	40
Tabla N9. Pruebas de Múltiple Rangos por intervalos	40

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Variación de la capacidad antioxidante del Kimchi en función del tiempo de fermentación.....	25
Gráfico 2. Curva de calibrado patrón Trolox para metodología ABTS (0 $\mu\text{M}/\text{ml}$ a 600 $\mu\text{M}/\text{ml}$)	41

RESUMEN

El Kimchi es un alimento fermentado consumido en Corea del Sur hace 2000 años atrás aproximadamente. El principal objetivo del presente trabajo de investigación fue evaluar la capacidad antioxidante (CA) del Kimchi elaborado en Ecuador, antes y después del proceso de fermentación. Se utilizó una formulación con ciertas modificaciones con relación a otras investigaciones, cuyo ingrediente principal fue *Brassica oleracea var. capitata* con un 78.73 por ciento. Se prepararon 2 batches y se dejó fermentar a oscuras a una temperatura promedio de 17 grados Celsius por 9 días. Las muestras objeto de análisis se tomaron cada 3 días previamente liofilizadas y trituradas. La capacidad antioxidante del Kimchi fue determinada mediante la metodología ABTS, obteniéndose en el día 0 un valor relativamente alto (19975.43 más menos 1999.35 micromoles Trolox Equivalentes por gramo de muestra seca), debido a la presencia de fitoquímicos con propiedades antioxidantes propios de los ingredientes utilizados. Después de nueve días de fermentación el valor se incrementó (27393.71 más menos 93.72 micromoles Trolox Equivalentes por gramo de muestra seca). Además, se comprobó que el valor máximo de la CA se alcanzó al sexto día de tratamiento al no existir diferencia significativa con el valor encontrado en el noveno día. Los intervalos de los días 0-6, 0-9 y 3-9 presentaron incrementos estadísticamente significativos de CA, los mismos que fueron de 31.22 por ciento, 37.14 por ciento y 21.44 por ciento, respectivamente.

Palabras clave: Kimchi, capacidad antioxidante, radicales libres, fermentación ácido láctica, ABTS, *Brassica oleracea var. capitata*.

ABSTRACT

Kimchi is a fermented food consumed in South Korea approximately 2,000 years ago. The main objective of this research work was to evaluate the antioxidant capacity (AC) of Kimchi made in Ecuador, before and after the fermentation process. A formulation was used with certain modifications in relation to other investigations, whose main ingredient was *Brassica oleracea var. capitata* with 78.73 percent. Two batches were prepared and left to ferment in the dark at an average temperature of 17 degrees Celsius for 9 days. The samples to be analyzed were taken every 3 days, previously lyophilized and crushed. The antioxidant capacity of Kimchi was determined using the ABTS methodology, obtaining a relatively high value on day 0 (19975.43 more less 1999.35 micromoles Trolox Equivalent per gram of dry sample), due to the presence of phytochemicals with antioxidant properties typical of the ingredients used. After nine days of fermentation the value increased (27393.71 more less 93.72 micromoles Trolox Equivalent per gram of dry sample). In addition, it was found that the maximum value of antioxidant capacity was reached on the sixth day of treatment as there was no significant difference with the value found on the ninth day. The intervals of days 0-6, 0-9 and 3-9 presented statistically significant increases in CA, which were 31.22 percent, 37.14 percent and 21.44 percent, respectively.

Key words: Kimchi, antioxidant capacity, free radicals, lactic acid fermentation, ABTS, *Brassica oleracea var. capitata*.

CAPITULO I

MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes investigativos

1.1.1. Origen

La tradición oral y varios manuscritos chinos han mostrado que en el territorio sur coreano se ha consumido alimentos fermentados desde hace 2000 años atrás. Inicialmente, la palabra Kimchi era utilizada para referirse a un grupo general de vegetales salados y fermentados. Debido a que gran parte de la documentación escrita estaba influenciada directamente por China, este término era originalmente denotado con el símbolo ‘*chimchae*’, el cual sería adaptado a ‘*dimchae*’, seguido por ‘*dimchi*’ hasta que se empezó a popularizar el término utilizado en la actualidad (*Kimchi*), el mismo que ya no utiliza caracteres chinos para su escritura sino símbolos propios del alfabeto coreano (Park, Kim, and Jeong 2017).



Figura 1. Península surcoreana

Fuente: (Park, Kim, and Jeong 2017).

En principio, el principal objetivo de las personas en la península coreana era buscar formas de preservar sus alimentos por periodos más largos de tiempo, razón por la cual, descubrieron que tras adicionar vinagre y sal sus alimentos permanecían comestibles y con un mejor sabor. Sin embargo, no eran conscientes que la agregación de dichos ingredientes restringía el crecimiento microbiano, lo cual aumentaba el tiempo de vida útil. Esta metodología estaba lejos de ser similar a la que se utiliza en la elaboración del Kimchi (**Jang et al. 2015**).

Por otro lado, las habitantes del territorio coreano se percataron que, al mezclar un vegetal con pimienta roja en polvo, el sabor era más punzante y agradable, al mismo tiempo les permitía prolongar la utilidad de un producto que de otra forma se dañaría en cuestión de días. Las personas no sabían que la adición de pimienta roja creaba un ambiente idóneo para el crecimiento de bacterias ácido-lácticas (BAL), las mismas que dan paso a un proceso fermentativo y por ende a un aumento en la vida útil de alimento. Posteriormente, esta costumbre se iría pasando de manera oral de generación en generación hasta convertirse en la receta más representativa del país (**Jang et al. 2015; Park et al. 2017**).

1.1.2. Beneficios a la salud

Algunos de los beneficios más evidentes por el consumo del Kimchi a mediano y largo plazo son la reducción del colesterol LDL (Low Density Lipoprotein) y aumento del HDL (High Density Lipoprotein), retardo en el proceso de envejecimiento, disminución del riesgo de contraer cáncer, mejora del porcentaje de masa muscular y disminución de grasa corporal. Estos dos últimos beneficios relacionados con la recomposición corporal se deben gracias al alto contenido en fibra, agua y, sabor picante del alimento, lo cual permite disminuir la ingesta calórica total de los consumidores al final del día, ya que crean una sensación de saciedad (**Kim and Park 2018**).

Adicionalmente, cuando el alimento se encuentra al interior del organismo, promueve una mejor salud gastrointestinal porque reduce el conteo de enterobacterias perjudiciales tales como *Clostridium sp* y *Escherichia coli*, al

mismo tiempo que promueve la proliferación de bacterias beneficiosas como *Faecalibacterium sp.*, *Bifidobacterium sp.*, y *Bifidobacterium adolescent* (**Hongu et al. 2017**).

1.1.3. Matriz

El Kimchi es un alimento fermentado preparado a partir de col china (*Brassica rapa pekinensis*), rábano (*Raphanus sativus*), cebolla (*Allium cepa*), pimienta roja en polvo, ajo (*Allium sativum*), jengibre (*Zingiber officinale*), jugo de pescado e incluso en ocasiones y dependiendo de la zona en donde se lo prepara, puede contener jeotgal (proteína fermentada del mar). En su país de origen se puede encontrar cientos de recetas y versiones de este plato. Desde recetas utilizando únicamente rábano, lechuga y pepinillo hasta la tradicional utilizando las hojas de col (**Kim and Park 2018**).

Su preparación puede diferir incluso dentro de Corea del Sur, no obstante, el común denominador es la utilización de pimienta roja conocida también como ‘gochugaru’. Su gran aceptación entre la población surcoreana se debe a su sabor agrídulce carbonatado resultante de los procesos fermentativos que se dan durante su elaboración. Además, puede ser combinado con cualquier otro tipo de receta, de hecho, el Kimchi raramente se consume solo, ya que se lo utiliza como acompañante del arroz, junto con algún tipo de proteína (marina o bobina), otros vegetales, platos tradicionales (bibimbap, gopchang, japchae, etc.) o incluso como ingrediente para la preparación de productos como por ejemplo quesadillas o pancakes de Kimchi (**Hongu et al. 2017**).



Figura 2. Baechu Kimchi (Kimchi tradicional elaborado con *Brassica rapa pekinensis*).

Fuente: (Jang et al. 2015)

1.1.4. Nutrición

Desde 2006, cuando la revista estadounidense *Health* denominó al Kimchi como uno de los 5 mejores alimentos nutritivos y saludables, su popularidad y aceptación se incrementó notablemente y con justa razón, ya que, estudios previos han demostrado que el Kimchi aporta pocas calorías por cada porción (15 kcal por media tasa) (Noh et al. 2016). Adicionalmente, Hongu et al. (2017) señala que el alimento también aporta fibra dietética, proteína, ácidos grasos de tipo omega 3, vitaminas y minerales.

Debido a la gran diversidad de tipos de Kimchi, tiempos de fermentación, microorganismos utilizados, condiciones ambientales, etc, es casi imposible crear una tabla nutricional que abarque a todos los existentes, sin embargo, la tabla que se muestra a continuación puede servir como una fuente de partida con la que se puede comparar, si lo que se busca es la preparación del alimento en otras partes del mundo. Cabe recalcar que, la tabla presentará mayor similitud con recetas en las que el ingrediente principal se caracteriza por tener hojas y que pertenezca a la familia Brassicaceae. El ejemplo más claro como sustituto a *Brassica rapa pekinensis* es *Brassica oleracea var. capitata*.

Tabla N1. Información nutricional de baechu Kimchi (media tasa de Kimchi)

Nutriente	Cantidad	% ingesta diaria
Calorias Totales	15	1% limite
Proteina	1 g	3% del total
Carbohidratos	2 g	2% del total
Fibra dietetica	1 g	2% del total
Azúcares totales	1 g	No limite ni ingesta diaria
Grasa Total	0 g	No limite ni ingesta diaria
Grasa Saturada	0 g	0% limite
Grasa monosaturada	0 g	No limite ni ingesta diaria
Grasa poliinsaturada	0 g	No limite ni ingesta diaria
Ácido Linoléico	0 g	0% del total
Ácido α -Linolenico	0 g	2% del total
Omega 3-EPA	8 mg	No limite ni ingesta diaria
Omega 3-DHA	11 mg	No limite ni ingesta diaria
Colesterol	0 mg	0% limit
Calcio	48 mg	5% del total
Potasio	173 mg	4% del total
Sodio	128 mg	6% del total
Cobre	39 mg	4% del total
Hierro	0 mg	3% del total
Magnesio	13 mg	4% del total
Fósforo	34 mg	5% del total
Selenio	1 mg	1% del total
Zinc	0 mg	2% del total
Vitamina A	94 mg	13% del total
Vitamina B6	0.1 mg	10% del total
Vitamina B12	0.2 mg	7% del total
Vitamina C	28 mg	37% del total
Vitamina D	0 mg	0% del total
Vitamina E	0 mg	1% del total
Vitamina K	28 mg	31% del total
Folato	32 mg	8% del total
Tiamina	0 mg	3% del total
Riboflavina	0.1 mg	5% del total
Niacina	1 mg	4% del total
Colina	5 mg	1% del total

Fuente: (Hongu et al. 2017)

1.1.5. Compuestos bioactivos

Los beneficios a la salud humana por el consumo regular de Kimchi se deben a la presencia de compuestos biológicos y funcionales en la matriz, denominados fitoquímicos, los cuales provienen de los vegetales (col, rábano, jengibre, cebolla, etc.) tales como la capsaicina, clorofila, compuestos alilos y gingerol. A su vez, se han encontrado componentes con actividad antioxidante, antiinflamatoria y anticancerígena como el isotiocianato de bencilo, tiocianatos, β -sitosterol. En particular, la función antioxidante permite contrarrestar los efectos perjudiciales causados por los radicales libres (RL) (envejecimiento prematuro, aumento en la probabilidad de desarrollar cáncer, etc.). Algunos de los compuestos nutritivos con actividad biológica que se presentan en mayor proporción dentro de su composición son vitaminas (C, complejo B, β -carotenos, D, E, etc.) y minerales (Na, Ca, K, Fe, P, etc.). (Hongu et al. 2017; Park et al. 2017).

Por otra parte, la presencia y proliferación de BAL permite un aumento en las propiedades funcionales del alimento a causa de su metabolismo anaeróbico fermentativo que libera especies antioxidantes en forma de metabolitos. Algunos de estos compuestos son el manitol, bacteriocinas, ácido γ -amino butírico, ácidos linoleicos conjugados, ortonitrina, oligosacáridos. Cabe mencionar que estos compuestos pueden variar en función de las condiciones en las que la fermentación se lleva a cabo (Park et al. 2017).

1.1.6. Actividad antioxidante

Los RL son especies químicas reactivas conocidas por causar daños estructurales en tejidos, oxidación de lípidos, desnaturalización de proteínas y despolimerización de polisacáridos que, después de un tiempo contribuyen al envejecimiento prematuro e incluso al desarrollo de ciertos tipos de cáncer (Ruiz Martínez and Morales Hernández 2015).

En respuesta a los daños causados por los RL, se encontró que los antioxidantes son compuestos que impiden la oxidación a nivel fisiológico, cediendo electrones

hacia los RL y, contribuyendo a una mejor salud cutánea, hormonal, metabólica, etc (**Ramírez et al. 2012**). Como consecuencia, el consumo recurrente de alimentos con antioxidantes puede representar un beneficio a la salud bastante interesante a mediano y largo plazo.

En Corea del Sur, cada habitante consume en promedio 100 g de Kimchi por día, lo cual representa el 50% de la ingesta diaria recomendada de vitamina C y carotenos. Además, aporta también con otro tipo de antioxidantes como flavonoides y compuestos fenólicos. Posiblemente, este tipo de dieta ha sido uno de los factores que ha contribuido a que la población surcoreana sea una de las culturas con índices más bajos en muertes por cáncer de piel (0.23% según datos de la OMS de 2018) (**Tan 2017; Ryu et al. 2019**).

1.1.7. Fermentación

Dentro del proceso de elaboración, la fermentación se lleva a cabo por acción de las BAL, las mismas que, consumen los azúcares del medio y liberan como producto ácido láctico en un medio anaerobio. Estas bacterias se encuentran de manera natural en los ingredientes y son denominadas halo tolerantes debido a que resisten concentraciones altas de acidez y sal (**Chin 2020**).

El proceso de fermentación del Kimchi puede ser descrito en 4 etapas en función de la acidez; inicial (<0.2%), inmadura (0.2 – 0.4%), óptima (0.4 – 0.9%) y sobre fermentada (>0.9%). Este proceso depende directamente del desarrollo de las BAL ya que, a mayor cantidad, mayor será el ácido láctico producido y, por ende, mayor será la acidez del medio. Es por esta razón que el proceso fermentativo del Kimchi se lleva a cabo en 2 etapas; la primera a temperatura ambiente por un máximo de 5 días (15-22 °C) que permite un crecimiento de bacterias considerable para que pueda dar inicio la fermentación y, el segundo que se lleva a una temperatura baja (4-8 °C) con la finalidad de que el alimento pueda fermentarse a menor velocidad por un mayor período de tiempo sin llegar a la etapa de sobrefermentación. Actualmente se cree que las cepas de género *Leuconostoc*, *Weisella* y

Lactobacillus son las responsables de las propiedades fisicoquímicas del Kimchi durante el proceso fermentativo (Noh et al. 2016; Park et al. 2017).

La capacidad antioxidante (CA) del Kimchi varía dependiendo de la microflora y del tiempo de fermentación, lo cual hace muy difícil definir un estándar en cuanto a la actividad antioxidante del producto cuando es elaborado de manera casera, sin embargo, esta característica biológicamente hablando, permite que, cambiando ciertos ingredientes y variando los tiempos de fermentación, se pueda obtener una extensa variedad de compuestos antioxidantes (Park et al. 2011).

Por el contrario, a nivel industrial la gran variedad de BAL representa un gran desafío al momento de mantener un estándar de calidad constante. En respuesta a esta problemática, la utilización de cultivos iniciadores han mostrado ser una opción útil y eficiente para mantener la calidad de batch a batch. Algunas de las cepas más utilizadas en estos cultivos iniciadores y que muestran mayor actividad probiótica son *Leuconostoc citreum*, *Leuconostoc mesenteroides* y *Lactobacillus plantarum* (Park et al. 2017).

1.1.8. Liofilización

Es una técnica utilizada para remover el agua de un material (alimentos, células, plasma, sangre, etc.) a bajas temperaturas, mediante sublimación; es decir, el agua en el interior pasa directamente de estado sólido a gaseoso. Durante el procedimiento, es necesario primero congelar la muestra y posteriormente exponerla a una cámara de vacío en donde el agua se eliminará y será recolectada. Esto es posible únicamente cuando el agua dentro de la muestra se encuentra en condiciones por debajo del punto triple (temperatura < a 0.01 °C y presión < a 611.73 Pa) (Berk 2013) .

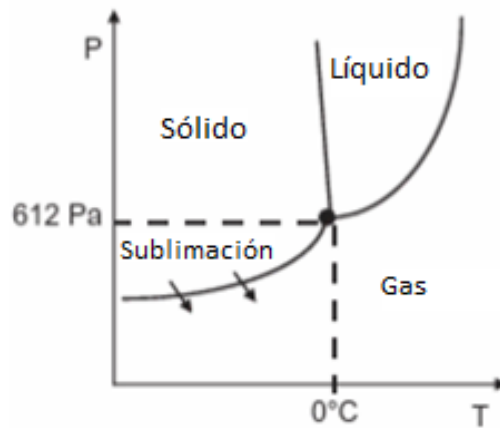


Figura 3. Condiciones para sublimación de agua en un diagrama de fases.

Fuente: (Berk 2013)

1.1.9. Pulverización

El proceso es realizado con la finalidad de asegurar una mayor fiabilidad de los análisis posteriores. Reduciendo el tamaño de partícula de la muestra se garantiza una mejor uniformidad y una toma de muestra más representativa de toda la matriz; es decir, los analitos de interés podrán ser estudiados de una manera más precisa y por consiguiente, los resultados al final del análisis serán mucho más confiables (Samaniego et al. 2020).

1.1.10. Metodología ABTS (Ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)

Se basa en la medición de la cantidad de iones ABTS antes y después de la agregación de la sustancia antioxidante a medir utilizando una curva de calibrado, siendo la diferencia entre ambas mediciones la CA expresada en equivalentes de Trolox (TEAC). La principal diferencia con otras metodologías (DPPH, FRAP, ORAC, etc.) es su capacidad para detectar la presencia de iones tanto hidrofílicos como hidrofóbicos, lo cual presenta una gran ventaja en el estudio de matrices

alimenticias como vegetales o frutas con cantidades considerables de carotenos y vitaminas liposolubles (**Apak and Capanoglu 2017**)

1.1.11. Consideraciones

La elaboración y consumo del Kimchi utilizando *Brassica oleracea var. capitata*, una variedad de col comúnmente cosechada en Ecuador podría ayudar a combatir enfermedades causadas por la presencia de RL, aun cuando, uno de los problemas más significativos es elaborar dicho producto con ingredientes propios del sector (Ambato, Ecuador). No existe información sobre la CA del producto elaborado con materias primas de zonas geográficas diferentes.

Con estos antecedentes, la presente investigación se plantea como objetivo principal la evaluación de la CA del Kimchi elaborado a partir de *Brassica oleracea var. capitata*, con la finalidad de que los resultados presentados sirvan como un punto de partida para investigaciones relacionadas a la identificación de los compuestos antioxidantes y su efecto en el organismo humano.

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo General

- Evaluar la capacidad antioxidante del Kimchi elaborado en Ecuador a partir de *Brassica oleracea var. capitata*.

1.2.2. Objetivos específicos

- Preparar Kimchi utilizando *Brassica oleracea var. capitata* como principal ingrediente.

- Determinar la capacidad antioxidante de la matriz alimentaria antes y después de pasar por un proceso de fermentación.
- Evaluar el efecto del tiempo en días sobre la capacidad antioxidante de la matriz alimentaria.

1.3. Hipótesis

1.3.1. Hipótesis Nula

H₀: No existe diferencia significativa de la capacidad antioxidante en función del tiempo de fermentación

1.3.2. Hipótesis Alternativa

H_a: Si existe diferencia significativa de la capacidad antioxidante en función del tiempo de fermentación.

1.4. Señalamiento de variables de la hipótesis

1.4.1. Variable independiente

- Tiempo de fermentación

1.4.2. Variable dependiente

- Actividad antioxidante

CAPITULO II

METODOLOGÍA

La primera parte experimental del presente proyecto se lo realizó en las instalaciones del laboratorio de Alimentos Funcionales UODIDE, localizado en la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato, mientras que, la segunda parte de la experimentación se la llevó a cabo en el Centro de Investigaciones de la Universidad Estatal de Bolívar.

2.1. Materiales

2.1.1. Materia prima

Los ingredientes mencionados a continuación fueron obtenidos en el supermercado Supermaxi, localizado en el Mall de los Andes en la ciudad de Ambato, a excepción del pimiento rojo en polvo (gochucaru) comprado en el supermercado asiático Seoul Market, localizado en el centro comercial Naciones Unidas PB-44, en la ciudad de Quito.

- Col (*Brassica oleracea var. capitata.*)
- Ajo
- Cebollín
- Jengibre
- Cebolla blanca
- Cebolla colorada
- Zanahoria
- Arroz blanco cocido
- Pera
- Azúcar

- Sal
- Pimienta roja en polvo (gochugaru)

2.1.2. Materiales de laboratorio

- Fundas plásticas negras
- Envases de vidrio
- Airlock
- Microtubos de centrifuga de 1.5 mL
- Eppendorf 2 mL
- Micropipetas
- Puntas
- Fundas plásticas herméticas
- Vasos de precipitación
- Gradillas
- Espátulas
- Balón ámbar 5 mL
- Matraz Erlenmeyer 250 mL
- Cuchillo
- Olla

2.1.3. Equipos

- Congelador
- Balanza analítica
- Liofilizador
- Vortex
- Centrifugadora
- Espectrofotómetro
- Procesador de alimentos

2.1.4. Reactivos

- Etanol 99%
- Patrón Trolox
- Buffer tampón fosfato pH 7
- Radical ABTS (Ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)

2.2. Métodos

2.2.1. Preparación del Kimchi

La metodología utilizada fue descrita por **Ki and Young (2008)** con ciertas modificaciones.

2.2.1.1. Pretratamiento de la col

La col se cortó en pedazos de aproximadamente 4 cm de largo y 4 cm de ancho, se sumergió en una solución de sal al 10% durante 4 horas (Ver figura 6) y luego se lavó 3 veces con agua común.

2.2.1.2. Salsa de Kimchi

Se utilizó 1.5 gramos de ajo, 0.6 g de jengibre, 5 g arroz blanco cocido, 5 g de pera, 0.7 g de azúcar, 3.7 g de cebolla colorada y 4 g de pimienta roja en polvo por cada 100 g de col (antes del pretratamiento) (Ver figura 7). Los ingredientes fueron procesados hasta formar una pasta (Ver figura 9)

2.2.1.3. Ingredientes adicionales

Se utilizó 2 g de cebolla blanca y 4.5 g de zanahoria por cada 100 g de col (antes del pretratamiento). Los ingredientes únicamente fueron cortados en pequeñas tiras de aproximadamente 5 cm de largo.

2.2.1.4. Preparación de los envases

Debido al tiempo de fermentación programado que fue mayor a 5 días, se colocó un airlock en cada uno de los envases de vidrio (Ver figura 5) con la finalidad de evitar una posible explosión del envase causada por una sobreacumulación de CO₂.

2.2.1.5. Fermentación

A la col pretratada se le agregó el cebollín, cebolla y zanahoria en tiras junto con la salsa de Kimchi, se procedió a mezclar todo hasta que la salsa cubra todos los vegetales (Ver figura 10), se colocó la mezcla en recipientes limpios, uno por cada día de toma de muestras (día 0, 3, 6 y 9) (Ver figura 11), dichos recipientes se colocaron en fundas negras (Ver figura 12) y se dejó fermentar a oscuras a una temperatura promedio de 17 °C. El proceso se realizó en dos batches.

2.2.2. Determinación de la capacidad antioxidante del Kimchi

2.2.2.1. Preparación de las muestras

Se tomó las muestras de Kimchi y se las congeló a -80°C para ser deshidratadas por liofilización (ver figuras 13, 14 y 15). Las muestras secas fueron molidas y homogenizadas. Finalmente, las muestras fueron empacadas en fundas herméticas,

se etiquetaron y se las guardó en congelación hasta el momento del análisis de la CA (Ver figura 16).

2.2.2.2. Determinación de la capacidad antioxidante

Para la determinación se tomó como referencia la metodología utilizada por **Samaniego et al. (2020)** con ciertas modificaciones.

Se preparó el radical ABTS⁺ tras la mezcla de ABTS 7mM y persulfato de potasio 2.45 mM (1/1, v/v). Dicha solución resultante fue mantenida en oscuridad por un periodo de 16 horas hasta la formación del radical de interés. Posteriormente, la solución fue diluida con buffer fosfato hasta obtener valores de absorbancia de 1.1 ± 0.01 a 734 nm (Ver figura 17).

Más adelante, se pesó 20 mg de muestra (Ver figura 18), se disolvió en 1 ml de etanol al 99% y se colocó en la centrifugadora por 5 minutos a 12000 rpm (Ver figura 20). Únicamente se utilizó el sobrenadante y se desechó el precipitado.

A continuación, en microtubos de 1.5 mL se mezcló 100 μ L de la muestra centrifugada a ensayar con 1.9 mL de la solución ABTS⁺, la mezcla fue dejada en reposo por 45 minutos y se realizó la medición a 734 nm en un espectrofotómetro Thermo Scientific Nanodrop one (Ver figura 21).

Los resultados fueron obtenidos de la interpolación de la curva de calibrado elaborada con los estándares de Trolox (0 -600 μ mol Trolox/mL) (Ver gráfico 2). Dichos resultados se reportaron como micromoles de Trolox equivalente por gramos de muestra seca (μ mol TE/g ms).

2.2.3. Diseño Experimental

Las respuestas medidas para la CA fueron analizadas a través de un diseño aleatorio al azar. En este diseño experimental, se mantuvo como constantes la temperatura (17 °C), el material del recipiente en el que se llevó a cabo la

fermentación (vidrio) y la exposición a la luz (nula). Por lo que, la única variable con influencia en el proceso fermentativo fue el tiempo (en días)

Tabla N2. Diseño aleatorio al azar

	Tratamientos				
Observaciones	Día 0	Día 3	Día 6	Día 9	Yi
1	-	-	-	-	
2	-	-	-	-	
Yj					Yij

Elaborado por: (Castro, 2022)

Los datos obtenidos de la CA fueron procesados con el programa estadístico Statgraphics, el mismo que permitió verificar las hipótesis formuladas. Con los resultados, se procedió a realizar pruebas de comparación, identificando cual fue el día o el período de tiempo que presentó una mayor influencia en la CA.

CAPITULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Análisis y discusión de los resultados

3.1.1. Preparación de Kimchi utilizando *Brassica oleracea var. capitata*

En la tabla 3 se muestra el listado de ingredientes y la cantidad utilizada para la elaboración de Kimchi. El ingrediente primordial dentro de la formulación es la col con un 78.73%, también encontramos al arroz blanco cocido y pera, ambos con un porcentaje de 3.96%, seguido por la zanahoria y gochugaru con valores de 3.53% y 3.15%, respectivamente (Ver Figura 3, 7 y 8). En las experimentaciones realizadas por **Park et al. (2014)** y **Kim et al. (2014)** se puede identificar una relación similar, en la cual la col representa el principal ingrediente con un porcentaje de 81%. Cabe mencionar que en ambos estudios se utiliza una formulación ligeramente diferente ya que se utilizó salsa de pescado y rábano blanco.

Lee and Ko (2021) mencionan en su investigación que la salsa de pescado o también conocida como jeotgal es un ingrediente opcional, y hace hincapié en que los principales ingredientes para la salsa de Kimchi son gochugaru, ajo y jengibre, ya que estos son los responsables de darle las características organolépticas propias del alimento. En la presente investigación, el principal ingrediente de la formulación es la col (*Brassica oleracea var. capitata*), por ello se decidió retirar ingredientes adicionales que puedan interferir con las propiedades fisicoquímicas del componente principal.

En adición, **Choi et al. (2018)** señalan que el uso de salsa de pescado acelera la fermentación del Kimchi debido al aumento en el nitrógeno presente. Este factor extra podría haber causado un inconveniente durante el trabajo experimental, ya que las muestras fueron fermentadas por un tiempo mayor a cinco días a una

temperatura promedio de 17°C y no a temperaturas de refrigeración (4°C), lo cual podría haber causado una sobrefermentación acelerada en la matriz alimentaria.

Tabla N3. Ingredientes utilizados en la preparación de Kimchi

Ingrediente	Cantidad (g)	Porcentaje
Col (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i> .)	1451	78.73
Ajo	21	1.14
Jengibre	9	0.49
Arroz blanco cocido	73	3.96
Pera	73	3.96
Azúcar	10	0.54
Cebolla colorada	54	2.93
Pimiento rojo (Gochugaru)	58	3.15
Zanahoria	65	3.53
Cebolla blanca	29	1.57
Total	1843	100

Elaborado por: (Castro, 2022)

Una vez preparado el Kimchi, se lo colocó en frascos de vidrio con una modificación en la tapa, en la cual se colocó un airlocker con la finalidad de evitar una sobreacumulación de CO₂ en el interior del frasco (Ver Figura 5). **Jeong and Yoo (2016)** hacen énfasis en el problema de la acumulación de CO₂, inconveniente que ha presionado a la industria del Kimchi a mejorar la calidad y tecnología de los envases, razón por la cual, una de las alternativas que se ha tomado en consideración son las válvulas desgasificadoras. Estos artefactos tienen la capacidad de liberar los gases acumulados en el interior sin permitir el paso de oxígeno al interior.

En las investigaciones realizadas por **Lee et al. (2001)** y **Korus, Bernas, and Korus (2021)** se utilizaron frascos de vidrio para una fermentación a temperaturas de 15 °C y 20 °C respectivamente, por tal motivo se decidió utilizar envases de

vidrio durante la fase experimental ya que las condiciones fueron parecidas a otras investigaciones. Cabe mencionar que, el uso de frascos de vidrio es la práctica más común entre los surcoreanos al momento de preparar el Kimchi.

Los frascos con Kimchi preparado (Ver Figura 10) fueron colocados dentro de fundas plásticas negras (Ver Figura 11) con la finalidad de impedir el paso de la luz al interior del alimento. **Shahidi and Zhong (2015)** mencionan que la luz es uno de los catalizadores oxidantes más importantes a tener en cuenta en la industria alimentaria, ya que provoca que los lípidos insaturados de un alimento empiecen la cadena de reacciones hacia su oxidación. Los antioxidantes del Kimchi, tales como las vitaminas, compuestos fenólicos, carotenoides y flavonoides cumplen un papel regulador previniendo dicha oxidación, sin embargo, al hacerlo estos pierden su función biológica inicial (**Badui 2013, Lee et al. 2019**). En base a lo antes mencionado, si se hubiera puesto el alimento en contacto con luz solar, se habría producido un proceso oxidativo causado por el oxígeno que originalmente se queda atrapado en el espacio de cabeza del frasco, por lo que entrarían en acción ciertos antioxidantes de la matriz para evitar dicho proceso, disminuyendo la CA de la matriz en el tiempo inicial (día 0).

Ryu et al. (2019) en su experimentación utilizaron temperaturas de 4°C por 4 semanas, mientras que, **Lee and Kunz (2005)** y **Korus et al. (2021)** fermentaron el alimento por 5 días a 20 °C y por 10 días a 15 °C, respectivamente. Se puede observar que la relación entre temperatura y tiempo es inversamente proporcional; es decir, a menor tiempo, mayor será la temperatura del tratamiento y viceversa. Ya que el tiempo disponible para la fase experimental fue limitado, se decidió utilizar una temperatura alta, de tal forma que, los frascos con Kimchi cubiertos por fundas plásticas se colocaron en un lugar fresco con una temperatura promedio de 17°C y se dejó fermentar hasta 9 días. Se preparó dos batches, siguiendo las mismas especificaciones antes mencionadas, las muestras fueron congeladas y liofilizadas para la etapa de medición y análisis de resultados.

3.1.2. Capacidad antioxidante en la matriz alimentaria antes y después de pasar por un proceso de fermentación

En la tabla 4 se observan los valores de la CA del Kimchi, los mismos que indican un comportamiento directamente proporcional al tiempo de fermentación. **Zhao et al. (2021)** señala en su investigación que la fermentación es un proceso biológico capaz de incrementar la actividad antioxidante en alimentos elaborados a partir de vegetales por medio de la hidrólisis microbiana o biotransformación, liberando compuestos antioxidantes que se encuentran ligados a otras estructuras gracias a la acción de las BAL. **Thilakarathna, Yu, and Rupasinghe (2021)** reportan un aumento en la CA durante los primeros 3 meses de fermentación (de 2100 a 3000 $\mu\text{mol TE/g ms}$), seguido de un periodo de 2 meses en donde esta disminuyó (2500 $\mu\text{mol TE/g ms}$). Por otro lado, **Ryu et al. (2019)** presentan resultados en los cuales, la CA en su muestra de Kimchi decreció después de una semana y se mantuvo relativamente constante hasta la semana 4 del tratamiento (de 32400 $\mu\text{mol TE/g ms}$ a 30100 $\mu\text{mol TE/g ms}$).

Tabla N4. Resultados de la capacidad antioxidante del Kimchi obtenidos mediante la metodología ABTS

	Capacidad Antioxidante ABTS ($\mu\text{mol TE/g ms}$)		
Tiempo	Batch 1	Batch 2	Coefficiente de variación
Día 0	18561.68 \pm 285.41	21389.18 \pm 473.06	10%
Día 3	21808.91 \pm 274.44	24414.52 \pm 747.66	7.97%
Día 6	25882.89 \pm 747.66	26539.81 \pm 766.63	1.77%
Día 9	27459.98 \pm 285.41	27327.44 \pm 0	0.34%

Elaborado por: (Castro, 2022)

Zhao et al. (2021) mencionan que los procesos fermentativos, al ser reacciones biológicas, son complejas y en ocasiones difíciles de predecir, por lo que la disparidad de los datos bibliográficos con los resultados del presente estudio puede

deberse a varios factores de variabilidad entre los cuales están la formulación usada en cada experimentación, ya que los ingredientes que se utilizan no son cosechados durante las mismas condiciones, cantidades o en ocasiones, se decide prescindir de algún ingrediente dentro de la formulación como es el caso de la salsa de pescado. **Lee et al. (2016)** indican que incluso utilizar diferentes partes de la col en la preparación del Kimchi puede provocar un cambio en la actividad antioxidante del producto, debido a que las hojas más externas de la col presentaron mayor capacidad en comparación con las demás partes del vegetal.

De igual forma, el tiempo de fermentación junto con la temperatura de tratamiento son factores para considerar ya que pueden variar significativamente, así por ejemplo, la fermentación puede ir desde un par de días hasta meses e incluso años, junto con temperaturas inversamente proporcionales al tiempo de fermentación elegido. De hecho, **Thilakarathna et al. (2021)** y **Ryu et al. (2019)** trabajaron con tiempos de fermentación de 5 meses a 2.8 °C y 1 mes a 4 °C, obteniendo actividades antioxidantes máximas de 3000 $\mu\text{mol TE/g ms}$ y 32400 $\mu\text{mol TE/g ms}$, respectivamente.

Por otro lado, la exposición a la luz interfiere dentro del proceso fermentativo dado que puede influir en la generación de radicales libres promoviendo la oxidación del medio, y disminuyendo la actividad antioxidante innata de la matriz en el tiempo inicial. Esta última condición no está especificada dentro de las investigaciones antes mencionadas, por lo que podría ser una de las razones de la disminución en la CA en dichas muestras.

Por otro lado, se puede apreciar en la figura 16 que el alimento liofilizado y triturado presenta un color tomate intenso. **Velíšek (2014)** menciona que los carotenos son pigmentos con actividad antioxidante que generalmente se presentan en tonos amarillentos o anaranjados, por lo que, una disminución de estos podría provocar una menor CA en general dentro de la matriz alimentaria.

Rodriguez-Amaya (2015) explican que la pérdida de carotenos durante los periodos de almacenaje de alimentos presenta una fase lag, seguida de disminución rápida de carotenos, razón por la cual es necesario disminuir todos aquellos

estímulos externos que puedan causar dichas pérdidas, algunos de estos son la luz solar, calor, enzimas, entre otros.

Los valores de la CA obtenidos son bastante altos en comparación con otros alimentos encontrados en bibliografía como espinacas, col roja y arandanos con valores de 10.12, 10.56, 18.75 $\mu\text{mol TE/g mf}$, respectivamente (**Apak and Capanoglu 2017**). Cabe mencionar que dichos valores difieren debido a que aquellos ensayos fueron realizados con la muestra fresca, causando que los antioxidantes se encuentren menos concentrados debido a la mayor cantidad de agua en la matriz.

Por otro lado, cuando se trabaja con muestras secas, los antioxidantes se concentran más y, por lo tanto, existirá una mayor actividad antioxidante en comparación con los valores obtenidos con la muestra fresca. Es decir, si se mide la CA de 1 g de un alimento fresco y 1 g del mismo alimento deshidratado, este último presentará valores superiores. Por ejemplo, **Quinteros et al. (2022)** reporta valores de 100336 $\mu\text{mol TE/g ms}$ para la CA en concentrados proteicos de grillos.

Aun cuando se presencié un aumento significativo en la CA dentro de los 9 días de fermentación estudiados ($P < 0.05$), no se puede asegurar por cuánto tiempo se puede mantener esta tendencia ya que, tomando en cuenta las consideraciones antes mencionadas y el comportamiento del alimento en otros estudios, se podría esperar una posible disminución en la CA del Kimchi posterior a los 9 días analizados, por lo que es necesario realizar una investigación más profunda, utilizando tiempos de fermentación más prolongados con la finalidad de determinar el tiempo límite hasta donde la CA sigue en aumento.

3.1.3. Efecto del tiempo sobre la capacidad antioxidante de la matriz alimentaria

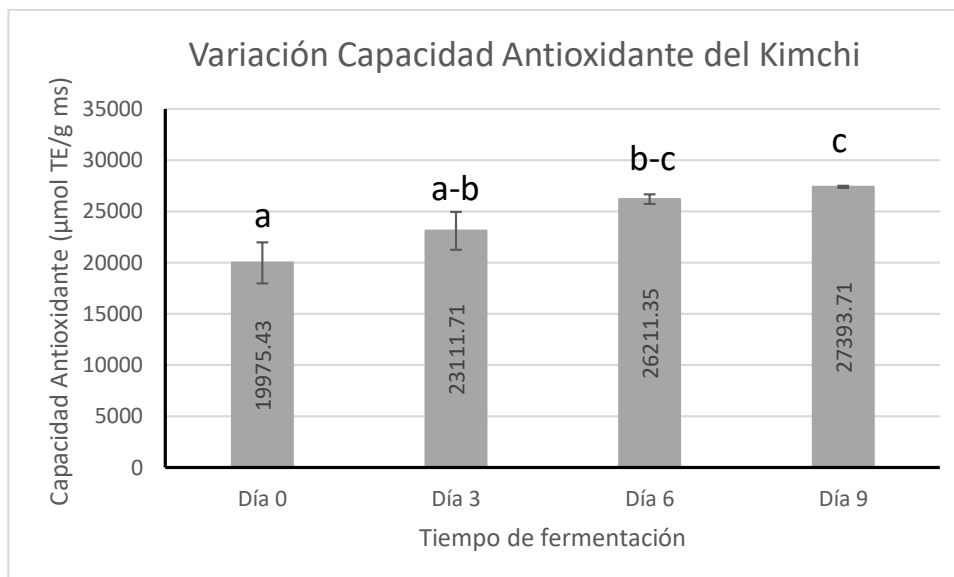
La tabla 5 muestra el incremento en la CA entre cada uno de los intervalos analizados (días), mientras que, el gráfico 1 presenta los valores promedio de la CA del Kimchi en cada uno de los puntos de control (días). Las pruebas de múltiples rangos (Ver tabla 7 y 8) mostraron que para que exista una diferencia significativa en la CA causada por un proceso fermentativo debe pasar al menos 6 días entre cada medición. Es por esta razón que únicamente los intervalos entre los días 0-6, 0-9 y 3-9 muestran un incremento estadísticamente notable ($P < 0.05$) en comparación con los intervalos de los días 0-3, 3-6 y 6-9.

Tabla N5. Variación de la CA por intervalos

Intervalo	Aumento	Incremento
(días)	($\mu\text{mol TE/g ms}$)	%
0-3	3136.3	15.70
0-6	6235.9	31.22
0-9	7418.3	37.14
3-6	3099.6	15.52
3-9	4282	21.44
6-9	1182.4	5.92

Elaborado por: (Castro, 2022)

El intervalo de tiempo con la variación más significativa fue la del día 0-9 con un 37.14%, seguido del intervalo 0-6 y 3-9, con valores de variación de 31.22% y 21.44%, respectivamente.



Nota: Letras minúsculas iguales no presentan diferencias significativas, mientras que, letras minúsculas diferentes sí. El método utilizado fue el de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher a un nivel de confianza del 95% ($P < 0.05$).

Gráfico 1. Variación de la capacidad antioxidante del Kimchi en función del tiempo de fermentación

Elaborado por: (Castro, 2022)

Las barras del gráfico 1 representan el promedio de los dos batches analizados con su respectiva desviación estándar. Se puede apreciar que las barras de error en los días 0 y 3 experimentaron una mayor diferencia en comparación con los otros días. Este fenómeno puede explicarse debido a que el Kimchi es una receta y, por tanto, su CA en el tiempo inicial dependerá de los fitoquímicos presentes en cada uno de sus ingredientes. Por otro lado, la poca variación de las barras de error en los días 6 y 9 puede significar que el proceso fermentativo estabilizó la CA de los compuestos bioactivos tanto en el batch 1 como en el 2.

Adicionalmente, los valores promedio obtenidos entre los días 6 y 9 presentaron un incremento de 5.92%, lo cual indica que se pudo haber alcanzado el valor máximo de la CA al no existir diferencia significativa. Esta tendencia se puede deber a la disminución en la actividad metabólica de las BAL. **Bailey (2018)**

explica que cuando las bacterias alcanzan un punto en su curva de crecimiento en donde los productos de desecho o metabolitos están cerca de su máximo punto de tolerancia, estas empiezan a disminuir su actividad, causando que dichos metabolitos se mantengan relativamente constantes, en este caso, pudo haber ralentizado la liberación de compuestos antioxidantes hasta el día 9 en donde los valores de la CA fueron similares.

3.2. Verificación de hipótesis

En la tabla 6 se muestra la tabla de ANOVA, con la cual se rechazó la hipótesis nula y se aceptó la alternativa. Con estos resultados se confirma que si existe diferencia significativa de la CA en función del tiempo de fermentación.

CAPITULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. Conclusiones

- En la preparación del Kimchi se utilizó una formulación con ciertas modificaciones con relación a otras investigaciones, cuyo ingrediente principal fue *Brassica oleracea var. capitata* con un 78.73%, seguido de arroz blanco cocido, pera zanahoria, pimiento rojo (gochugaru), cebolla colorada, cebolla blanca, ajo, azúcar, jengibre con valores de 3.96%, 3.96%, 3.53%, 3.15%, 2.93%, 1.57%, 1.14%, 0.54% y 0.49%, respectivamente.
- Se determinó la CA del Kimchi antes de empezar el proceso fermentativo, obteniéndose un valor relativamente alto (19975.43 ± 1999.35 $\mu\text{mol TE/g ms}$) debido a la presencia de fitoquímicos con propiedades antioxidantes propios de los ingredientes utilizados en la formulación. Luego de nueve días de fermentación este valor se incrementó (27393.71 ± 93.72 $\mu\text{mol TE/g ms}$), ya que dicho proceso permite liberar compuestos antioxidantes que se encuentran ligados a otras estructuras y formar metabolitos gracias a la acción de las bacterias ácido lácticas.
- El tiempo de fermentación incrementó la CA del Kimchi, alcanzando un valor máximo a los 6 días de tratamiento al no existir diferencia significativa con el valor encontrado al noveno día. Los intervalos de los días 0-6, 0-9 y 3-9 presentaron incrementos estadísticamente significativos de CA, los mismos que fueron de 31.22%, 37.14% y 21.44%, respectivamente.

4.2. Recomendaciones

- Realizar futuras investigaciones utilizando tiempos de fermentación más prolongados, con la finalidad de identificar el punto exacto hasta donde la CA puede aumentar.
- Medir la CA utilizando diferentes metodologías como por ejemplo DPPH y FRAP con el fin de comparar la tendencia con los resultados obtenidos a partir de la metodología ABTS.
- Llevar a cabo pruebas de digestibilidad para evaluar si los compuestos bioactivos no son degradados por acción de las enzimas intestinales.

MATERIALES DE REFERENCIA

5.1. Referencias bibliográficas

- Apak, Resat., and Esra. Capanoglu. 2017. "Measurement of Antioxidant Activity and Capacity : Recent Trends and Applications." 354.
- Badui, Salvador. 2013. *Química Alimentos*. México: Pearson.
- Bailey, Regina. 2018. "Phases of the Bacterial Growth Curve." Retrieved August 14, 2022 (<https://www.thoughtco.com/bacterial-growth-curve-phases-4172692>).
- Berk, Zeki. 2013. *Food Process Engineering and Technology: Second Edition*. Elsevier Inc.
- Chin, Tim. 2020. "The Science of Lactic Acid Fermentation: Pickles, Kraut, Kimchi, and More." Retrieved February 10, 2022 (<https://www.seriousseats.com/science-of-lactic-acid-fermentation-preservation>).
- Choi, Yun Jeong, Hae Won Lee, Ji Hee Yang, Sung Wook Hong, Sung Hee Park, and Mi Ai Lee. 2018. "Changes in Quality Properties of Kimchi Based on the Nitrogen Content of Fermented Anchovy Sauce, Myeolchi Aekjeot, during Fermentation." *Food Science and Biotechnology* 27(4):1145.
- Hongu, Nobuko, Angela S. Kim, Asuka Suzuki, Hope Wilson, Karen C. Tsui, and Sunmin Park. 2017. "Korean Kimchi: Promoting Healthy Meals through Cultural Tradition." *Journal of Ethnic Foods* 4(3):172–80.
- Jang, Dai Ja, Kyung Rhan Chung, Hye Jeong Yang, Kang Sung Kim, and Dae Young Kwon. 2015. "Discussion on the Origin of Kimchi, Representative of Korean Unique Fermented Vegetables." *Journal of Ethnic Foods* 2(3):126–36.
- Jeong, Suyeon, and SeungRan Yoo. 2016. "Kimchi Packaging Technology : An Overview." *Korean Journal of Packaging Science and Technology* 22(3):41–47.
- Ki, Hyeon Sim, and Sil Han Young. 2008. "Effect of Red Pepper Seed on Kimchi Antioxidant Activity during Fermentation." *Food Science and Biotechnology* 17(2):295–301.

- Kim, Boh Kyung, Ji Myung Choi, Soon Ah Kang, Kun Young Park, and Eun Ju Cho. 2014. "Antioxidative Effects of Kimchi under Different Fermentation Stage on Radical-Induced Oxidative Stress." *Nutrition Research and Practice* 8(6):638–43.
- Kim, Hee Young, and Kun Young Park. 2018. "Clinical Trials of Kimchi Intakes on the Regulation of Metabolic Parameters and Colon Health in Healthy Korean Young Adults." *Journal of Functional Foods* 47(May):325–33.
- Korus, Anna, Emilia Bernas, and Jaroslaw Korus. 2021. "Health-Promoting Constituents and Selected Quality Parameters of Different Types of Kimchi: Fermented Plant Products." *International Journal of Food Science* 2021.
- Lee, Chang Hyeon, and Young Ju Ko. 2021. "A New Process on the Basic Formula of Kimchi : Derived Kimchi from a Combination of Yangnyeom (Kimchi Sauce) and Vegetables." *Journal of Ethnic Foods*.
- Lee, Dong Sun, Dong Hyuk Shin, Dong Uk Lee, Jae Cherl Kim, and Hong Sik Cheigh. 2001. "The Use of Physical Carbon Dioxide Absorbents to Control Pressure Buildup and Volume Expansion of Kimchi Packages." *Journal of Food Engineering* 48(2):183–88.
- Lee, Jo Won, Bo Ra Kim, Yena Heo, Gui Seck Bae, Moon Baek Chang, and Bo Kyung Moon. 2016. "Feasibility of Using Kimchi By-Products as a Source of Functional Ingredients." *Applied Biological Chemistry* 59(6):799–806.
- Lee, Joo Yeon, and Benno Kunz. 2005. "The Antioxidant Properties of Baechu-Kimchi and Freeze-Dried Kimchi-Powder in Fermented Sausages." *Meat Science* 69(4):741–47.
- Lee, Mi Ai, Tae Kyung Kim, Ko Eun Hwang, Yun Jeong Choi, Sung Hee Park, Cheon Jei Kim, and Yun Sang Choi. 2019. "Kimchi Extracts as Inhibitors of Colour Deterioration and Lipid Oxidation in Raw Ground Pork Meat during Refrigerated Storage." *Journal of the Science of Food and Agriculture* 99(6):2735–42.
- Noh, Bong Soo, Hye Young Seo, Wan Soo Park, and Sangsuk Oh. 2016. "Safety of Kimchi." Pp. 369–80 in *Regulating Safety of Traditional and Ethnic Foods*.

Elsevier Inc.

- Park, Jung Min, Jin Ho Shin, Ja Gyeong Gu, Su Jin Yoon, Jae Chul Song, Woo Min Jeon, Hyung Joo Suh, Un Jae Chang, Cheul Young Yang, and Jin Man Kim. 2011. "Effect of Antioxidant Activity in Kimchi during a Short-Term and over-Ripening Fermentation Period." *Journal of Bioscience and Bioengineering* 112(4):356–59.
- Park, K. Y., H. Y. Kim, and J. K. Jeong. 2017. "Kimchi and Its Health Benefits." Pp. 477–502 in *Fermented Foods in Health and Disease Prevention*. Elsevier Inc.
- Park, Kun Young, Ji Kang Jeong, Young Eun Lee, and James W. Daily. 2014. "Health Benefits of Kimchi (Korean Fermented Vegetables) as a Probiotic Food." *Journal of Medicinal Food* 17(1):6–20.
- Quinteros, María Fernanda, Jenny Martínez, Alejandra Barrionuevo, Marcelo Rojas, and Wilman Carrillo. 2022. "Cricket Protein Concentrate (*Gryllus Assimilis*)." 1–15.
- Ramírez, Jaime, Christian García, José Vizcaíno, Jairo Cárdenas, Francisco Guitiérrez, Humberto Murga, and Sonia Rueda. 2012. "¿Qué Son y Para Qué Sirven Los Antioxidantes? - Volumen XXV - Número 2 - Revista: La Ciencia y El Hombre - Universidad Veracruzana."
- Rodriguez-Amaya, Delia B. 2015. "Food Carotenoids : Chemistry, Biology and Technology."
- Ruiz Martínez, Ma Adolfina, and Ma Encarnación Morales Hernández. 2015. "Aproximación Al Tratamiento Del Envejecimiento Cutáneo." *Ars Pharmaceutica (Internet)* 56(4):183–91.
- Ryu, Eun Hye, Ji Su Yang, Min Jung Lee, Sung Hyun Kim, Hye Young Seo, and Ji Hye Jung. 2019. "Antioxidant Effects of Kimchi Supplemented with Black Raspberry during Fermentation Protect against Liver Cirrhosis-Induced Oxidative Stress in Rats." *Nutrition Research and Practice* 13(2):87.
- Samaniego, Iván, Beatriz Brito, William Viera, Ana Cabrera, Wilma Llerena, Tissa Kannangara, RUBén Vilcacundo, Ignacio Angós, and Wilman Carrillo. 2020.

“Influence of the Maturity Stage on the Phytochemical Composition and the Antioxidant Activity of Four from Ecuador.” *Plants* 1–15.

Shahidi, Fereidoon, and Ying Zhong. 2015. “Measurement of Antioxidant Activity.” *Journal of Functional Foods* 18:757–81.

Tan, Alethea. 2017. “The Korean Superfood: Kimchi and Its Health Benefits.” Retrieved November 27, 2021 (<https://guide.michelin.com/en/article/wellness/the-korean-superfood-Kimchi-and-its-health-benefits>).

Thilakarathna, W. P. D. Wass, Cindy H. J. Yu, and H. P. Vasantha Rupasinghe. 2021. “Variations in Nutritional and Microbial Composition of Napa Cabbage Kimchi during Refrigerated Storage.” *Journal of Food Processing and Preservation* (October):1–10.

Velíšek, Jan. 2014. “The Chemistry of Food.” 1113.

Zhao, Yan-Sheng, Aya Samy Eweys, Jia-Yan Zhang, Ying Zhu, Juan Bai, Osama M. Darwesh, Hai-Bo Zhang, Xiang Xiao, Y. S. ; Zhao, A. S. ; Eweys, J. Y. ; Zhang, Y ; Zhu, J ; Bai, O. M. ; Darwesh, H. B. ; Zhang, and X Xiao. 2021. “Fermentation Affects the Antioxidant Activity of Plant-Based Food Material through the Release and Production of Bioactive Components.”

5.2. Anexos



Figura 4. Ingredientes para la preparación de Kimchi



Figura 5. Frascos de vidrio y airlockers



Figura 6. Frascos de vidrio modificados



Figura 7. Remojo de la col en solución de sal al 10%.



Figura 8. Recipientes e ingredientes preparados



Figura 9. Recipientes e ingredientes post mezcla



Figura 10. Preparación de la salsa de Kimchi



Figura 11. Mezcla de los ingredientes



Figura 12. Kimchi preparado y envasado



Figura 13. Colocación de fundas de plástico negras



Figura 14. Congelación de muestras a -80°C



Figura 15. Liofilización de las muestras



Figura 16. Muestras Liofilizadas



Figura 17. Muestras Trituradas

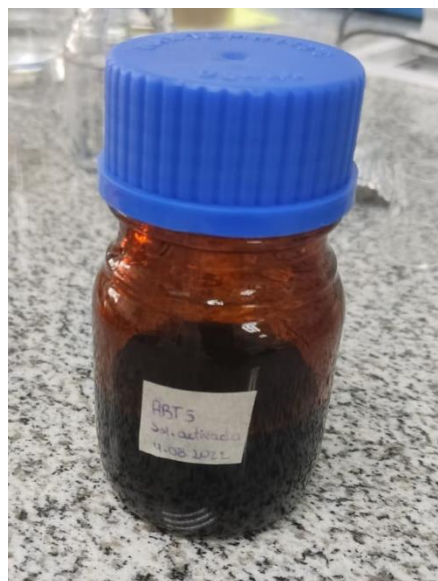


Figura 18. Radical ABTS



Figura 19. Pesaje de las muestras

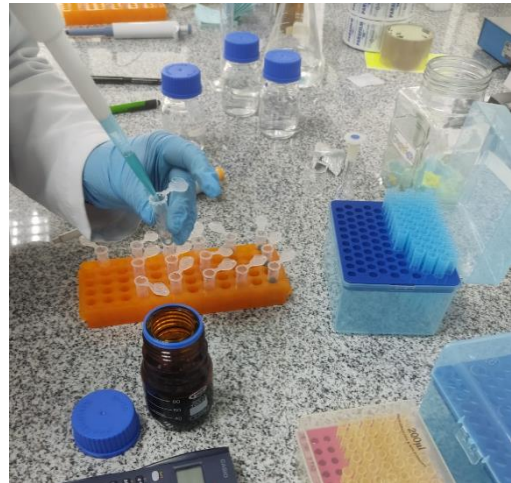


Figura 20. Preparación de los patrones para la curva de calibrado



Figura 21. Centrifugación de las muestras



Figura 22. Medición de las absorbancias de las muestras

Tabla N6. Resultados de la capacidad antioxidante del Kimchi obtenidos mediante la metodología ABTS

Muestras	Abs $\lambda=734\text{nm}$	Abs NETA $\lambda=734\text{nm}$	uM/mL	Peso muestra (g)	VOL. AFORO (ml)	umol Trolox/ g muestra	Prom umol TE/ g ms
B2 D0	0.50	0.61	447.0338983	0.0209	1.000	21389.18174	21389.18
	0.51	0.60	437.1468927	0.0209	1.000	20916.11927	
	0.49	0.62	456.920904	0.0209	1.000	21862.24421	
B2 D3	0.47	0.64	476.6949153	0.0202	1.000	23598.75818	24414.52
	0.44	0.67	506.3559322	0.0202	1.000	25067.12536	
	0.45	0.66	496.4689266	0.0202	1.000	24577.66963	
B2 D6	0.44	0.67	506.3559322	0.0197	1.000	25703.34681	26539.81
	0.41	0.70	536.0169492	0.0197	1.000	27208.98219	
	0.42	0.69	526.1299435	0.0197	1.000	26707.10373	
B2 D9	0.38	0.73	565.6779661	0.0207	1.000	27327.43798	27327.44
	0.38	0.73	565.6779661	0.0207	1.000	27327.43798	
	0.38	0.73	565.6779661	0.0207	1.000	27327.43798	
B1 D0	0.57	0.54	377.8248588	0.0200	1.000	18891.24294	18561.68
	0.58	0.53	367.9378531	0.0200	1.000	18396.89266	
	0.58	0.53	367.9378531	0.0200	1.000	18396.89266	
B1 D3	0.49	0.62	456.920904	0.0208	1.000	21967.35115	21808.91
	0.49	0.62	456.920904	0.0208	1.000	21967.35115	
	0.50	0.61	447.0338983	0.0208	1.000	21492.01434	
B1 D6	0.44	0.67	506.3559322	0.0202	1.000	25067.12536	25882.88
	0.42	0.69	526.1299435	0.0202	1.000	26046.03681	
	0.41	0.70	536.0169492	0.0202	1.000	26535.49253	
B1 D9	0.40	0.71	545.9039548	0.0200	1.000	27295.19774	27459.98
	0.40	0.71	545.9039548	0.0200	1.000	27295.19774	
	0.39	0.72	555.7909605	0.0200	1.000	27789.5480	

Elaborado por: (Castro, 2022)

Tabla N7. Tabla ANOVA para Tratamientos por Observaciones

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	6.65475E7	3	2.21825E7	11.65	0.0191
Intra grupos	7.61656E6	4	1.90414E6		
Total (Corr.)	7.41641E7	7			

Elaborado por: (Castro, 2022)

Tabla N8. Pruebas de Múltiple Rangos para Tratamientos por Observaciones

Método: 95.0 porcentaje LSD

<i>Observaciones</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
0	2	19975.4	X
3	2	23111.7	XX
6	2	26211.3	XX
9	2	27393.7	X

* No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's.

Elaborado por: (Castro, 2022)

Tabla N9. Pruebas de Múltiple Rangos por intervalos

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
0 - 3		-3136.28	3831.24
0 - 6	*	-6235.92	3831.24
0 - 9	*	-7418.28	3831.24
3 - 6		-3099.64	3831.24
3 - 9	*	-4282.0	3831.24
6 - 9		-1182.36	3831.24

* indica una diferencia significativa.

Elaborado por: (Castro, 2022)

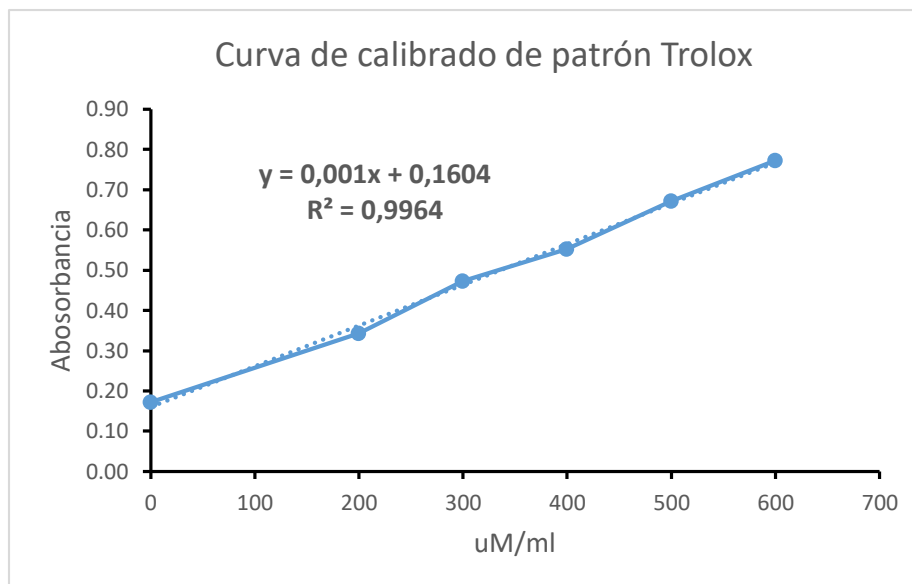


Gráfico 2. Curva de calibrado patrón Trolox para metodología ABTS (0 µM/ml a 600 µM/ml)
Elaborado por: (Castro, 2022)