

**INSTITUTO TECNOLÓGICO Y DE ESTUDIOS SUPERIORES DE OCCIDENTE**

**Departamento de Procesos Tecnológicos e Industriales**

**Sustentabilidad y tecnología**

**PROYECTO DE APLICACIÓN PROFESIONAL (PAP)**

**Programa de Apoyo a Centros de Investigación Externos II**



**ITESO, Universidad  
Jesuita de Guadalajara**

**4G03 Programa de Apoyo a Centros de Investigación Externos II  
Obtención de fracciones de antocianinas a partir de cáscara de frijol  
endémico de la región sur de México y su potencial antioxidante.  
En el CIATEJ, unidad Zapopan**

**PRESENTAN**

Programas educativos y Estudiantes

Ing. en Biotecnología, Sofía Carolina Bárcena Pérez

Profesora PAP: Dra. Elba Montserrat Alcázar Valle

Tlaquepaque, Jalisco, diciembre de 2022

# ÍNDICE

## Contenido

REPORTE PAP.....	2
Presentación Institucional de los Proyectos de Aplicación Profesional.....	2
Resumen .....	4
1. Ciclo participativo del Proyecto de Aplicación Profesional .....	5
1.1 Entendimiento del ámbito y del contexto.....	6
1.2 Caracterización de la organización .....	8
1.3 Identificación de la(s) problemática(s) .....	9
1.4. Planeación de alternativa(s) .....	9
1.5. Desarrollo de la propuesta de mejora.....	13
1.6. Valoración de productos, resultados e impactos.....	28
1.7. Bibliografía y otros recursos .....	29
1.8. Anexos generales .....	33
2. Productos.....	34
3. Reflexión crítica y ética de la experiencia .....	35
3.1 Sensibilización ante las realidades .....	35
3.2 Aprendizajes logrados .....	36

## REPORTE PAP

### Presentación Institucional de los Proyectos de Aplicación Profesional

*Los Proyectos de Aplicación Profesional (PAP) son experiencias socio-profesionales de los alumnos que desde el currículo de su formación universitaria- enfrentan retos, resuelven problemas o innovan una necesidad sociotécnica del entorno, en vinculación (colaboración) (co-participación) con grupos, instituciones, organizaciones o comunidades, en escenarios reales donde comparten saberes.*

*El PAP, como espacio curricular de formación vinculada, ha logrado integrar el Servicio Social (acorde con las Orientaciones Fundamentales del ITESO), los requisitos de dar cuenta de los saberes y del saber aplicar los mismos al culminar la formación profesional (Opción Terminal), mediante la realización de proyectos profesionales de cara a las necesidades y retos del entorno (Aplicación Profesional).*

*El PAP es un proceso acotado en el tiempo en que los estudiantes, los beneficiarios externos y los profesores se asocian colaborativamente y en red, en un proyecto, e incursionan en un mundo social, como actores que enfrentan verdaderos problemas y desafíos traducibles en demandas pertinentes y socialmente relevantes. Frente a éstas transfieren experiencia de sus saberes profesionales y demuestran que saben hacer, innovar, co-crear o transformar en distintos campos sociales.*

*El PAP trata de sembrar en los estudiantes una disposición permanente de encargarse de la realidad con una actitud comprometida y ética frente a las disimetrías sociales. En otras palabras, se trata del reto de “saber y aprender a transformar”.*

*El Reporte PAP consta de tres componentes:*

*El primer componente refiere al ciclo participativo del PAP, en donde se documentan las diferentes fases del proyecto y las actividades que tuvieron lugar durante el desarrollo de este y la valoración de las incidencias en el entorno.*

*El segundo componente presenta los productos elaborados de acuerdo con su tipología.*

*El tercer componente es la reflexión crítica y ética de la experiencia, el reconocimiento de las competencias y los aprendizajes profesionales que el estudiante desarrolló en el transcurso de su labor.*

## Resumen

En el presente Programa de Apoyo a Centros de Investigación Externos II se abordó la problemática de incrementar el valor de la cadena productiva de frijol endémico de Guerrero, Chiapas y Oaxaca a través de la ciencia. Se buscó evaluar el potencial antioxidante de las antocianinas de 6 variedades de frijol endémico. Se plantearon 4 principales objetivos específicos: extraer, purificar y obtener las fracciones de antocianinas de frijol endémico; cuantificar las antocianinas totales del extracto crudo, purificado y fraccionado; determinar su potencial biológico, y comparar los resultados obtenidos.

Para las seis variedades de frijol se descascarilló y se extrajeron las antocianinas mediante maceración con etanol acidificado, se concentró y purificó el extracto en columna con resina Amberlite XAD7HP. Posteriormente se purificó el extracto en HPLC y se recuperó la fracción de antocianinas mayoritaria. Finalmente se realizó cuantificación de fenoles con el método de Folin-Ciocalteu, cuantificación de antocianinas mediante el método de diferencia de pH y se determinó la actividad antioxidante con el método de DPPH.

Se obtuvieron extractos de antocianinas con concentraciones de 45-90  $\mu\text{g}$  equivalentes cianidina-3-glucósido/mg con capacidad de reducir radicales DPPH en un 45-50% en una concentración de 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Los extractos generados en este proyecto se podrán usar para siguientes análisis de actividad biológica en sistemas de células *in vitro* para su potencial uso como nutracéutico, lo que ayudaría a incrementar el valor del frijol endémico. Además, se realizó un protocolo con todas las metodologías replicables para la obtención de extractos de antocianinas a partir de frijol.

## 1. Ciclo participativo del Proyecto de Aplicación Profesional

El PAP es una experiencia de aprendizaje y de contribución social integrada por estudiantes, profesores, actores sociales y responsables de las organizaciones, que de manera colaborativa construyen sus conocimientos para dar respuestas a problemáticas de un contexto específico y en un tiempo delimitado. Por tanto, la experiencia PAP supone un proceso en lógica de proyecto, así como de un estilo de trabajo participativo y recíproco entre los involucrados.

El presente PAP se realiza en las instalaciones del Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ) dentro del área de investigación de Tecnología Alimentaria, ubicada en la subsede Zapopan. El trabajo experimental se llevará a cabo como parte del proyecto integral financiado por CONACYT titulado “Estrategias multidisciplinares para incrementar el valor de las cadenas productivas de café, frijol, mango, agave mezcalero y productos acuícolas (tilapia) en la región Pacífico Sur a través de la ciencia, la tecnología y la innovación”. La experimentación se realizará bajo la asesoría de la Dra. Elba Montserrat Alcázar Valle y el acompañamiento del Mtro. Alejandro Escobedo Ávila.

Objetivo general:

Evaluar el potencial antioxidante de las antocianinas purificadas por HPCCC de la cáscara de 6 variedades de frijol endémico de la región Pacífico Sur del país.

Objetivos específicos:

- Obtener un extracto rico en antocianinas de frijol por medio de maceración.
- Purificar el extracto de antocianinas con una resina Amberlite XAD7HP.
- Obtener fracciones de antocianinas purificadas mediante cromatografía en contracorriente de alto desempeño (HPCCC).
- Evaluar los rendimientos de extracción y purificación de antocianinas a partir de cáscara de frijol nativo.
- Cuantificar los polifenoles y antocianinas presentes en las 6 variedades de frijol.
- Comparar la cantidad de antocianinas y su correspondiente potencial antioxidante presente en las variedades de frijol estudiadas.

- Determinar el potencial biológico de antocianinas mediante la técnica de DPPH.

## 1.1 Entendimiento del ámbito y del contexto

### *Marco teórico*

El frijol ha sido parte de la vida del mexicano desde hace más de 3,000 años [1]. Con el tiempo, no sólo se ha posicionado como un símbolo de identificación cultural en la gastronomía del país, sino que su producción y consumo siguen siendo sumamente relevantes para la dieta y la economía de la población en México [2]. Tan sólo en el sureste del país, el cultivo de frijol le da trabajo a más de 200 mil productores, pero gracias a la adaptabilidad de la semilla y a las más de 70 variedades de frijol que se cultivan en México, el frijol es producido en casi todos los estados del país [3].

No obstante, en las últimas décadas ha disminuido el consumo y, por consiguiente, el cultivo de esta legumbre en México. La Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural reporta que el consumo anual por persona ha bajado de 16 a nueve kilogramos en los últimos 40 años [4]. Por su parte, entre 2003 y 2016 la superficie sembrada con frijol se redujo en 20% en todo el territorio nacional [5]. Lo anterior es consecuencia de una serie de aspectos que van desde estigmas sociales contra el consumo de frijol, la urbanización y la falta de tiempo para cocinar, así como efectos de una economía cerrada y tierras de temporal e incluso sequías y falta de agua [2]. Tradicionalmente, el frijol se sigue sembrando a través del sistema milpa, pero también en algunos estados de mayor producción la siembra se realiza a través del monocultivo.

El frijol (*Phaseolus*) es una leguminosa perteneciente a la familia *Fabaceae* considerado un alimento nutritivo y funcional de bajo costo. *Phaseolus vulgaris L.* es la especie más consumida a nivel mundial y es una gran fuente de carbohidratos (55-60%), proteína vegetal (17-40%) y fibra dietética (7-14%) capaz de reducir niveles de colesterol y regular otros procesos digestivos [6], [7]. Además, su contenido de otros compuestos como minerales, vitaminas, carotenoides y compuestos fenólicos incrementan su calidad nutricional y los beneficios a la salud que éste puede brindar [8], [9].

Se ha encontrado que los frijoles de variedades oscuras contienen una cantidad equiparable de antocianinas a la cantidad presente en frutas asociadas comúnmente a estos compuestos bioactivos (213 mg de antocianinas por cada 100 g de frijol) [10]. Las antocianinas son compuestos fenólicos solubles responsables de proporcionar la coloración azul-morada de frutas, vegetales y bebidas. Principalmente en el frijol, éstas se encuentran concentradas en la cascarilla del mismo [11]. Entre los compuestos fenólicos mayormente encontrados en distintas variedades de frijol son: delfinidina 3-glucósido, petunidina 3-glucósido y malvidina 3-glucósido [10].

Las antocianinas son altamente valorados en el área de la nutrición y la salud pues se ha demostrado que tiene propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y pueden prevenir o incluso tratar enfermedades como la diabetes, el cáncer o la hipercolesterolemia de manera significativa si se administran en cantidades concentradas [11], [12], [13]. A este tipo de sustancias encontradas de manera natural en los alimentos, aisladas, potencializadas y encapsuladas para generar un efecto positivo en la salud se les llama nutraceuticos [14].

#### *Antecedentes del proyecto*

El presente PAP inició con la investigación “Estrategias multidisciplinarias para incrementar el valor de las cadenas productivas de café, frijol, mango, agave mezcalero y productos acuícolas (tilapia) en la región Pacífico Sur a través de la ciencia, la tecnología y la innovación” que comenzó el 5 de abril de 2018 bajo la dirección de Isabel Cristina Taddei Bringas. El trabajo fue una colaboración de distintos centros de investigación afiliados al CONACYT en el Fondo Institucional de Fomento Regional para el Desarrollo Científico, Tecnológico y de Innovación (FORDECYT) [15].

En abril de 2022 la Dra. Anne Christine Gschaedler Mathis, directora de la subsele Zapopan del CIATEJ, firmó el convenio de colaboración para unirse al proyecto junto con el CICY, CIAD y Centro Geo, quienes formaron la Alianza para el Desarrollo de la Zona Pacífico Sur (ADESUR). Gracias a este convenio se han estado realizando actividades de conservación, caracterización y propagación de agave, café y frijol así como técnicas de manejo integral de plagas y evaluación de tecnología para el aprovechamiento integral de dichos recursos [16].

Los equipos de trabajo del CIATEJ bajo la responsabilidad de la Dra. Eugenia Lugo, conformados por la Dra. Elba Montserrat Alcázar Valle y el Dr. Luis Mojica Contreras, se han centrado en el potencial del frijol y el aprovechamiento tanto del cotiledón como de la cascarilla. La cascarilla está en proceso de ser evaluada como un posible nutraceutico para el tratamiento de enfermedades como la diabetes. El primer paso para lograr el aprovechamiento de frijol fue la caracterización del mismo. En 2020, el equipo de trabajo del CIATEJ realizó pruebas fisicoquímicas a 56 variedades nativas de los estados de Guerrero, Chiapas y Oaxaca. Las variedades fueron clasificadas dependiendo de su composición, color y forma, pues se encontró, entre varias cosas, que la profundidad de color de la cubierta de frijol se veía directamente relacionada con la cantidad de polifenoles. Asimismo, se observó que las variedades con mayor contenido de proteína presentaban menor actividad antioxidante que las de menor contenido proteico [8].

## 1.2 Caracterización de la organización

El Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A.C. (CIATEJ) cuenta con cuatro sedes a lo largo del territorio mexicano: sede Guadalajara, ubicada en Av. Normalistas 800 Colinas de la Normal #44270 Guadalajara, Jal.; subsede Zapopan en Camino Arenero 1227, El Bajío, Zapopan, Jal.; subsede Sureste, localizada en Mérida, Yucatán y subsede Noreste en el municipio de Apodaca en Nuevo León. El CIATEJ es clasificado como uno de los Centros Públicos de Investigación del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) que impulsa el desarrollo sostenible de la sociedad con la generación y aplicación innovadora de ciencia y tecnología [17].

En los más de 40 años que lleva en funcionamiento el CIATEJ, se ha dedicado a realizar actividades de investigación y desarrollo tecnológico, servicios tecnológicos a beneficiarios públicos y privados, además de formación de investigadores con diferentes programas de maestrías y doctorados [17]. Actualmente, este centro enfoca sus esfuerzos en cinco áreas de investigación principales bajo la directriz general de la Dra. Eugenia del Carmen Lugo Cervantes: Biotecnología Vegetal (BV), Tecnología Ambiental (TAm), Tecnología

Alimentaria (TAI), Biotecnología Industrial (BI) y Biotecnología Médica y Farmacéutica (BMyF) [17].

El presente PAP se desarrolló en la Unidad de Tecnología Alimentaria de la subse de CIATEJ Zapopan como parte del equipo de trabajo de la Dra. Elba Montserrat Alcázar Valle bajo la dirección de la Dra. Anne Christine Gschaedler Mathis como directora CIATEJ Subse de Zapopan. A su vez, el Dr. Gustavo Adolfo Castillo Herrera funge como director de la unidad Tecnología Alimentaria [17].

### 1.3 Identificación de la(s) problemática(s)

Además de su peso cultural en México, el frijol ha sido alimento modelo de una dieta sana por décadas, debido a que es una excelente fuente de proteínas y carbohidratos. Sin embargo, el relativo reciente descubrimiento de su alto contenido de compuestos fenólicos en la cascarrilla del frijol negro ha comenzado toda una nueva línea de investigación, no sólo como un alimento nutritivo, sino como un potencial nutracéutico [11]. Los compuestos fenólicos, y especialmente las antocianinas, han sido de especial interés por sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorias e inmunomoduladoras que ayudan a prevenir enfermedades crónicas inflamatorias y cardio-metabólicas [12][18].

Actualmente las antocianinas son principalmente extraídas y purificadas de los denominados frutos rojos [10]. En este sentido, el frijol tiene potencial de ser una fuente de antocianinas más económica, además de impulsar a grandes productores de frijol nativo en el sur del país. Es por ello que evaluar las propiedades nutracéuticas de las antocianinas presentes en el frijol y sentar las bases de un método escalable de extracción de las mismas puede abrir el paso a una nueva manera de aprovechamiento del frijol para mejorar la salud de los mexicanos.

### 1.4. Planeación de alternativa(s)

La metodología de este proyecto cuenta con tres fases críticas para la obtención de los resultados más significativos: 1) preparación de muestras y extracción de antocianinas, 2)

purificación de fracciones de antocianinas y 3) evaluación de su potencial antioxidante. Para cada etapa, existen varios métodos con diferentes resultados.

La técnica convencional para preparar el frijol para extracción de antocianinas es separando la cascarilla del cotiledón de manera manual con un bisturí [10], [11], [19], sin embargo, esta técnica requiere mucha mano de obra y lleva mucho tiempo, lo que lo vuelve inadecuado para un proceso de escalamiento, o en el caso del presente PAP, para la comparación de distintas variedades de frijol. Por ello, el equipo de trabajo optó por adecuar una metodología de remojo y secado para facilitar la separación. De esta manera fue posible recuperar una mayor cantidad de cascarilla de una manera más automatizada y sencilla.

Respecto a la separación y purificación del extracto de antocianinas, el método más utilizado es la purificación en cromatografía en columna (PCC) debido a su facilidad de armado y ejecución a un bajo costo [20]. Sin embargo, la mayor limitante de esta técnica es que el rendimiento del proceso depende del área de contacto y disponibilidad de la fase estacionaria sólida, la cual tiende a saturarse, aletargando el proceso de purificación.

Por otro lado, aunque no tan utilizada, la técnica de cromatografía en contracorriente de alto desempeño (HPCCC por sus siglas en inglés) es una alternativa interesante por la relativa rapidez y eficiencia con la que puede no sólo purificar sino fraccionar las antocianinas sin el limitante de la interacción superficial con la fase estacionaria y su saturación. Esto se logra debido a que tanto la fase móvil como la estacionaria se encuentran en estado líquido [20]. El equipo de la Dra. Montserrat Alcázar decidió trabajar con ambas técnicas seriadas (primero PCC seguido por HPCCC) para obtener extractos purificados ricos en antocianinas con una mayor pureza que si sólo se usara PCC, pero con mayor rendimiento que con HPCCC.

Existen diversas técnicas para la determinación de la actividad antioxidante de extractos de antocianinas y demás extractos naturales, pero los más utilizados se basan en la reducción de radicales libres. Dos de los métodos más utilizados bajo este fundamento son ABTS y DPPH; ambos son reactivos con una coloración característica que se ve disminuida cuando

moléculas con capacidad antioxidante reaccionan con ellas por lo que con ambas técnicas se puede cuantificar la actividad antioxidante mediante espectrofotometría [21].

No obstante, cada técnica tiene sus limitantes. Por ejemplo, los compuestos fenólicos reaccionan lentamente con DPPH, por lo que la absorbancia tiene que ser monitoreada respecto al tiempo hasta que se estabilice (puede tardar 1-6 horas). Por su parte, el tiempo de generación de radicales libres para ABTS requiere más de 12 horas. Sin embargo, una vez preparado el reactivo, el método es muy flexible de aplicar a diferentes pH, en soluciones acuosas, solventes orgánicos u otros medios en donde se encuentre la muestra sin interferencia, a diferencia del DPPH que es sensible a cambios de pH. Especialmente al trabajar con antocianinas, el método ABTS es preferido debido a que la coloración de la muestra puede interferir en la lectura de absorbancia para el método de DPPH (leído a 515nm, 5nm por debajo de la longitud de onda adecuada para antocianinas [22]).

Trabajar con cualquiera de estas técnicas no es del todo adecuado para la determinación del potencial del potencial antioxidante de extractos de antocianinas ya que ABTS y DPPH son radicales que no están presentes de manera natural en ningún sistema biológico. No obstante, estas técnicas constituyen un buen primer análisis, y de menor costo, antes de hacer ensayos en cultivos de células *in vitro*. En el presente PAP se optó por determinar la capacidad antioxidante mediante el método DPPH debido a que es una técnica más rápida y sencilla en comparación con la técnica de ABTS.

En la **Tabla 1** se plantea el flujo de trabajo a realizar a lo largo del periodo del PAP, especificando duración y recursos utilizados; a su vez, en la **Tabla 2** se explican las abreviaturas utilizadas en el cronograma de actividades para su mejor entendimiento. El plan de trabajo que se muestra fue comentado y aprobado por la Dra. Montserrat Alcázar y el Mtro. Alejandro Escobedo.

**Tabla 1. Cronograma de actividades del PAP Otoño 2022.**

Nombre	Recursos	Tiempo (Días)	Agosto			Septiembre				Octubre				Noviembre			Diciembre
			Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Semana 5	Semana 6	Semana 7	Semana 8	Semana 9	Semana 10	Semana 11	Semana 12	Semana 13	Semana 14	Semana 15
<b>Fase de investigación</b>																	
Investigación problemática	AM, TP	7															
Planteamiento de pregunta de investigación	AM, TP	1															
Búsqueda de protocolos	TP, AA	3															
<b>Fase de inducción</b>																	
Taller inducción CIATEJ	AM	1															
Práctica de técnicas analíticas	TP, AA, E, P, CE	5															
Preparación de muestra (ensayo)	AA, TP, BC, HI, D, SC, ME	3															
Extracción de antocianinas de muestra (ensayo)	PC, FM, RV, TP, AA	2															
<b>Extracción de antocianinas 6 variedades de Frijol nativo</b>																	
Clasificación de frijoles	TP	1															
Preparación de muestras	AA, TP, BC, HI, D, SC, ME	5															
Extracción de antocianinas	PC, FM, RV, TP, AA, LF	8															
Purificación en columna	AA, TP, BS, BP, CP, C, RV, LF	7															
Purificación en HPLC	AA, TP, CE, HPCCC, CV, LF, CV	7															
<b>Extracción de antocianinas 6 variedades de Frijol nativo</b>																	
Cuantificación de antocianinas y	TP, AM, AA, E, CE	1															
Prueba antioxidante	TP, AA, E	1															
Análisis Estadístico	TP, AM	1															
<b>Presentación de resultados</b>																	
Revisión de RPAP por investigador	AM, TP	4															
Presentación Final	TA, AA, CF, IC, MI, BC,	1															

**Tabla 2. Abreviaturas de los recursos señalados en el cronograma de actividades de la Tabla 1**

Abreviatura	Significado
TP	Trabajo Personal
AM	Asesoría Dra. Montserrat Alcázar
AA	Asesoría Mtro. Alejandro Escobedo
E	Espectrofotómetro
P	Potenciómetro
CE	Campana de Extracciones
BC	Baño de calentamiento
HI	Horno de Inducción
D	Descargarillador
SC	Separador de Cascarilla
ME	Molino Eléctrico
PC	Placa de Calentamiento
FM	Filtro de Membrana
RV	Rotavapor
LF	Liofilizadora
BS	Baño de sonicación
BP	Bomba Peristáltica
CP	Columna de purificación
C	Centrífuga
HPCCC	Equipo Modular de HPCC
SV	Centrífuga de vacío

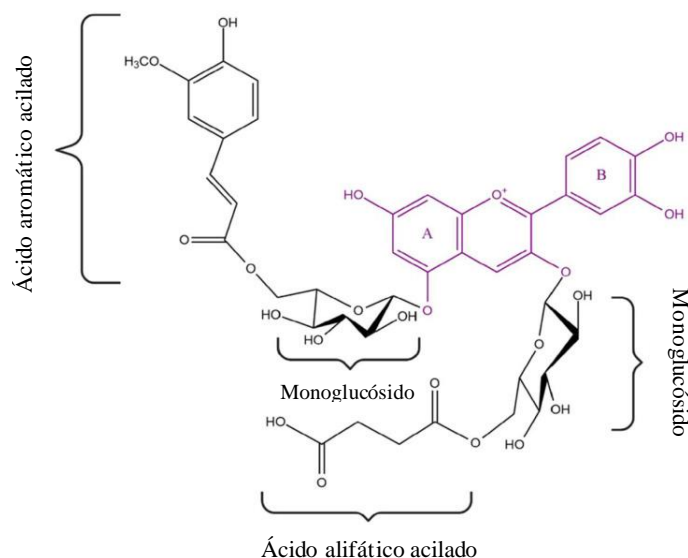
### 1.5. Desarrollo de la propuesta de mejora

#### *Fundamento teórico del proceso*

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios producidos por plantas y se clasifican en ácidos fenólicos, ligninas, etilbencenos y flavonoides. Estructuralmente presentan uno o más grupos benceno y varios grupos hidroxilo (**Figura 1**), por lo que se consideran moléculas altamente reactivas, lo que permite que interactúen con ciertas moléculas de maneras específicas y les brindan propiedades interesantes como el potencial biológico de actividad antioxidante [9]. Los compuestos con propiedades antioxidantes como las antocianinas y otros compuestos fenólicos reaccionan con radicales libres y los estabilizan. Los radicales libres son moléculas que cuentan con uno o más electrones libres en su orbital de valencia lo

que los vuelve altamente reactivos con la capacidad de causar daño oxidativo en seres vivos [23].

Las antocianinas pertenecen a la categoría de flavonoides de los compuestos fenólicos y son responsables de la coloración roja, morada o azul de diversos frutos y granos dependiendo de las antocianinas predominantes en el mismo. Las 6 variedades más comunes en la naturaleza son cianidina (rojo-magenta), pelargonidina (rojo-naranja), delphinina (azul-rojizo), petunidina (tinto-morado), peonidin (magenta) y malvidina (morado), y entre ellas, la más abundante es la cianidina [24]. Gracias a esta pigmentación, las antocianinas pueden ser identificadas mediante espectroscopía UV-vis con una máxima absorción a 520 nm [25]. En el frijol, así como en la mayoría de los frutos y granos, las antocianinas se encuentran en las células de la cascarilla o capa exterior, protegiéndolo de la sobreexposición a la luz solar [26]. Debido a que son compuestos intracelulares, es necesario romper la pared de las células vegetales de manera química o mecánica para poder extraer el pigmento de antocianinas.



**Figura 1. Estructura general de una antocianina. La estructura básica se ve resaltada en morado. Las variaciones estructurales dependen de la posición y cantidad de monoglucósidos y de grupos hidroxilos en el anillo B. Cada variedad de antocianina depende de sus ácidos alifáticos y aromáticos, acilaciones y tipo de azúcar enlazados a la molécula base [20], [25].**

Además de las antocianinas, es posible obtener diversas moléculas como azúcares, ácidos y otros compuestos fenólicos durante los procesos de extracción. La presencia de estos compuestos puede afectar la estabilidad de las antocianinas u obstaculizar los ensayos analíticos para caracterizar y analizar sus propiedades fisicoquímicas [27]. A diferencia de los azúcares y los ácidos, las antocianinas son clasificadas como compuestos orgánicos hidrofóbicos que pueden formar enlaces hidrofóbicos y comportarse diferente a los compuestos polares [28].

Aunque las características fisicoquímicas y estructurales de las antocianinas les confieren ciertas propiedades, también las vuelve muy inestables. Se ha estudiado que la estructura química de las antocianinas puede variar dependiendo de las condiciones del medio donde se encuentren. Uno de estos parámetros a los que las antocianinas son sensibles es al pH y a la temperatura, pues un cambio en estas condiciones puede alterar la estructura de la molécula, haciéndola perder su color y potencial biológico o incluso llevarlas a degradación [24]. Enaru *et al.* (2021) describen que en pH ácidos y temperaturas menores a 40°C las antocianinas no sufren cambios de color [24].

#### *Fundamento metodológico de las técnicas utilizadas en la realización de la propuesta*

##### **Extracción de antocianinas y los solventes ácidos**

Al agregar un solvente ácido, como etanol acidificado, al polvo de cascarilla de frijol, el ácido desnaturaliza las proteínas de la membrana celular además de fungir como un buen solvente estabilizador del pigmento de antocianinas. No obstante, la concentración del ácido puede causar hidrólisis de residuos glucosídicos y de acilos. El ácido fórmico es un ácido débil que minimiza la degradación de las antocianinas [28].

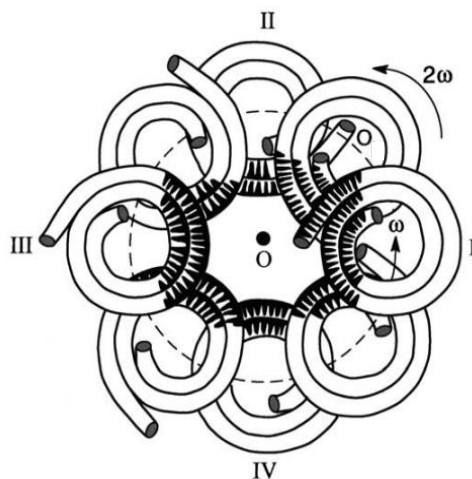
##### **Purificación por cromatografía en columna (CC)**

La cromatografía en columna (CC) es un método de separación basado en la diferencia de afinidad de ciertos solutos por una fase sólida estacionaria (por ejemplo, resina). Esta afinidad depende de la capacidad del soluto de interactuar con la fase móvil por medio de puentes de hidrógeno, fuerzas de *Van der Waals* o transferencia de carga [28]. En el proceso de CC se

carga la muestra y se deja correr un solvente con baja afinidad al soluto que se desea separar para que predomine la interacción entre el soluto y la fase estacionaria. Esto lleva a retener o retrasar el compuesto de interés del resto de la muestra con los compuestos indeseados. Una vez que la resina de la fase móvil se encuentra saturada se deja pasar un solvente adecuado para disolver el soluto de interés y lavar la fase estacionaria [29].

### **Cromatografía en contracorriente de alto desempeño (HPCCC)**

La cromatografía en contracorriente de alto desempeño (HPCCC) es un método compuesto por dos fases líquidas inmiscibles de un sistema de solventes. La fase estacionaria se mantiene inmóvil dentro de la columna (en forma de espiral) por medio de fuerzas centrípetas mientras que la fase móvil se bombea a través de la fase estacionaria (**Figura 2**). Los componentes de la muestra se van separando e interactuando entre ambas fases por polaridades y van eluyendo a distintos tiempos dependiendo del coeficiente de reparto (K) [30],[31].



**Figura 2.** Esquema del movimiento de la columna en espiral del HPCCC. Lo oscuro dentro de la columna representa la fase estacionaria y lo blanco representa el flujo de la fase móvil. [20]

### **Folin-Ciocalteu como método de cuantificación de polifenoles**

El reactivo Folin-Ciocalteu contiene compuestos como el wolframato sódico y molibdato sódico que en un medio alcalino se involucran en una reacción de oxidación/reducción con los compuestos fenólicos presentes en la solución. El ácido fosfomolibdotúngstico presente en el reactivo Folin-Ciocalteu brinda una coloración amarilla al compuesto; sin embargo, al

ser reducido por los polifenoles se forma un complejo de color azul, cuya intensidad es proporcional a la cantidad de compuestos fenólicos disponibles en la muestra para reaccionar [32].

### **Cambios en pH como método de cuantificación de antocianinas**

El método estandarizado de cuantificación de antocianinas por diferencia de pH se basa en el diferente arreglo estructural que muestran los monómeros de antocianinas a pH 1.0 (forma oxonio colorado) y a pH 4.5 (forma hemiacetal incolora). Este cambio de color puede ser sumamente notorio leyendo la absorbancia a 520 nm y la diferencia de absorbancias está directamente relacionado con la concentración de antocianinas [33].

### **Actividad antioxidante por eliminación de radical DPPH**

El 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) es un radical libre de coloración morada que interactúa con agentes antioxidantes cediendo un átomo de hidrógeno al compuesto antioxidante. Al reaccionar el DPPH con los grupos hidroxilos de los compuestos antioxidantes comienza a notarse una decoloración de la solución y la cinética de la reacción es capaz de medirse mediante absorbancia con respecto al tiempo [34].

### *Metodología*

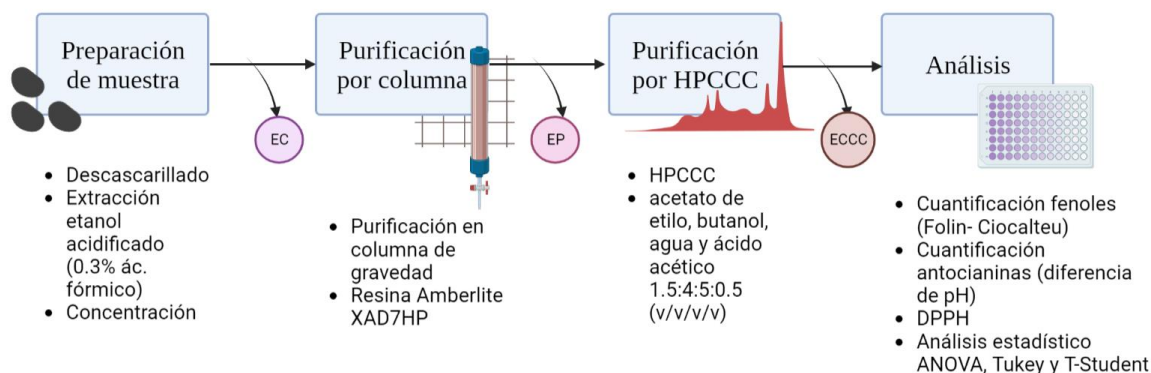
Para lograr el objetivo planteado, se llevó a cabo el proceso que se describe a continuación en la **Figura 4** con 6 variedades de frijol nativo *P. vulgaris*: OX-01 y OX-15 (recolectados de



**Figura 3. Variedades de frijol endémico de Oaxaca (OX-01 y OX-15), Guerrero (GR-10 y GR-14) y Chiapas (CH-02 y CH-05) [8], [7].**

Oaxaca), GR-10 y GR-14 (originarios de Guerrero) y CH-02 y CH-05 (cultivados en Chiapas) (**Figura 3**).

Estas variedades fueron seleccionadas por su contenido de compuestos fenólicos de acuerdo a los resultados obtenidos por Alcázar *et al.* (2021 y 2020) [8], [7]. Después de cada etapa del proceso se recolectó parte de la muestra obtenida para poder comparar entre muestras sin purificar (EC), muestra semi purificada en columna (EP) y las fracciones de antocianinas obtenidas al final (ECCC).



**Figura 4. Diagrama del proceso realizado para cada variedad de frijol. Se señala también los 3 extractos que se analizaron: extracto concentrado (EC), extracto purificado (EP) y extracto de la fracción mayoritaria del HPLC (ECCC)**

### **Acondicionamiento de cascarilla de frijol previo a la extracción**

Se colocaron las muestras de frijol en bolsas resellables y se agregó agua destilada en una relación 5:6 (p/v). Las bolsas selladas se remojaron en un baño de calentamiento a 40°C por 4h. Posteriormente los frijoles se distribuyeron en rejillas y se secaron en un horno de convección por 6h a 50°C. Se utilizó un descascarillador eléctrico para desprender la cascarilla del cotiledón por fuerza mecánica y después se pasó por un despulpador para separar la cascarilla del cotiledón por densidades. La cascarilla de cada variedad fue pulverizada con un molino eléctrico y posteriormente pesada (**Figura 5**).



**Figura 5.** Descascarillado de frijol GR-14. De izquierda a derecha: cotiledón, cascarilla separada y molido de cascarilla.

### **Extracción de antocianinas mediante maceración en etanol acidificado**

La muestra de cascarilla molida se disolvió en etanol acidificado (70% etanol y 0.3% ácido fórmico) en una relación 1:25 (p/v) a 40°C por 24h en constante agitación a 400rpm en plancha de calentamiento (**Figura 6**). Posterior a ello, se filtraron las muestras con filtro de papel Whatman No. 1 y la solución fue concentrada en el rotavapor BUCHI ajustando el enfriador a 4°C, el baño a 45°C y el vacío en 120mbar. Los extractos concentrados de las 6 muestras fueron congelados a -20°C y finalmente liofilizados por 72h.



**Figura 6.** Muestras de cascarilla durante maceración a temperatura y agitación constante por 24 h. Los extractos fueron cubiertos con aluminio para evitar cualquier degradación de pigmento por causa de la luz.

### Purificación de antocianinas en columna

Una columna de 45 cm fue empacada con 160g de resina AMBERLITE XAD7HP (Sigma Aldrich, USA) dejando fluir agua acidificada (0.3% ácido fórmico) para el acondicionamiento de la columna. Dependiendo de la muestra, se cargaron de 20-40 mL de extracto previamente disuelto en etanol acidificado y filtrado con filtro de Nylon de 0.45  $\mu\text{m}$ . Se dejaron fluir 2L de agua acidificada a un flujo de 16 BV/h y finalmente se regeneró la columna con etanol acidificado a una velocidad de 4 BV/h hasta que la resina regresara a su color original (**Figura 7**). El extracto purificado de antocianinas fue recolectado, concentrado en rotavapor BUCHI con matraz de 500mL bajo las mismas condiciones mencionadas en el proceso de extracción, congelado a  $-20^{\circ}\text{C}$  y liofilizado nuevamente por 72 h.



**Figura 7.** Purificación en columna. Fotos tomadas para ejemplificar el recorrido y retraso del pigmento de antocianinas por la columna.

### Fraccionamiento de extractos de antocianinas con HPCCC

Para obtener las fracciones purificadas de antocianinas se preparó un sistema de solventes mezclando acetato de etilo, butanol, agua mili Q y ácido acético en una proporción 1.5:4:5:0.5 (v/v/v/v), respectivamente. Se dejó reposar la mezcla para obtener una fase inferior (*Lower Phase*) y una fase superior (*Upper Phase*) (**Figura 8**). La muestra se preparó disolviendo 200 mg de extracto en 6mL de solvente (1:1 *Upper Phase* y *Lower Phase*).



**Figura 8.** Sistema de solventes para HPCCC donde se observa la separación de fases inmiscibles: *Upper* y *Lower Phase*.

La corrida de HPCCC se llevó a cabo en el Equipo Spectrum HPCCC de Dynamic Extractions en una columna semi-preparativa (136 mL). La columna fue llenada con la fase estacionaria (*Upper Phase*) a 6 mL/min durante 20 minutos. Se inició la rotación a 1600 rpm y se mantuvo una temperatura de operación constante de 25°C. Se dejó fluir la fase móvil (*Lower Phase*) a un flujo de 1.5 mL/min por 20 minutos para llegar al equilibrio. Posteriormente se inyectó la muestra y se corrió la fase móvil por 220 minutos leyendo constantemente la absorbancia a 520 nm, 280 nm, 350 nm y 510 nm con el detector Flash 14 DAD de ECOM spol. La fracción mayoritaria de antocianinas (**Figura 9**) fue concentrada en centrífuga de vacío a  $1000 \times g$  y 40°C por 8h y finalmente liofilizadas por 4 días y almacenadas a -18°C.



**Figura 9.** Extracto purificado por HPCCC de cascarilla de frijol GR-14.

### **Cuantificación de fenoles totales con el método Folin-Ciocalteu**

Se preparó una curva de calibración de ácido gálico en concentraciones de 25 – 150 µg para reportar los resultados en equivalentes de ácido gálico (EAG). Los extractos concentrados (EC), purificados (EP) y la fracción mayoritaria purificada en HPLC (ECCC) de cada variedad de frijol fueron disueltos en etanol acidificado en una concentración de 5mg/mL y diluidos 1:20, 1:50 y 1:100 en agua destilada para ajustarlos a la curva de calibración. Las muestras y la curva fueron colocadas por triplicado en una microplaca de 96 pocillos. Se les agregaron 50µL de reactivo Folin-Ciocalteu 1N y se dejó reposar 5 minutos. Posterior a ello se agregaron 100 µL de carbonato de sodio al 20% y se dejó incubado a temperatura ambiente y en oscuridad. Transcurrido el tiempo se tomó lectura de absorbancia a 690 nm en el espectrofotómetro TECAN infinite M200 pro UV-visible.

### **Determinación de antocianinas por el método de diferencia de pH**

El protocolo que se realizó para cuantificación de antocianinas fue el protocolo oficial estandarizado AOAC 2005.02. Las muestras (EC, EP y ECCC) se diluyeron 1:4 y 1:10 en etanol acidificado a partir de una solución inicial de 5 mg/mL de extracto en etanol acidificado. Las alícuotas fueron nuevamente diluidas 1:5 en 2 buffers pH 1.0 (KCl 0.025 M) y pH 4.5 (CH<sub>3</sub>COONa 0.4 M). A partir de estas últimas, se agregaron 200 µL de cada solución en buffer por triplicado en una microplaca de 69 pocillos y se leyó absorbancia a 520 y 700 nm en el espectrofotómetro TECAN infinite M200 pro UV-visible para finalmente calcular los equivalentes de cianidina 3-glucósido (EC3G) con la Ecuación 1.

$$EC3G \left( \frac{mg}{L} \right) = \frac{[pH_1(A_{520} - A_{700}) - pH_{4.5}(A_{520} - A_{700})] \times 449.2 \times DF \times 10^3}{26900} \quad (\text{Ecuación 1})$$

Donde DF es el factor de dilución y A<sub>520</sub> y A<sub>700</sub> indica la absorbancia a cierta longitud de onda en nm para sus respectivos pH 1.0 y 4.5.

### **Determinación de actividad antioxidante por el método DPPH**

A partir de una dilución de extracto (EC, EP y ECCC de cada variedad) de 5mg/mL se realizaron diluciones 1:400 y 1:500 en metanol y se agregaron 100 µL de cada muestra en 6 pocillos de una microplaca de 69 pocillos. A 3 pocillos se agregaron 100 µL de DPPH 0.1

mM y en los pocillos restantes se agregó la misma cantidad de metanol. Se preparó también un blanco con 100 µL de agua destilada y 100 µL de DPPH 0.1 mM. Se siguió la cinética de reacción por 1 h leyendo absorbancia a 515 nm cada 5 minutos en el espectrofotómetro TECAN infinite M200 pro UV-visible con previa agitación orbital por 10 segundos. Se graficó la cinética de reacción y se calculó el porcentaje de eliminación del radical DPPH (%DRSA) a partir de la Ecuación 2.

$$\%DRSA = \left[ 1 - \left( \frac{A_{DPPH} - A_{metanol}}{A_b} \right) \right] \times 100 \quad (\text{Ecuación 2})$$

Donde  $A_{DPPH}$  es la muestra mezclada con DPPH,  $A_{metanol}$  la absorbancia de las muestras con metanol y  $A_b$  la absorbancia del blanco de agua destilada.

### **Análisis estadístico**

Las muestras en triplicado de la cuantificación de fenoles totales, antocianinas y actividad antioxidante se analizaron mediante ANOVA, Tukey al comparar tres o más muestras distintas. Por su parte, se aplicó la prueba de T-Student en donde únicamente había dos grupos de datos para comparar. Se utilizó el programa Minitab Statistical Software, donde todas las pruebas se corrieron con 95% de confianza.

### *Resultados de la propuesta de mejora*

Se obtuvieron tres extractos ricos en antocianinas de cada una de las seis variedades de frijol con diferente nivel de purificación: EC, EP y HCCC; no fue posible analizar el extracto sin purificar (EC) de la variedad CH-05 debido a que todo el extracto obtenido fue utilizado para purificar. En el Anexo A se encuentra la tabla de pesaje en cada parte del proceso.

### **Cuantificación de fenoles totales**

A partir de la técnica de Folin-Ciocalteu se cuantificaron los fenoles totales de los 17 extractos obtenidos y se encontró que los extractos purificados (EC y ECCC) muestran concentración de 2 a 4 veces mayor que la presente en los extractos concentrados (EC) (Tabla 3). De los extractos sin purificar, OX-15 muestra la mayor cantidad de polifenoles (327

µg/mg), mientras que, en los EP, OX-15, GR-10 y CH-05 presentan una mayor concentración que el resto de las variedades, pero entre ECCC se recupera una concentración similar de compuestos fenólicos en cada variedad.

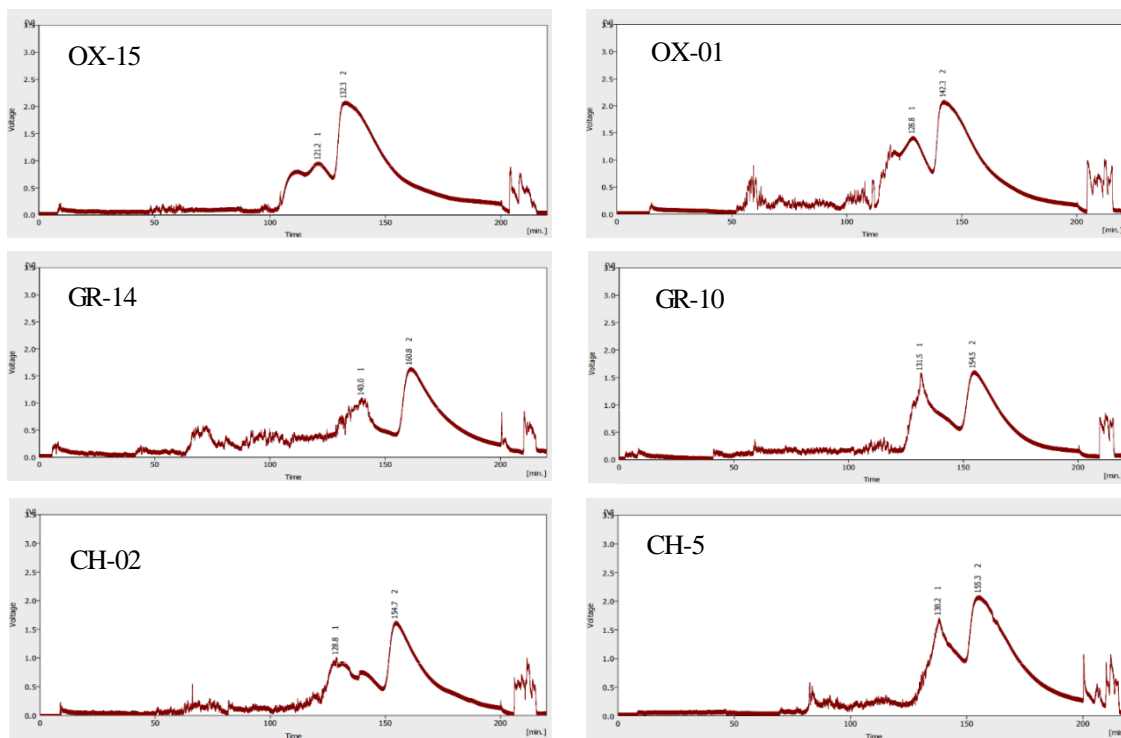
**Tabla 3. Cuantificación de fenoles totales en extractos de antocianinas crudos, purificados y fracciones de HPCCC (µg EAG/mg)**

	OX-15	OX-01	GR-10	GR-14	CH-02	CH-05
<i>EC</i>	327± 31 <sup>aB</sup>	165± 14 <sup>cC</sup>	243± 5 <sup>bB</sup>	275± 16 <sup>bC</sup>	165± 14 <sup>cC</sup>	-
<i>EP</i>	697± 31 <sup>abA</sup>	552± 26 <sup>cdB</sup>	709± 38 <sup>aA</sup>	491± 32 <sup>dB</sup>	589± 63 <sup>bcdB</sup>	635± 50 <sup>abcA</sup>
<i>ECCC</i>	781± 69 <sup>aA</sup>	681± 31 <sup>aA</sup>	670± 34 <sup>aA</sup>	624± 18 <sup>aA</sup>	701± 42 <sup>aA</sup>	635± 10 <sup>aA</sup>

Las letras minúsculas de cada fila corresponden a la comparación de medias entre variedades de frijol del mismo tratamiento. Las letras mayúsculas de cada columna corresponden a la comparación de medias entre los tratamientos de una misma muestra con análisis de Tukey. No se analizó el EC de CH-05 por insuficiencia de la muestra.

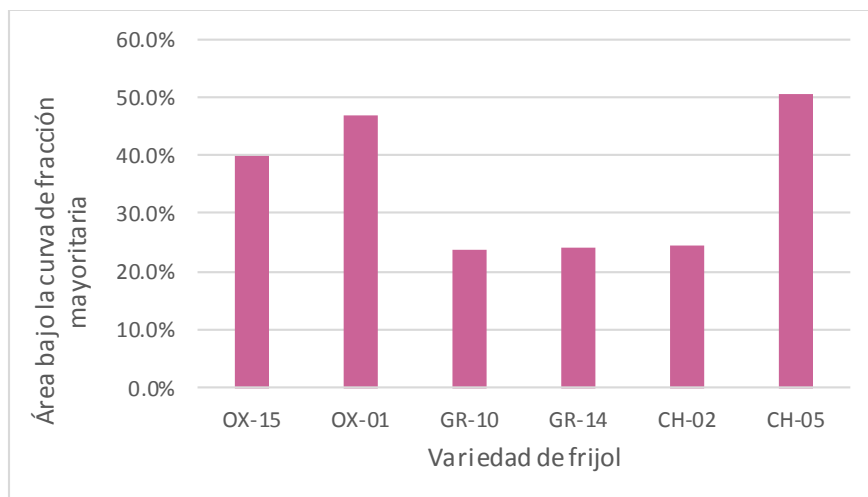
### **Fracciones de antocianinas purificados en HPCCC**

Los cromatogramas a 520 nm de los seis extractos de antocianinas durante el HPCCC muestran un comportamiento similar (**Figura 10**) donde se observa la separación de los compuestos del extracto respecto al tiempo. En el cromatograma sobresalen dos picos que representan las 2 fracciones mayoritarias de la muestra, donde el pico más grande corresponde a las antocianinas dentro del extracto. En los cromatogramas de OX-01 y GR-14 se nota más ruido antes de los picos que pueden deberse a residuos de compuestos indeseados que no fueron debidamente separados durante la PCC.



**Figura 10. Cromatogramas a 520nm obtenidos durante HPCCC de extracto purificado de cada variedad de frijol. Los picos resaltantes corresponden a las fracciones de antocianinas de cada extracto, siendo el segundo pico la fracción mayoritaria.**

Se comparó el área bajo la curva del pico principal en relación con el área total del cromatograma (**Figura 11**) que podría estar relacionado con las concentraciones de antocianinas en la fracción recuperada (fracción mayoritaria) de cada variedad. CH-05, OX-01 y OX-15 mostraron una mayor concentración de antocianinas en la fracción recuperada que las variedades GR-10, GR-14 y CH-02.



**Figura 11. Porcentaje de área bajo la curva de la fracción mayoritaria de antocianinas respecto al área total en el cromatograma a 520 nm de la HPLC de cada extracto de frijol.**

A partir del método de diferencia de pH para cuantificación de antocianinas se concluye que el proceso de purificación de antocianinas escalonado fue exitoso para las variedades GR-14 y CH-02 donde el extracto ECCC fue el más rico en antocianinas de los 3 tratamientos (Tabla 4). En el resto de las variedades se nota una pérdida de antocianinas durante la cromatografía en contracorriente.

GR-14 y CH-02 corresponden a las fracciones de antocianinas recuperadas en HPLC más pequeñas según la Figura 11. Sin embargo, es de considerar también que en los cromatogramas de ambas variedades es donde la separación entre los 2 picos mayoritarios es mayor, pues antes de iniciar el pico principal, se encuentra un valor de voltaje casi cercano a cero, lo que indica que, si bien la fracción es menor, el contenido de antocianinas es más puro (Figura 10). Siendo así, en las otras fracciones mayoritarias también se pudieron haber concentrado también otros compuestos fenólicos. A pesar de no ser los más puros, se observa que los extractos ECCC de CH-05 y OX-15 son las variedades con mayor cantidad de antocianinas (80 y 69  $\mu\text{g}$  EC3G/mg extracto); OX-15 con mayores rendimientos en tanto en el EC, EP y ECC respecto a las otras variedades (Tabla 4).

**Tabla 4. Cuantificación de antocianinas totales de extractos de frijol nativo ( $\mu\text{g}^1/\text{mg}$  extracto)**

	OX-15	OX-01	GR-10	GR-14	CH-02	CH-05
<i>EC</i>	44.1 $\pm$ 0.9 <sup>aC</sup>	25.2 $\pm$ 0.4 <sup>cC</sup>	20.7 $\pm$ 1.8 <sup>dB</sup>	28.6 $\pm$ 0.5 <sup>bC</sup>	7.7 $\pm$ 0.1 <sup>eC</sup>	-
<i>EP</i>	89.0 $\pm$ 3.5 <sup>aA</sup>	76.2 $\pm$ 1.6 <sup>bA</sup>	50.2 $\pm$ 4.4 <sup>cA</sup>	45.1 $\pm$ 1.8 <sup>cB</sup>	44.1 $\pm$ 3.5 <sup>cB</sup>	77.0 $\pm$ 4.8 <sup>bA</sup>
<i>ECCC</i>	68.9 $\pm$ 0.9 <sup>bB</sup>	54.6 $\pm$ 1.2 <sup>cB</sup>	8.2 $\pm$ 0.1 <sup>dC</sup>	55.4 $\pm$ 1.8 <sup>cA</sup>	54.5 $\pm$ 5.2 <sup>cA</sup>	79.5 $\pm$ 3.3 <sup>aA</sup>

<sup>1</sup>Las concentraciones están dadas como  $\mu\text{g}$  de equivalente de cianidina 3-glucósido por  $\text{mg}$  de extracto. Las letras minúsculas de cada fila corresponden a la comparación de medias entre variedades de frijol del mismo tratamiento. Las letras mayúsculas de cada columna corresponden a la comparación de medias entre los tratamientos de una misma muestra con análisis de Tukey. No se analizó el EC de CH-05 por insuficiencia de la muestra.

### Determinación de actividad antioxidante

Por medio del método DPPH se determinó el porcentaje de eliminación de radicales libres como propiedad relacionada a la actividad antioxidante de los extractos de antocianinas (Tabla 5). Los extractos de OX-01 y CH-02 aumentaron su potencial antioxidante tras la purificación en HPLC significativamente ( $p < 0.05$ ). Se logró de manera general alrededor de un 45%-50% de eliminación de radical DPPH con los extractos purificados después de 30 minutos de incubación con una concentración de 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  de extracto. En el extracto EP la actividad antioxidante podría también provenir de otros compuestos fenólicos que no son leídos a 520 nm. Por su parte, no hubo diferencia significativa entre las fracciones purificadas de cada variedad.

**Tabla 5. Porcentaje de eliminación de radical DPPH de extractos de antocianinas de frijol en 30 min.**

	OX-15	OX-01	GR-10	GR-14	CH-02	CH-05
<i>EC</i> <sup>1</sup>	44.1% <sup>a</sup>	34.6% <sup>ab</sup>	40.2% <sup>ab</sup>	44.5% <sup>a</sup>	26.1% <sup>b</sup>	-
<i>EP</i> <sup>2</sup>	47.5% <sup>abA</sup>	40.5% <sup>bA</sup>	56% <sup>aA</sup>	51% <sup>aA</sup>	38.1% <sup>bA</sup>	52.4% <sup>aA</sup>
<i>ECCC</i> <sup>2</sup>	55.2% <sup>aA</sup>	47.9% <sup>aB</sup>	55.5% <sup>aA</sup>	50.7% <sup>aA</sup>	49.8% <sup>aB</sup>	45.0% <sup>aA</sup>

La prueba fue hecha con <sup>1</sup>1.25  $\mu\text{g}$  de extracto o <sup>2</sup>1  $\mu\text{g}$  de extracto dependiendo del tratamiento. Las letras minúsculas de cada fila corresponden a la comparación de medias entre variedades de frijol del mismo tratamiento. Las letras mayúsculas de cada columna corresponden a la comparación de medias con prueba de T-Student entre los tratamientos EP y ECCC de una misma muestra. No se analizó el EC de CH-05 por insuficiencia de la muestra.

## Evaluación del desarrollo del proceso

Asimismo, se evaluó el rendimiento de cada etapa del proceso empezando con el frijol crudo hasta la fracción de antocianinas recuperada en HPCCC por pesaje (Figura 12). Se obtuvieron entre 4-7g de cascarilla por 100 g de frijol crudo de cada variedad. A partir de la cáscara de frijol, se lograron rendimientos máximos de 6.8 y 5.1 mg de extracto de antocianinas ECCC por cada gramo de cascarilla a partir de las variedades GR-14 y OX-15 gracias a los rendimientos desempeñados de purificación CC y en HPCCC.

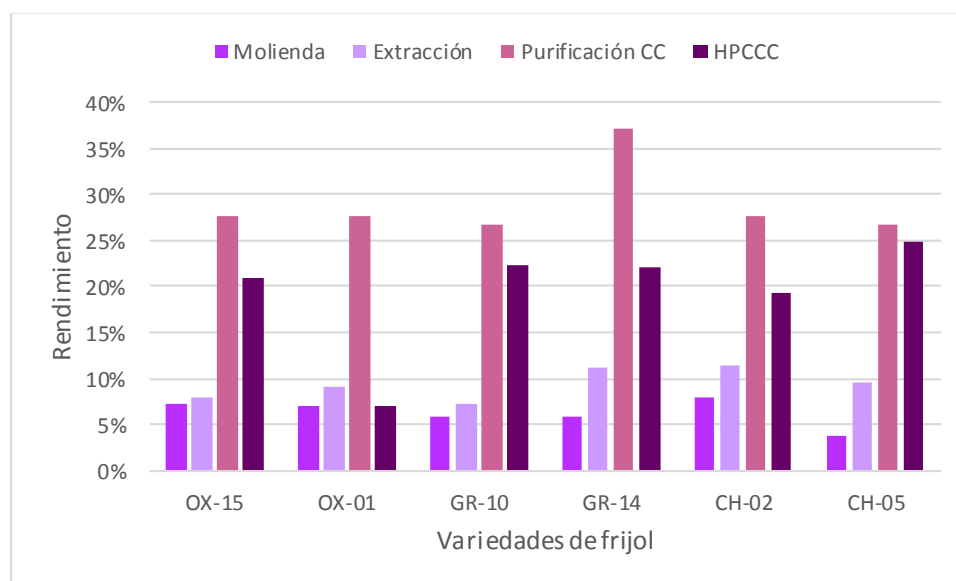


Figura 12. Rendimiento de recuperación de muestra tras cada fase del proceso por peso recuperado.

### 1.6. Valoración de productos, resultados e impactos

Los resultados presentados en la **Tabla 4** muestran la obtención de extractos purificados (EP) ricos en antocianinas a partir de las seis variedades de frijol nativo, siendo OX-15 la variedad con mayor presencia de antocianinas ( $89.0 \pm 3.5 \mu\text{g EC3G/mg}$ ). Además, la fracción de OX-15 también mostró una mayor actividad antioxidante que el extracto purificado y crudo. Estas características la vuelven la variedad más interesante para continuar su análisis de potencial biológico.

Para tener un análisis más adecuado de la incorporación de HPCCC para obtención de fracciones purificadas de antocianinas, faltaría evaluar la humedad de los extractos y realizar

un análisis en HPLC o TLC para identificar específicamente las fracciones de antocianinas purificadas en HPLC y el perfil de variedades de antocianinas presentes en cada muestra.

El proceso realizado para preparación de muestra, extracción y purificación en columna de gravedad mostró gran potencial de escalabilidad al utilizar reactivos y material de bajo costo, lo que lo vuelve una alternativa interesante para obtención de antocianinas, no sólo para su uso en la industria alimentaria como pigmento, sino como nutracéutico en la industria farmacéutica. Por ello, es necesario repetir el proceso para poder optimizarlo y estandarizarlo.

Para darle continuidad a esta investigación, se debe evaluar el potencial biológico de los extractos ya sea con otro método como el ABTS que ha demostrado tener mejor correlación con la concentración de antocianinas o directamente en cultivos de células *in vitro* para valorar su beneficio a la salud y plantear ya sea un nutracéutico o alimento funcional a partir del extracto.

### 1.7. Bibliografía y otros recursos

- [1] M. Lara Flores, “El cultivo del frijol en México,” *Rev. Digit. Univ.*, vol. 16, no. 2, 2015, [Online]. Available: <http://www.revista.unam.mx/vol.16/num2/art09/index.html>.
- [2] Secretaría de Economía, “La Cadena de Valor del Frijol,” 2012. [Online]. Available: [https://www.economia.gob.mx/files/comunidad\\_negocios/industria\\_comercio/analisis\\_cadena\\_valor\\_frijol.pdf](https://www.economia.gob.mx/files/comunidad_negocios/industria_comercio/analisis_cadena_valor_frijol.pdf).
- [3] INIFAP, “Frijol de alto rendimiento para el sureste mexicano,” 2022. [Online]. Available: <https://www.gob.mx/inifap/es/articulos/frijol-de-alto-rendimiento-para-el-sureste-mexicano>.
- [4] M. Hernández, “Cae consumo de frijol entre los mexicanos,” *Gaceta UNAM*, 2022.
- [5] SAGARPA, “Planeación Agrícola Naional 2017-2030: Frijol Mexicano,” 2017. [Online]. Available: [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/256428/B\\_sico-Frijol.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/256428/B_sico-Frijol.pdf).

- [6] E. Sánchez Chávez and A. F. Fernández Valeriano, “Estudio de las propiedades físico-químicas y calidad nutricional en distintas variedades de frijol consumidas en México,” *Nov. Sci.*, vol. 9, no. 18, p. 133, Mar. 2017, doi: 10.21640/NS.V9I18.763.
- [7] M. Alcázar-Valle *et al.*, “Nutritional, antinutritional compounds and nutraceutical significance of native bean species (*Phaseolus* spp.) of mexican cultivars,” *Agric.*, vol. 11, no. 11, 2021, doi: 10.3390/agriculture11111031.
- [8] M. Alcázar-Valle *et al.*, “Bioactive compounds, antioxidant activity, and antinutritional content of legumes: A comparison between four *Phaseolus* species,” *Molecules*, vol. 25, no. 15, 2020, doi: 10.3390/molecules25153528.
- [9] K. Ganesan and B. Xu, “Polyphenol-rich dry common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) and their health benefits,” *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 18, no. 11, 2017, doi: 10.3390/ijms18112331.
- [10] Y. Salinas-Moreno, L. Rojas-Herrera, P. Pérez-Herrera, and E. Sosa-Montes, “Composición de Antocianinas en Variedades de Frijol Negro (*Phaseolus vulgaris* L.) Cultivadas en México,” *Agrociencia*, vol. 39, no. 4, pp. 385–394, 2005, Accessed: Sep. 30, 2022. [Online]. Available: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=30239403>.
- [11] H. Lo Ming, “Evaluación del rendimiento, estabilidad y potencial biológico de un extracto rico en antocianinas del frijol negro (*Phaseolus vulgaris* L. var. San Luis) obtenido a través de extracción supercrítica y presurizada,” 2019.
- [12] Y. Zhu *et al.*, “Anti-inflammatory effect of purified dietary anthocyanin in adults with hypercholesterolemia: A randomized controlled trial,” *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.*, vol. 23, no. 9, pp. 843–849, Sep. 2013, doi: 10.1016/J.NUMECD.2012.06.005.
- [13] X. Guo, B. Yang, J. Tan, J. Jiang, and D. Li, “Associations of dietary intakes of anthocyanins and berry fruits with risk of type 2 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies,” *Eur. J. Clin. Nutr.* 2016 7012, vol. 70, no. 12, pp. 1360–1367, Aug. 2016, doi: 10.1038/ejcn.2016.142.

- [14] H. P. Leonard, “Nutracéuticos: componente emergente para el beneficio de la salud,” *ICIDCA. Sobre los Deriv. la Caña Azúcar*, vol. XL, no. 3, pp. 20–28, 2006, Accessed: Sep. 30, 2022. [Online]. Available: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=223120665003>.
- [15] Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, “Estrategias multidisciplinarias para incrementar el valor agregado de las cadenas productivas del café, frijol, mango, agave mezcalero y productos acuícolas (tilapia) en la región Pacífico-sur a través de la ciencia, la tecnología y la innovación,” 2018. <https://www.ciad.mx/proyecto/estrategias-multidisciplinarias-para-incrementar-el-valor-agregado-de-las-cadenas-productivas/> (accessed Sep. 30, 2022).
- [16] J. Fuentes, “CIATEJ y SEMAREN Guerrero firman convenio de colaboración,” 2022. <https://www.ciatej.mx/el-ciatej/comunicacion/Noticias/CIATEJ-y-SEMAREN-Guerrero-firman-convenio-de-colaboracion/267> (accessed Sep. 30, 2022).
- [17] CIATEJ, “Ciencia y Tecnología para el Desarrollo Sostenible - Quiénes Somos,” 2022. <https://ciatej.mx/el-ciatej/quienes-somos> (accessed Sep. 30, 2022).
- [18] H. K. Kim, B. S. Cheon, Y. H. Kim, S. Y. Kim, and H. P. Kim, “Effects of naturally occurring flavonoids on nitric oxide production in the macrophage cell line RAW 264.7 and their structure–activity relationships,” *Biochem. Pharmacol.*, vol. 58, no. 5, pp. 759–765, Sep. 1999, doi: 10.1016/S0006-2952(99)00160-4.
- [19] F. Elmi and E. Peguero, “Perfil de antocianinas de tres variedades de frijol rojo (,” 2007.
- [20] Y. Ito, “Golden rules and pitfalls in selecting optimum conditions for high-speed counter-current chromatography,” *J. Chromatogr. A*, vol. 1065, no. 2, pp. 145–168, 2005, doi: 10.1016/j.chroma.2004.12.044.
- [21] E. A. Shalaby and S. M. M. Shanab, “Comparison of DPPH and ABTS assays for determining antioxidant potential of water and methanol extracts of *Spirulina platensis*,” *Indian J. Mar. Sci.*, vol. 42, no. 5, pp. 556–564, 2013.

- [22] P. Shah and H. A. Modi, “Comparative Study of DPPH, ABTS and FRAP Assays for Determination of Antioxidant Activity,” *Int. J. Res. Appl. Sci. Eng. Technol.*, vol. 3, no. 6, pp. 636–641, 2015, [Online]. Available: [www.ijraset.com](http://www.ijraset.com).
- [23] G. R. Takeoka *et al.*, “Characterization of Black Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Anthocyanins,” *J. Agric. Food Chem.*, vol. 45, no. 9, pp. 3395–3400, 1997, doi: 10.1021/jf970264d.
- [24] B. Enaru, G. Dreţcanu, T. D. Pop, A. Stănilă, and Z. Diaconeasa, “Anthocyanins: Factors Affecting Their Stability and Degradation,” *Antioxidants*, vol. 10, no. 12, Dec. 2021, doi: 10.3390/ANTIOX10121967.
- [25] S. Saha, J. Singh, A. Paul, R. Sarkar, Z. Khan, and K. Banerjee, “Anthocyanin profiling using UV-vis spectroscopy and liquid chromatography mass spectrometry,” *J. AOAC Int.*, vol. 103, no. 1, pp. 23–39, 2021, doi: 10.5740/jaoacint.19-0201.
- [26] K. S. Gould, “Nature’s Swiss Army Knife: The Diverse Protective Roles of Anthocyanins in Leaves,” *J. Biomed. Biotechnol.*, vol. 2004, no. 5, p. 314, Dec. 2004, doi: 10.1155/S1110724304406147.
- [27] P. Ongkowijoyo, D. A. Luna-Vital, and E. Gonzalez de Mejia, “Extraction techniques and analysis of anthocyanins from food sources by mass spectrometry: An update,” *Food Chem.*, vol. 250, no. July 2017, pp. 113–126, 2018, doi: 10.1016/j.foodchem.2018.01.055.
- [28] L. E. Rodriguez-Saona and R. E. Wrolstad, “The extraction, isolation and purification of Anthocyanins,” *Curr. Protoc. Food Anal. Chem.*, vol. 64, no. 4, pp. 312–313, 2001, doi: 10.1016/j.phrs.2011.05.022.
- [29] M. Rodriguez, “Cromatografía Líquida De Adsorción,” *Fundam. Química-Práctica*, no. Cc, pp. 1–10, 2015, [Online]. Available: <https://www.upo.es/depa/webdex/quimfis/docencia/quimbiotec/curso0405/practica10.pdf>.
- [30] Y. Ito, *Chromatography | countercurrent chromatography*, no. June. Elsevier Inc.,

2019.

- [31] A. N. Nunes, A. Borges, A. A. Matias, M. R. Bronze, and J. Oliveira, “Alternative Extraction and Downstream Purification Processes for Anthocyanins,” *Molecules*, vol. 27, no. 2, pp. 1–24, 2022, doi: 10.3390/molecules27020368.
- [32] E. García, I. Fernández, and A. Fuentes, “Determinación de polifenoles totales por el método de Folin- Ciocalteu,” *Etsiamn*, p. 9, 2015, [Online]. Available: <https://riunet.upv.es/handle/10251/52056>.
- [33] J. Lee, R. W. Durst, and R. E. Wrolstad, “Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: Collaborative study,” *J. AOAC Int.*, vol. 88, no. 5, pp. 1269–1278, 2005, doi: 10.1093/jaoac/88.5.1269.
- [34] E. Guija-Poma, M. Inocente-Camones, J. Ponce-Pardo, and E. Zarzosa-Norabuena, “Evaluación de la técnica 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) para determinar capacidad antioxidante,” *Horiz. Médico*, vol. 15, no. 1, pp. 57–60, 2015, doi: 10.24265/horizmed.2015.v15n1.08.

## 1.8. Anexos generales

### Anexo A.

**Tabla 6. Pesos de materia durante el proceso de obtención de extractos a partir de frijol endémico.**

	Variedades de Frijol					
	<b>OX-01</b>	<b>OX-15</b>	<b>GR-10</b>	<b>GR-14</b>	<b>CH-02</b>	<b>CH-05</b>
<i>Frijol crudo (g)</i>	1121	1198	1137	1001	524	557
<i>Cascarilla (g)</i>	78.6	86.8	65.3	58.0	41.1	20.8
<i>Extracto Concentrado (mg)</i>	7211	6802	4738	6472	4679	1977
<i>Extracto para purificar (mg)</i>	1000	2000	2000	1750	3000	1977
<i>Extracto purificado (mg)</i>	276	552	533	652	828	527
<i>Extracto para HPLC (mg)</i>	200	200	200	200	200	200
<i>Fracción HPLC (mg)</i>	41.2	42.0	44.7	44.3	38.6	49.7

## 2. Productos

**Tabla 7. Ficha descriptiva del producto: Extractos de fracciones de antocianinas a partir de cáscara de frijol.**

Nombre y código del PAP	<b>4G03 Programa de Apoyo a Centros de Investigación Externos II</b>
Nombre del proyecto	Obtención de fracciones de antocianinas a partir de cáscara de frijol endémico de la región sur de México y su potencial antioxidante.
Descripción (qué es, para quién se realizó y para qué es):	Extractos purificados y liofilizados de fracciones de antocianinas de 6 variedades de frijol. Los extractos se encuentran almacenados a -20°C en los laboratorios de Tecnología Alimentaria del CIATEJ para ser utilizados en siguientes pruebas de actividad biológica y estabilidad. Esto con la intención de que se pueda seguir la investigación sobre el potencial nutracéutico de la cascarilla de frijol
Autores:	Sofía Carolina Bárcena Pérez

**Tabla 8. Ficha descriptiva del producto: Protocolo para obtención de fracciones purificadas de antocianinas a partir de frijol crudo.**

Nombre y código del PAP	<b>4G03 Programa de Apoyo a Centros de Investigación Externos II</b>
Nombre del proyecto	Obtención de fracciones de antocianinas a partir de cáscara de frijol endémico de la región sur de México y su potencial antioxidante.

Descripción (qué es, para quién se realizó y para qué es):	Protocolo homogeneizado para la obtención de fracciones purificadas de antocianinas a partir de frijol. Contiene el protocolo descrito paso a paso de lo realizado para cada método con la intención de que la obtención de extracto de antocianinas de frijol sea estandarizada para futuras investigaciones.
Autores:	Sofía Carolina Bárcena Pérez

### 3. Reflexión crítica y ética de la experiencia

El RPAP tiene también como propósito documentar la reflexión sobre los aprendizajes en sus múltiples dimensiones, las implicaciones éticas y los aportes sociales del proyecto para compartir una comprensión crítica y amplia de las problemáticas en las que se intervino.

#### 3.1 Sensibilización ante las realidades

Siempre he tenido muy en claro que la única razón y motivo de hacer ciencia es si esta sirve para un bien común, ya sea como seres humanos o como un ecosistema entero. Es por ello que el proyecto al que me incorporé en el CIATEJ me inspiró desde un inicio. A lo largo de la carrera había estado involucrada en proyectos donde se busca aprovechar algún residuo de las grandes industrias como la del tequila o la caña; también participé en proyectos con un enfoque de mejorar rendimientos de producción. Pero en todos los casos, si uno se pone a analizarlo de fondo, se promueve el seguir en un sistema de producción masiva, y si hablamos específicamente de la industria agroalimentaria, actualmente el monocultivo reina en todos lados, sobreponiendo una variedad comercial en cada cultivo, en vez de impulsar las variedades locales y celebrar la diversidad.

La producción de frijol en el sur del país es un ejemplo a seguir, donde se cultiva por el método tradicional en milpa y se siembran más de 56 variedades nativas diferentes. Es por

ello que aprovechar la biodiversidad de nuestro país para mejorar la lamentable situación de pobreza en la que se encuentra esta región, me parece muy enriquecedor. A pesar de que el enfoque principal es el de impulsar la economía de una región, el promover el cultivo de variedades de frijol nativas promueve también el cuidado de la biodiversidad en un intento de no dejar perder esas variedades nativas cada vez más cerca a la extinción.

Por otro lado, este acercamiento a proyectos de alimentos funcionales me hizo reflexionar nuevamente sobre la importancia de aprovechar los nutrientes que ya se encuentran en los alimentos que consumimos. Consumir frutos y granos en nuestra dieta aportan más beneficios a la salud de lo que muchas veces alcanzamos a vislumbrar. Las antocianinas son uno de cientos de micronutrientes que existen en la naturaleza. Y si seguimos potencializando las propiedades de los mismos alimentos naturales y consumiéndolos, podemos poco a poco prescindir de fármacos sintéticos que muchas veces provocan efectos secundarios en nuestro organismo. Como dijo Hipócrates: *“Que tu alimento sea tu medicina”*.

### 3.2 Aprendizajes logrados

Durante este periodo, siento que obtuve aprendizajes técnicos, profesionales y personales. Al ser la primera vez trabajando fuera de las instalaciones del ITESO, aprendí a utilizar muchos equipos tanto a nivel laboratorio como a escala planta piloto según se necesitara. Me inculcaron con ello la importancia de investigar el fundamento metodológico detrás del uso de cada equipo y técnica analítica para desarrollar mi propio pensamiento crítico en caso de que la técnica no salga de la mejor manera y sentirme con la confianza de manipular el equipo y modificar el protocolo propuesto.

Como lo mencioné anteriormente, este fue mi primer acercamiento al mundo laboral y agradezco a la Dra. Montserrat Alcázar y al Mtro. Alejandro Escobedo por haberme enseñado a valorar mi tiempo, mi trabajo y mi salud física y mental en este proceso. Creo que en México actualmente la sociedad te mete pensamientos de que no hay trabajo en ningún lado, y que si llegas a conseguir un trabajo al egresar de la carrera, este será mal pagado y tendrás que hacer actividades básicas y repetitivas. También se habla mucho sobre cómo tienes que

esforzarte y dar todo para obtener buenos resultados, pero en mi tiempo en el CIATEJ aprendí a darme el tiempo para estar bien y así poder rendir mejor, aprendí a confiar más en mis habilidades y a no tener miedo a equivocarme. Aprendí a hacer las cosas con seguridad y por supuesto a no conformarme con ambientes de trabajos hostiles y mal remunerados.

Finalmente, lo que me llevo más de manera personal es que todavía tengo mucho que aprender y habilidades que desarrollar; y la única manera de aprender es intentando y arriesgando. Más que nunca se me quitó el miedo a fallar y equivocarme, y creo que esta lección no sólo será valiosa en mis últimos pasos de la carrera, o en mi carrera profesional. Esto aplica a todos los aspectos de la vida.

### 3.3 Inventario de competencias Inicial (ingreso del PAP) e Inventario de competencias Final (salida al PAP).

Considero que mis talentos más importantes se encuentran sobre todo la inteligencia emocional y social, volviéndome una persona con muchas ganas de ayudar y aportar a un ambiente positivo a donde quiera que vaya. Actualmente soy parte de la sociedad de alumnos, porque trato de buscar lo que los estudiantes se merecen de la manera más justa; me gusta que la mayoría de mi generación me ve como una confidente y amiga, tanto para resolver problemas personales como académicos.

Además de ello, el interés por mi sociedad y mi entusiasmo por usar mis conocimientos de la carrera para aportar al mundo real me llevaron a ser co-líder del equipo iGEM ITESO 2022, desarrollando un proyecto de biocontrol en *berries*, trabajando y escuchando a los mismos agricultores y sus necesidades para encontrar una solución integral.

Con el presente PAP se me presentaron nuevos retos, pero también nuevas oportunidades. Aprendí mucho sobre técnicas analíticas de muestra, realicé varios procesos de separación y purificación y amplíé mis conocimientos en cuanto a química de alimentos y cultivo celular. Y aunque esas competencias me ayudarán indudablemente en mi camino profesional, también adquiriré y potenciaré otro tipo de competencias que tendrán un impacto en cómo me relacionó en sociedad. Mejoró mi organización del tiempo y planeación de actividades, desarrollé mi capacidad de adaptarme a los recursos y tiempo disponibles y a utilizar mi

pensamiento crítico para pensar en nuevas alternativas para cumplir con ciertos objetivos. Con esto reafirmo la idea que uno nunca deja de aprender y de crecer como profesionista y persona; espero nuevos retos y escenarios para ampliar y potencializar mis competencias.

**Tabla 9. Inventario de competencias antes y después del PAP.**

Competencia		Evidencia	Relevancia/ Fortaleza*	Competencias nuevas	Competencias potencializadas
Conocimientos	Sé alemán B2	Hice la certificación DSDII	Ampliar mis posibilidades de trabajo y fuentes de información que pueda consultar.	Sé utilizar equipos para procesos de bioseparación a tamaño planta piloto.	Aumentó mi conocimiento de antocianinas y compuestos fenólicos.
	Sé inglés B2	Hice el TOEFL el año pasado	Ampliar mis posibilidades de trabajo y fuentes de información que pueda consultar	Sé las bases para escribir un artículo científico.	Aumentó mi conocimiento de cultivo celular animal y de líneas celulares.
	Programación en Python nivel básico	Soy capaz de hacer códigos sencillos como inventarios, calculadoras complejas y tratamiento de datos.	Puede ayudar a analizar datos de una manera más rápida, además de que me ayudó a desarrollar un pensamiento más lógico.		Aumentó mi conocimiento sobre técnicas de bioseparación.
	Sé sobre cultivo de células, biología molecular, biología sintética y bioprocesos	Rubros del plan de estudios de la carrera de Biotecnología (teoría y práctica)	Son los conocimientos medulares para poder desenvolverme como biotecnóloga en el ámbito profesional.		

	Sé técnicas básicas de química analítica	Técnicas que hemos tenido que realizar (y conocer su fundamento) para varias de las materias que hemos cursado.	Son los conocimientos medulares para poder desenvolverme como ingeniera en el ámbito profesional.		
	Creatividad artística	He llegado incluso a ganar concurso de escritura creativa, además de disfrutar hacer manualidades.	Puede ayudar al momento de buscar distintas perspectivas de las cuales atacar un problema. En caso de trabajar en un entregable para la visualización del público, podría aportar en plasmar la información de una manera más digerible (visual y conceptualmente)		
	Patronaje y confección de prendas básicas	De manera autodidacta he realizado un par de blusas y vestidos desde cero.	Me ha dejado una noción de dibujo técnico y noción del espacio 2D→3D que podría ser útil en la construcción de un prototipo. Además de afinar mi		

			motricidad en las manos, útil para técnicas de laboratorio que requieran de precisión.		
Habilidades	Resolución de conflictos interpersonales	Suelo ser la amiga a la que buscan por un consejo y trata de resolver conflictos entre el grupo de amigos.	Para mantener un ambiente laboral de armonía y cooperación.	Resolver problemas experimentales y plantear alternativas y adaptarse a los recursos y el tiempo disponible.	Mejoré mi técnica experimental en técnicas analíticas, logrando resultados más significativos.
	Realizar material didáctico y divulgación científica	En varias clases y proyectos extracurriculares (como iGEM) he tenido que hacer infográficos, cuentos, carteles y videos de divulgación científica.	En caso de trabajar en un entregable para la visualización del público, podría aportar en plasmar la información de una manera más digerible (visual y conceptualmente).		Mejoré mi organización del tiempo y planeación de actividades.
	Tomar la iniciativa y liderar en un trabajo en equipo.	He sacado adelante trabajos en equipo en la clases, además de iGEM, actualmente la sociedad de alumnos, entre otros.	Las capacidades de liderazgo y trabajo en equipo siempre son indispensables para el trabajo en cualquier empresa o centro de investigación.		Mejoré mi habilidad de interpretación de resultados experimentales.
	Debatir para resolución de conflictos		La facilidad de la palabra para externar mis		

	(modelo de naciones unidas)		propuestas y puntos de vista siempre es valorando para la lluvia de ideas al momento de resolver un problema en el laboratorio y fuera de él. Además de ejemplificar el trabajo en equipo donde se llega a una solución integral a partir de varios puntos de vista con necesidades diferentes.		
	Modelos cinéticos y análisis de datos	En mis clases he tenido que usar herramientas como MatLab, Simulink, MiniTab y Excel para sacar modelos matemáticos y datos estadísticos.	Puede ayudar a analizar datos de una manera más rápida para llegar a conclusiones con información significativa y respaldo. Además de que me ayudó a desarrollar un pensamiento más lógico.		
	Realizar protocolos de experimentación y llevarlos a	En mi PAP anterior tuve que redactar mi propio protocolo desde la	Son los conocimientos medulares para poder desenvolverme		

	cabo en el laboratorio	investigación, llenado de solicitudes para petición de espacio y materiales, y realización de las técnicas moleculares en el laboratorio.	como ingeniera en biotecnología en el ámbito profesional.		
Actitudes	Paciente	Me considero una persona paciente al momento de asistir y tener que explicar algunas cosas a mis compañeros, si tengo que esperarme 3 horas para que salga una técnica de mejor manera, no me molesta esperar.	Para la validación o prueba de cualquier hipótesis en el ámbito científico lleva de tiempo.	Prudente. De saber hasta dónde poner límites, respetando el tiempo de los demás y el propio.	Potencialicé mi paciencia, pero esta vez hacia conmigo misma y mis errores.
	Dedicada	Sobre todo, al momento de investigar, me gusta dedicarle suficiente tiempo para tener toda la información necesaria para un panorama completo.	Indispensable para tener éxito en el desarrollo e investigación en cualquier proyecto científico.		
	Perfeccionista	Trato de entregar siempre trabajos de calidad, por más sencillo que sea.	Puedo asegurar que cualquier tarea que se me designe, la haré con mucho		

			esfuerzo y dedicación para entregar un producto de calidad.		
	Amable	Siempre trato de mantener un ambiente pacífico y feliz al momento de trabajar con otras personas.	Las capacidades de liderazgo y trabajo en equipo siempre son indispensables para el trabajo en cualquier empresa o centro de investigación.		
	Atrevida	Me gusta tratar cosas nuevas y adaptarme a la situación que sea necesaria	Capacidad de adaptarme a cualquier área o equipo de trabajo.		