

**Obtención y caracterización de extractos de subproductos agroindustriales del
fruto de ahuyama (*Cucurbita moschata* Duchesne) con fines nutracéuticos**

Jerfy Guillermo Poveda Reyes

Universidad Nacional Abierta y a Distancia - UNAD

Escuela de Ciencias Básicas, Tecnología e Ingeniería

Especialización en Procesos de Alimentos y Biomateriales

Bogotá

2021

**Obtención y caracterización de extractos de subproductos agroindustriales del
fruto de ahuyama (*Cucurbita moschata* Duchesne) con fines nutracéuticos**

Jerfy Guillermo Poveda Reyes

Proyecto de investigación

Asesora

Magda Piedad Valdés Restrepo. Ph.D.

Universidad Nacional Abierta y a Distancia - UNAD

Escuela de Ciencias Básicas, Tecnología e Ingeniería

Especialización en Procesos de Alimentos y Biomateriales

Bogotá

2021

Nota de aceptación:

Firma del presidente del jurado

Firma del jurado

Firma del jurado

Tabla de Contenido

Resumen	7
Abstract.....	9
Introducción	11
Objetivos.....	14
Antecedentes.....	15
Marco Teórico.....	20
Generalidades acerca de la ahuyama	20
Componentes nutraceuticos en la ahuyama	21
Extracción de componentes nutraceuticos en la ahuyama.....	22
Método de análisis para los componentes nutraceuticos extraídos.	23
Metodología	25
Acondicionamiento de la Materia Prima	26
Obtención de extractos de los subproductos agroindustriales de la ahuyama <i>Cucurbita moschata</i> Duch. aptos para análisis instrumental.	26
Obtención de extractos fenolicos:.....	26
Obtención de extractos de carotenos:	27
Análisis mediante cromatografía líquida (HPLC/MS) de las propiedades características para determinar la composición y perfil de compuestos de los extractos de los subproductos de la ahuyama.	28
Análisis cromatográfico de compuestos fenolicos:.....	29
Análisis cromatográfico de carotenoides:	29
Análisis de Resultados	31
Conclusiones.....	38
Bibliografía	39

Lista de Tablas

Tabla No. 1. Propiedades fisicoquímicas de la pulpa, semillas y cáscara de la ahuyama	15
Tabla No. 2: Resultados de análisis bromatológico para epicarpio, pulpa y placenta de ahuyama	31
Tabla No. 3: Resultados microbiológicos para el epicarpio, pulpa y placenta de ahuyama	34
Tabla No. 4: Resultados de carotenos totales para epicarpio, pulpa y placenta de ahuyama	36

Lista de Figuras

Figura 1. Ácido p-cumárico. Ejemplo de compuesto fenólico.....	21
Figura 2. Principales carotenos. Arriba: α -caroteno; abajo: β -caroteno	22
Figura 3. Esquema general de un extractor de Soxhlet	23
Figura 4: Comparación de nutrientes en las partes de la ahuyama.	33

Resumen

La ahuyama *Curcubita moschata* Duch, es una manifestación de la biodiversidad vegetal. Es un fruto cultivado y consumido ampliamente en Colombia debido a su rápido ciclo de producción y bajo precio con relación a su contenido nutricional. La agroindustria se ha centrado en el valor nutricional de la pulpa y en el aceite de sus semillas, dejando de lado subproductos tales como la placenta y el epicarpio. El propósito de este estudio es analizar macromoléculas, fibras y extractos de estos subproductos con fines de encontrar compuestos aplicables como nutraceuticos, y estudiar posibles formulaciones en las que se puedan incorporar, que no alteren otras propiedades organolépticas agradables al consumidor o como fuente de nutrientes por sí misma.

Los extractos fueron caracterizados realizando un análisis de los extractos por cromatografía líquida de alta eficiencia acoplado a espectrómetro de masas (HPLC-MS) para dos compuestos específicos que han sido reportados en la literatura: compuestos fenólicos y carotenos. El último paso involucró un estudio de las potenciales aplicaciones de los subproductos, enfocándose en la nutraceutica, relacionando la cantidad de metabolitos obtenidos en la fase de análisis con las presentaciones disponibles de otros productos similares.

La industria nutraceutica ha presentado una expansión exponencial en los últimos años, lo cual ha generado como efecto que la demanda de productos empiece a superar la oferta. Por tanto, como resultado final de este proyecto se espera lograr la caracterización de las sustancias extraídas y su aplicación como nutraceuticos, así

como contribuir con nuevo conocimiento que impacte en la producción agroindustrial dando valor agregado a los subproductos de la ahuyama *Cucurbita moschata* Duch.

Este trabajo presentó resultados prometedores en la identificación de carotenos, sobre todo en placenta y pulpa, con valores de 336.39 $\mu\text{g/g}$ y 212.44 $\mu\text{g/g}$ respectivamente, cantidades altas en comparación con los hallazgos de otros estudios. La incorporación de estos subproductos como utilidad puede variar desde productos de enriquecimiento de otros alimentos hasta suplementos vitamínicos. Se requiere modificar la metodología de identificación de compuestos fenólicos puesto que estos no se detectaron en la fase analítica.

Abstract

Squash (*Cucurbita moschata* Duch.) is a fruit that is widely cultivated and consumed throughout the country. Agribusiness uses only some parts of the squash, leaving aside by-products such as the placenta and the peel. The purpose of this study is to analyze the extracts of these by-products in order to find compounds applicable as nutraceuticals, and to study possible formulations which they can be used without losing other organoleptic properties that are pleasant to the consumer, or as a source of nutrients itself.

The extracts were characterized employing an analysis of the extracts by high efficiency liquid chromatography coupled to a mass spectrometer (HPLC-MS) for two specific chemical compounds that have been reported in literature: phenolic compounds and carotenes. The last step involved a study of the potential application of said by-products, focusing in the nutraceuticals field, relating the amount of metabolites obtained in the analysis phase with the available presentations of other similar products.

The nutraceutical industry has exhibited an exponential expansion in recent years, which has generated the effect that the demand for products begins to exceed supply. Therefore, as a final result of this project, it is expected to achieve the characterization of the extracted substances and their application as nutraceuticals, as well as to contribute with new knowledge that will impact agro-industrial production by giving added value to the by-products of the *Cucurbita moschata* Duch. squash.

This work showed promising results on the carotenes content, especially in placenta and pulp with quantities of 336.39 $\mu\text{g/g}$ and 212.44 $\mu\text{g/g}$ respectively, high

concentrations comparing them against the outcomes from other studies. The incorporation of these by-products as a utility may vary from food enrichment to vitamin supplements. It is needed to modify the method of phenolic compounds identification since the latter were not detected in the analytical phase.

Introducción

El desarrollo de la industrialización trae consigo ventajas indiscutibles como el mejoramiento de la calidad de vida de las poblaciones, pero en contravía, las convierte en una sociedad de consumo, ofreciéndoles una gran cantidad de nuevos productos, haciendo más complejos los procesos de producción y generando cada vez mayores cantidades y volúmenes de residuos (Hassen, 2012). Los subproductos agroindustriales, además del impacto ambiental que causan, obligan a las empresas de alimentos a incurrir en gastos para disponer de ellos, afectando su economía a pesar de que algunas de esos, los procesen para mitigar los gastos (Ayala-Zabala, 2011).

En Colombia, de acuerdo con el informe del Departamento Nacional de Planeación durante el año 2017 no se logró superar el 17% en reciclaje de residuos, lo que indica la necesidad de implementar propuestas científicas y tecnológicas que contribuyan al desarrollo productivo del país (Peñaranda González et al., 2017). El aprovechamiento de residuos es sustentable desde la disminución de los costos de lo que sería la materia prima, su alta disponibilidad y la reducción de la contaminación ambiental.

La producción de toneladas de materia orgánica vegetal en la tierra oscila alrededor de 155 billones/año. La mayoría de esa materia orgánica se transforma en residuos no comestibles que se constituyen en una fuente de contaminación ambiental (Cury, 2017). Como alternativa, la industria de alimentos se ha venido esforzando por transformar esas grandes cantidades de sus propios residuos, y lograr su aplicación en

otras áreas, como alimentación animal y humana, abono, extracción de aceites esenciales, entre otros (Yepes, 2008).

En Colombia durante el año 2018 la producción de zapallo, calabaza y calabacín fue de aproximadamente 80000 toneladas en 7000 hectáreas de cultivo. En América los mayores productores son Estados Unidos y México (FAO, 2018).

El aprovechamiento de los residuos de la ahuyama, *Cucurbita moschata* Duch; es una alternativa que se ha estudiado hace varios años (Graminha et al., 2008). Las investigaciones enfocadas principalmente a la caracterización y transformación del epicarpio y las semillas (Kampuse, 2015 y de Escalada, 2007), han mostrado que, aunque las semillas son fuente de ácidos grasos, y que la cascara (epicarpio) es rica en fibra, estos subproductos son desechados para compostaje o usados como alimento para cerdos (Vargas Corredor, Y. A., y Pérez Pérez, L. I. (2018).).

De otro lado, la población global suele sufrir desajustes alimentarios, usualmente ligados a la falta de tiempo para la preparación adecuada de alimentos, Por tanto, desde inicios del siglo XXI, como medio de prevención de algunas enfermedades asociadas a la malnutrición, surgió como una posibilidad comercial la inclusión de productos alimenticios conocidos como nutraceuticos, los cuales suplirían la demanda nutricional recomendada en la alimentación cotidiana (Birute, 2009). Sin embargo, actualmente, las industrias convencionales nutraceuticas no poseen la capacidad suficiente para suplir la demanda de un mercado en constante expansión. Ahondando esa situación, la extracción directa de los componentes nutraceuticos está limitada por la disponibilidad de materias primas y por los rendimientos variables; generados por los

mecanismos de separación de los compuestos y por las similitudes estructurales entre las moléculas (Guleria, 2017).

Los alimentos nutraceuticos vienen en presentaciones de uso diario, como leche, jugos o yogurt enriquecidos con vitaminas y minerales (Milcán, 2017). Esta propuesta tiene como objetivo identificar y evaluar el valor nutricional de los componentes fenolicos y carotenos presentes en el epicarpio y la placenta de la ahuyama, y desarrollar un producto nutraceutico final con valor agregado y posibilidad de venta a los residuos del zapallo.

Objetivos

Objetivo General:

Obtener y caracterizar distintos extractos de subproductos de Ahuyama (*Cucurbita moschata* Duch.) para detección y separación de materias primas y/o compuestos de interés para la nutracéutica.

Objetivos específicos:

- Obtener los subproductos de ahuyama *Cucurbita moschata* Duch. del cultivar UNAPAL-Abanico 75 aptos para análisis instrumental
- Identificar mediante Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC/MS) el perfil de compuestos fenólicos y carotenos totales.
- Determinar las posibles aplicaciones agroindustriales de los subproductos de la *Cucurbita moschata* Duch. De la variedad UNAPAL-Abanico 75.

Antecedentes

La hibridación de algunas variedades de ahuyama permitió obtener frutos entre 29 y 32 Kg con 24-26% de materia seca, variedad promisoría para fines agroindustriales. La reducción del contenido de humedad aumenta la durabilidad del fruto y la calidad nutricional con base en carotenos totales contribuye a mejorar la pigmentación de huevos y piel de aves que le consumen (Baena et al., 2010).

Las propiedades fisicoquímicas de la pulpa, las semillas y la cáscara de la ahuyama mostradas en la tabla 1 indican alto contenido de humedad, carbohidratos y lípidos (Quintana, 2018).

Tabla No. 1. Propiedades fisicoquímicas de la pulpa, semillas y cáscara de la ahuyama:

	Pulpa	Semilla	Cáscara
pH	6.84 ± 0.007	8.5 ± 0.014	6.87 ± 0.010
Sólidos solubles (°Brix)	5.01 ± 0.070	1.40 ± 0.110	10.46 ± 0.450
Humedad (%)	85.34 ± 0.265	23.59 ± 0.700	81.06 ± 0.260
Cenizas (%p)	0.70 ± 0.155	7.028 ± 0.194	3.67 ± 0.010
Proteína (%p)	1.32 ± 0.098	25.70 ± 0.403	1.78 ± 0.042
Lípidos (%p)	0.77 ± 0.010	52.6 ± 0.010	7.62 ± 0.010
Azúcares totales (%bs)	1.83 ± 0.180	< 0.05	< 0.05

Carbohidratos totales (%bs)	81.45 ± 2.540	69.94 ± 2.170	79.23 ± 1.470
-----------------------------	---------------	---------------	------------------

(%p: porcentaje peso. %bs: porcentaje en base seca) (Quintana, 2018).

Las diferencias en la composición de las frutas dependen de muchos factores, como la variedad, estado de madurez, fertilidad del suelo, clima y prácticas culturales, entre otros (Iwasaki, 1999).

En otros estudios se ha evaluado el potencial de cáscara y semillas de ahuyama como fuentes de compuestos fenólicos, estudiando el efecto de diferentes solventes de extracción y métodos de secado. Las muestras (frescas y cocinadas) fueron secadas por liofilización o por medio de un horno, seguido de un proceso de extracción con diferentes solventes que revelaron el siguiente orden decreciente de eficiencia: 70% de etanol, 70% de metanol, 70% de acetona, agua ultra pura y 100% de diclorometano. Las muestras secadas en horno mostraron valores más altos de actividad antioxidante y contenido fenólico, con excepción de los valores de fenoles para el material de semillas. Las muestras de cáscara presentaron valores más altos (1,47 - 70,96% de inhibición) de actividad antioxidante y contenido fenólico total (2,00 - 10,69 mg GAE / g DW). Se encontró una correlación positiva entre estos dos parámetros en las muestras de cáscara, sin embargo, las semillas de calabaza revelaron una correlación negativa entre el contenido fenólico y la actividad antioxidante (Saavedra et al., 2015).

Respecto a la determinación de carotenos, un estudio determinó el total de carotenoides, α -caroteno, β -caroteno y sus isómeros y contenido en dos muestras

locales (A y B) de ahuyamas para verificar su potencial de producción de semillas. La cromatografía líquida de alto rendimiento y espectrofotometría UV/visible fue usada para determinar α -caroteno, β -caroteno y sus isómeros, y el contenido total de carotenoides, respectivamente. Todos los análisis se realizaron por triplicado. Los resultados mostraron contenidos medios totales de carotenoides de 404,98 $\mu\text{g/g}$ en la muestra A, y 234.21 $\mu\text{g/g}$ en la muestra B. El contenido de α -caroteno varió de 67.06 a 72.99 $\mu\text{g/g}$ en las muestras A y B, respectivamente. Todo el β -caroteno fue el isómero más abundante encontrado, variando de 244.22 a 141.95 $\mu\text{g/g}$ en muestras A y B, respectivamente. Los isómeros 9 y 13-Z- β -caroteno todavía se encontraron en bajas concentraciones en ambas muestras de razas locales analizadas. El contenido de β -caroteno en la muestra cruda se mostró prometedor para la producción de semillas para cultivo y consumo (Jaeger et al., 2012).

Productos de fibra enriquecida se han obtenido mediante extracción etanólica de mesocarpio (AIR), cáscara molida (C) o mediante secado de mesocarpio (P) de ahuyama. Se evaluó la composición y las propiedades de hidratación de estos productos, así como la capacidad de retención de glucosa. La fracción de AIR mostró la mayor retención (41,8 g/g de muestra seca) seguida de P (25 ml/g de muestra seca; 24 g/g de muestra seca) y fracciones C (22 ml/g de muestra seca; 27 ml/g de muestra seca) y capacidad de retención de agua (43 g/g de muestra seca). La fracción AIR presentó también la mayor capacidad de retención de agua y la tasa de retención e hinchazón de agua. Las propiedades de hidratación dependían de la composición química de la fracción: la presencia de ramnogalacturonano I y otras pectinas hidrofílicas con cadenas laterales se relacionaron con una mayor absorción de agua e

hinchazón del AIR, mientras que la presencia de lignina en C produjo impermeabilización de las partículas de fibra que probablemente sean las responsables de su comportamiento como una barrera para la difusión del agua. Además, las fracciones AIR y C mostraron valores de retención de glucosa in vitro ensayados, de acuerdo con otros valores reportados de la literatura (de Escalada, 2007).

Se estudió nutricional y sensorialmente una pasta alimenticia de sémola de trigo (un alimento con escaso contenido nutricional) enriquecida con diferentes niveles de harina de ahuyama en su fase sólida, es decir en el 70% de su composición (sémola de trigo), puesto que el 30% estaba conformado por agua y huevo; para esto se elaboraron y se analizaron tres tipos de pastas con 5%, 10% y 15% de harina de ahuyama, se evaluó la calidad de cocción, parámetros fisicoquímicos, atributos sensoriales, calidad nutricional y microbiológica. La sustitución de la sémola de trigo por un 10% de harina de ahuyama permitió un producto de mayor calidad nutricional y buena aceptación por el consumidor; se logró un incremento significativo en la concentración de: proteínas, cenizas y vitamina A, además de un contenido bajo en grasa y buena estabilidad microbiológica. En cuanto a los parámetros de cocción se logró un aumento en el porcentaje de agua absorbida, incremento en peso y se disminuyó en tiempo de cocción (Flórez, 2017).

Otros estudios han evaluado el efecto de la pulpa y el polvo de residuos de la ahuyama en la calidad del pan de trigo. El contenido total de carotenos se analizó por método espectrofotométrico. El aumento inicial de la adición de residuos de la ahuyama indicó un aumento en el volumen del pan, que comenzó a disminuir en las cantidades más altas. La evaluación sensorial (apariencia; superficie, corteza; porosidad; textura,

miga y sabor) del pan de trigo con calabaza reveló una aceptación muy alta por parte del consumidor, excepto la muestra con 50% de adición de pulpa. El contenido total de caroteno en el pan de trigo aumentó al agregar subproductos de ahuyama. Se recomendó agregar 5% y 10% de ahuyama en polvo y no más del 30% de pulpa de ahuyama (calculado para 100 kg de harina) a la masa para la producción de pan de trigo con adiciones de subproductos de ahuyama (Solvita K., 2015).

Marco Teórico

Generalidades acerca de la ahuyama

La *Cucurbita moschata* Duch. es una especie originaria de América Central y del Sur, conocidos comúnmente como ahuyama en Colombia o calabaza en otros países. Presenta en su composición carbohidratos, carotenos, proteínas, grasa, fibra cruda y minerales (Rodríguez, 2018). Entre los métodos de extracción se encuentran la extracción sólido líquido y la extracción asistida por ultrasonido. La caracterización de estos componentes se realiza por cromatografía líquida y espectroscopía ultravioleta (Vázquez Espinosa, 2018).

La variedad de ahuyama más conocida es el tipo *Butternut squash*, con cáscara de color mixto entre verde claro y oscuro, y pulpa carnosas entre amarilla y naranja. El grosor de la cáscara puede variar desde 0,28 a 1,18 cm. siendo catalogada como fina las medidas menores a 4,3 mm y gruesas los valores mayores a 6mm (Priori et al., 2018). La especie *Cucurbita moschata*, es generalmente más tolerantes al calor o a la humedad que cultivos de *C. pepo* o *C. máxima*. Este fruto es rico en compuestos fenólicos y carotenoides, principalmente α -caroteno y β -caroteno (Valdés Restrepo et al., 2013).

Las variedades de *C. moschata* hacen difícil una unificación de las proporciones de pulpa, semillas y cáscara del fruto, pero algunos autores otorgan un rango de acuerdo con estudios físicos realizados, siendo 8.2-13.9 % de cáscara, 71.8-86.0 % de pulpa y 2.7-5.9 % de semillas (Jacobo-Valenzuela N., 2011).

La ahuyama (*Cucurbita máxima* Duch) es un fruto muy nutritivo que cuenta con un alto contenido de agua, de pocas calorías, rica en fibra y betacarotenos (Provitamina A). Sin embargo, a pesar de su gran valor nutricional este fruto no ha sido aprovechado a nivel agrícola e industrial (Flórez, 2017). En producción de pan vegetal (Borda Barajas, 2018), así como también en el enriquecimiento de pan de trigo con subproductos procesados de la ahuyama (añadiendo de 10-20 % del polvo a la masa) incrementó tanto el volumen del producto como su aceptación organoléptica (Kampuse, 2015).

Componentes nutraceuticos en la ahuyama

Los compuestos fenólicos, o polifenoles, son una agrupación de diversas características y actividades químicas. Desde la innovación en su extracción se ha usado no sólo para corrección organoléptica sino para mejorar las cualidades nutricionales y ralentizar la oxidación de ácidos grasos. Aunque muchos de estos compuestos tienen una actividad antioxidante importante, también desempeñan funciones antihipertensivas, antiinflamatorias, anticancerígenas y de protector ante enfermedades cardiovasculares.

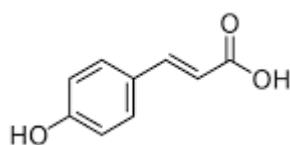


Figura 1. Ácido p-cumárico. Ejemplo de compuesto fenólico (Kampuse, 2015).

Los carotenos son pigmentos fotosintéticos necesarios para la fotosíntesis, responsables del color naranja de las zanahorias y de muchas otras frutas, como la ahuyama. El β -caroteno está compuesto por dos grupos retinil, y es separado en la mucosa del intestino delgado por la enzima β -caroteno 15,15'-monooxigenasa a retinaldehído, una forma de vitamina A. El α -caroteno sólo tiene un grupo retinil y por tanto tiene menos actividad de vitamina A que su forma β .

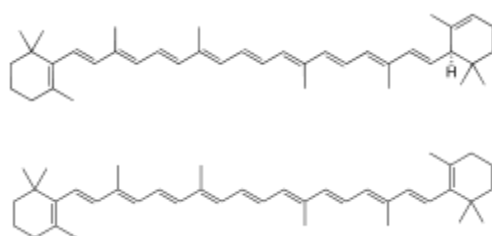


Figura 2. Principales carotenos. Arriba: α -caroteno; abajo: β -caroteno (de Escalada, 2007).

Extracción de componentes nutraceuticos en la ahuyama.

La extracción sólido-líquido es un método analítico en que los solutos contenidos en una matriz sólida son separados de dicha matriz por medio de un solvente.

El instrumento de separación sólido-líquido más usado en el laboratorio es el extractor de Soxhlet. Este extractor permite la extracción de la mayoría del soluto deseado sin necesidad de monitoreo constante y con un gasto bajo de solvente. El extractor de Soxhlet se compone de tres piezas fundamentales: Un percolador (Con sistema de calentamiento y reflujo) para el flujo constante de solvente, un dedal donde se deposita el sólido (usualmente hecho de papel filtro para extraer solutos, pero

impedir el paso de partículas sólidas) y un sifón, en donde el solvente con el soluto se deposita en el calentador del percolador y reinicia el proceso de extracción.

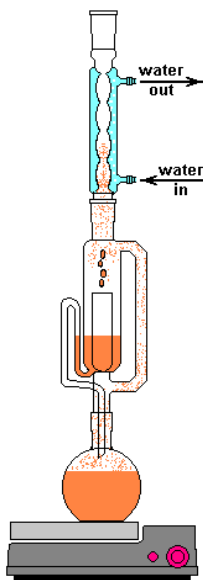


Figura 3. Esquema general de un extractor de Soxhlet (Guleria, 2017).

Para evitar la alta proporción de isómeros cis carotenoides durante la extracción con solvente convencional (CSE), se ha utilizado la extracción asistida por ultrasonido (UAE) para extraer la luteína trans y los carotenoides trans totales de la ahuyama *Cucurbita moschata* Duch. Los resultados mostraron que la mezcla de etanol y éter de petróleo (2: 1, v / v) era el solvente adecuado para la recuperación asistida por ultrasonido de la luteína trans, y la alta frecuencia resultó en la degradación oxidativa de la luteína trans presente en la cáscara (Song et al., 2018).

Método de análisis para los componentes nutraceuticos extraídos.

La cromatografía líquida es una técnica analítica que permite la separación de sustancias en un medio inicial (fase móvil) cuando es pasada por un medio que

muestra afinidades diferentes para los compuestos de la mezcla (fase estacionaria). La fase móvil es usualmente un solvente o una combinación de varios; algunas veces, para mejorar los parámetros del proceso, se usa una rampa de solventes, que es el cambio de la proporción de los solventes usados. Esto ayuda a cambiar a una separación de los analitos que tengan una polaridad similar. La fase estacionaria se encuentra ubicada en la columna cromatográfica, que es la que retiene los analitos por más o menos tiempo dependiendo de sus características (si la fase es polar o apolar) y permite la separación (Rodríguez D. 1997) La cromatografía líquida suele venir acompañada con un espectrómetro de masa que es capaz de identificar la estructura de las moléculas separadas previamente basándose en su peso molecular (Martínez., 2018).

La espectrometría de masas en tándem (conocida como MS/MS) es una técnica en análisis instrumental donde dos o más espectrómetros de masas se acoplan usando un paso de reacción adicional para aumentar la capacidad de análisis. Las moléculas de una muestra dada son ionizadas y el primer espectrómetro las separa por su relación masa/carga (m/z o m/Q en algunos equipos). Algunos iones del primer espectrómetro son seleccionados al siguiente equipo y fragmentados por disociación inducida por colisión y esos fragmentos son tomados y detectados por el equipo. Este paso de fragmentación hace posible identificar y separar iones que tengan varias relaciones m/z en espectrómetros de masa regulares (Beltrán Iturat, E., 2014).

Metodología

La locación seleccionada para la realización del proyecto fueron las instalaciones de la Universidad Nacional Abierta y a Distancia Sede Palmira.

Previo a la metodología principal del trabajo, se realizó una caracterización inicial enviando muestras de pulpa, placenta y epicarpio de ahuyama para cuantificar sus propiedades fisicoquímicas para efectos de análisis en comparación con otras variedades del fruto. Este análisis se realizó a través de Confía Control S.A.S., un laboratorio especializado en el análisis fisicoquímico de alimentos. Para la detección de proteínas se usó el método Kjeldhal, que es una prueba común usada para detectar nitrógeno en la muestra, transformándolo en amonio, destilándolo y valorando la cantidad recogida. La determinación de grasas se hizo mediante una extracción sólido-líquido tipo Soxhlet. La prueba de fibra por detergente ácido arroja una aproximación del grado de digestibilidad de las fibras en los alimentos; la muestra se digiere con cetil-trimetil-amonio en medio ácido, y el residuo se considera como fibra no digerible.

La metodología se divide en cuatro procesos principales: un tratamiento principal a la materia prima para que sea apta para procesos posteriores mediante deshidratación y maceración, la extracción de los metabolitos principales reportados en literatura (compuestos fenólicos y carotenoides) por extracción sólido-líquido, con el objetivo de obtener muestras aptas para la fase posterior, que consiste en un análisis cromatográfico a unas condiciones especificadas para la detección y cuantificación de dichos metabolitos. El último paso incluye una revisión de posibles aplicaciones de los metabolitos obtenidos en la fase cromatográfica, estudiando posibles productos finales basados en las concentraciones de estos.

Acondicionamiento de la Materia Prima

Para obtener el mayor contacto con el solvente a la hora de extracción, la materia prima (placenta y epicarpio obtenido de procesos agroindustriales) pasó por la siguiente preparación:

- Se seleccionó de las partes de la materia prima que estén en mejor estado mediante revisión visual, esto para aumentar la probabilidad de encontrar los compuestos buscados.
- Se cortó el material en láminas en áreas de 0.5 cm² aproximadamente, para optimizar el tiempo de secado posterior.
- Se secaron las láminas mediante horno a 55°C hasta que esté visiblemente seca de 12 a 24 horas.
- Se maceraron las láminas en un molino, de tal manera que el tamaño de partícula sea capaz de ser puesto en el dedal del extractor Soxhlet.
- El material no usado inmediatamente fue almacenado en un lugar seco y aireado.

Obtención de extractos de los subproductos agroindustriales de la ahuyama *Cucurbita moschata* Duch. aptos para análisis instrumental.

Obtención de extractos fenólicos:

Uno de los métodos de extracción para compuestos fenólicos encontrados en literatura contempla una extracción sólido-líquido (de Escalada, 2007):

- La materia prima previamente procesada constituye la fase sólida, empacando de 5 a 10 gramos en dedales de tela.
- La fase líquida la conforman de 20 mL de una mezcla de agua-metanol 2:8 que contiene 2 mM de NaF, este último inhibe posibles oxidantes de fenoles presentes en la parte sólida que puedan degradar los polifenoles
- Se calentó el extractor Soxhlet a 70 °C hasta que hayan transcurrido 5 procesos de sifón o hasta que la fase sólida pierda su coloración.
- La solución final fue concentrada en rotavapor a 60 °C hasta 10 mL.
- El extracto no usado para las pruebas cromatográficas fue almacenado en frío en caso de que llegara a ser requerido posteriormente.

Obtención de extractos de carotenos:

- Se pesó 0,1 g de muestra
- Se adicionaron 3 ml de acetona y se dejó en reposo por 10 minutos
- Se adicionaron 3 ml de Éter de petróleo
- La solución fue llevada a vórtex durante 2 minutos
- Se adicionaron 3 ml de agua destilada
- Se centrifugó la solución a 3000 rpm durante 10 minutos
- La fase etérea (fase superior) fue separada en un tubo falcon limpio debidamente rotulado.
- Se adicionaron 2 ml de acetona y 2 ml de éter de petróleo a la muestra residuo del tubo inicial
- La solución anterior fue llevada a vórtex durante 2 minutos

- Se centrifugó a 3000 rpm durante 10 minutos
- La fase etérea (fase superior) fue separada y juntada con la anterior (numeral 7)
- Se repitieron los pasos 8 a 11 pero con 1 ml de acetona y 1 ml de éter de petróleo
- A la fase etérea se le adicionó 3ml solución salina a 0,1 N de NaCl para lavar y secar
- La solución anterior fue centrifugada a 3000 rpm durante 7 minutos
- Se separó la solución salina y fue desechada (es la fase inferior del tubo)
- Se adicionaron de nuevo 3 ml de solución salina a 0,1 N de NaCl y se hizo vórtex por 10 segundos
- La solución centrifugó a 3000 rpm durante 7 minutos
- La solución salina fue separada y desechada (fase inferior del tubo)
- Se adicionaron de nuevo 3 ml de solución salina a 0,1 N de NaCl
- Se centrifugó a 3000 rpm durante 5 minutos
- La solución salina fue separada y desechada (fase inferior del tubo)
- La solución final se completó a un volumen definido de 6 ml en el mismo tubo falco, con éter de petróleo y se hizo vórtex.

Análisis mediante cromatografía líquida (HPLC/MS) de las propiedades características para determinar la composición y perfil de compuestos de los extractos de los subproductos de la ahuyama.

Análisis cromatográfico de compuestos fenólicos:

- Se tomó una muestra de 2 mL del extracto.
- Se introdujo la muestra en el cromatógrafo.
- La muestra fue analizada en el cromatógrafo bajo las siguientes condiciones:
 - Fase estacionaria: columna C₁₂ (fase apolar), con una temperatura de 40 °C
 - Velocidad de flujo de 50 µL/min
 - Fase móvil: acetonitrilo (A) y agua (B) como fase móvil. La fase móvil usa un gradiente de 10:90 a 30:70 en 60 min.
- El espectrómetro de masas se configuró con las siguientes condiciones:
 - Modo de ionización positiva.
 - Nitrógeno usado como nebulizador.
 - Potencial de la Ionización por Electro-Spray (ESI) de 4 kV.
 - Temperatura del cuadrupolo de 400 °C.

Análisis cromatográfico de carotenoides:

- Se tomó una muestra de 3 mL del extracto de carotenos.
- Se introdujo la muestra en el cromatógrafo.
- La muestra fue analizada en el cromatógrafo bajo las siguientes condiciones:
 - Fase estacionaria columna monomérica C₁₈ (de naturaleza altamente apolar)
 - Velocidad de flujo: 0.5 mL/min.
 - Fase móvil: acetonitrilo, metanol y acetato de etilo. Use una curva de solventes de 95:5:0 a 60:20:20 en 20 min y dejar de esa manera hasta 50 min.
- El espectrómetro de masas se configuró con las siguientes condiciones:

- Temperatura de la región de expansión de 80 °C.
- Temperatura nebulizador de 90 °C.
- Voltaje de ionización será de 70 eV.
- Temperatura de las fuentes de iones será de 210 °C.

Los resultados fueron analizados en comparativa con datos obtenidos por autores (Kampuse, 2015, Jaeger et al., 2012 y Quintana, 2018, entre otros) en estudios anteriores, tanto para el estudio preliminar de componentes como para los resultados de los análisis cromatográficos. Las potenciales aplicaciones nutracéuticas de los compuestos obtenidos fueron analizadas por presentaciones comerciales de los productos disponibles en el mercado, y su factibilidad teniendo en cuenta la concentración de los compuestos en la matriz alimenticia.

Análisis de Resultados

Ensayos preliminares de subproductos de ahuyama:

Para efectos de una caracterización inicial, se llevaron a análisis fisicoquímico los compuestos que se van a llevar a cromatografía. Los resultados son los siguientes:

Tabla No. 2: Resultados de análisis bromatológico para epicarpio, pulpa y placenta de ahuyama:

Composición	Epicarpio	Pulpa	Placenta
Proteína (g/100g)	7,1	12,7	17,6
Grasa (g/100g)	6,6	3,4	2,9
Ceniza (g/100g)	18,4	7,4	13,4
Fibra detergente ácido (g/100g)	21,6	8,1	----
Fibra detergente neutro (g/100g)	22	14,9	-----

De las 3 partes de la ahuyama utilizada en este trabajo, la placenta fue la que reportó el mayor contenido de proteína, no obstante, siendo menor al valor de 30,6% reportado para sus semillas (Martínez, Y. et al., 2010).

El mayor porcentaje de grasa lo presentó la cáscara de la ahuyama, lo que se encuentra en concordancia con la presencia de ácidos grasos, según lo reportado en

literatura. La cantidad de grasa encontrada en la cáscara de la *Cucurbita moschata* obtenido fue comparado con el hallado para la *Cucurbita maxima* Linn, siendo la primera 6,6% en tanto que la segunda se reporta un valor de 1,6% (Ziaul Amin et al., 2019)

La prueba de cenizas es ampliamente utilizada en alimentos para determinar el contenido de residuos inorgánicos totales no volátiles luego de la incineración de la muestra. La pulpa es sabida que posee muchos compuestos orgánicos, pero el contenido de minerales es bajo (Quintana, 2018). Sin embargo, el epicarpio y la placenta reportaron altos valores en la prueba de cenizas, superando los resultados de otros autores, donde el porcentaje máximo es de un 3.6 % (Saavedra et al., 2015).

La fibra por detergente neutro cuantifica la cantidad de hemicelulosa, celulosa y lignina, compuestos presentes en la pared celular. La literatura indica que la fibra es uno de los componentes principales del epicarpio de la ahuyama, por lo que se esperaba que este fuera la parte más rica en estos compuestos. La pulpa de la *Cucurbita moschata* presentó 14.9 % de FDN y 8.1 de FDA% lo que permite inferir una alta digestibilidad de la fibra de esta parte del fruto. Lo anterior, presenta concordancia con el 80% de digestibilidad de la pulpa de la calabaza (Maynard et al., 2004).

La cáscara con pulpa de la calabaza chihua contiene 6.5 % de materia seca (MS), 13.7 % de cenizas, 8.6 % de proteína cruda (PC), 49.4 % de fibra detergente neutra (FDN), 40.5 % de fibra detergente ácida (FDA) y 3.3 Mcal/kg de energía metabolizable (Dorantes-Jiménez et al. 2016), en relación con los resultados anteriores, la cascara de la *Cucurbita moschata* contiene menos proteína, FDA, FDN y mayor

cantidad de ceniza. De acuerdo con los valores de FDA, podría inferirse que la digestibilidad de la fibra de la cáscara de la ahuyama es baja.

El fruto de la ahuyama *Cucurbita moschata* Duch., ha presentado contenidos de proteína cruda entre 4,4 y 14,5% (Tobar Tosse et al., 2010) y la harina integral de zapallo ha mostrado contenidos cercanos a 8.3 % (Ubaque, et al., 2015), los valores anteriores muestran concordancia con el 12,7% de proteína encontrada en el fruto de la *Cucurbita moschata*. Los valores nutricionales del fruto fresco y seco hacen del consumo del zapallo, adecuado para el consumo humano y para el diseño de raciones animales.

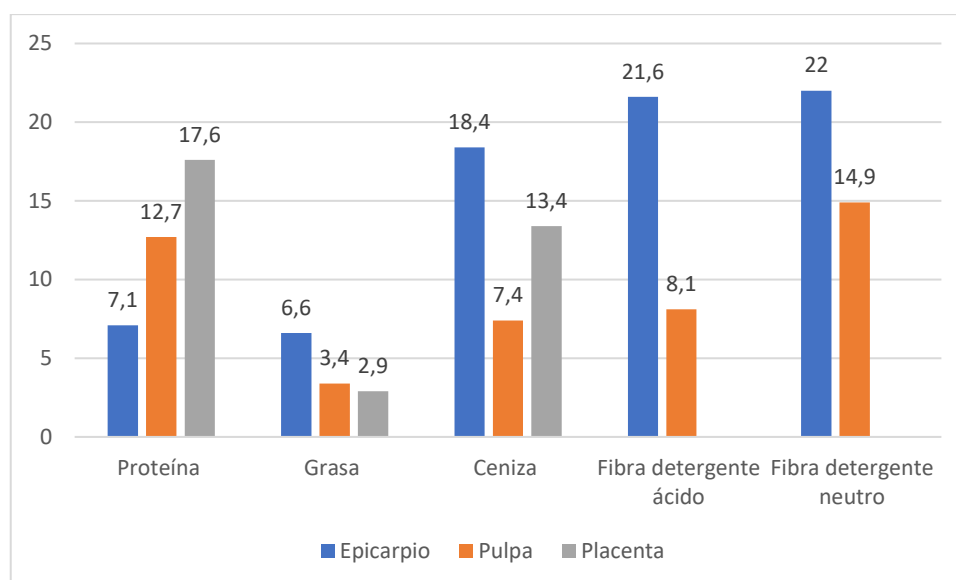


Figura 4: Comparación de nutrientes en las partes de la ahuyama.

Análisis microbiológico de subproductos de ahuyama:

Los componentes de la ahuyama arrojaron los siguientes resultados microbiológicos:

Tabla No. 3: Resultados microbiológicos para el epicarpio, pulpa y placenta de ahuyama:

Análisis	Epicarpio	Pulpa	Placenta	Especificación
Detección de <i>Salmonella</i> <i>spp.</i>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausente
NMP Coliformes fecales	3,6	<3	43	<3
NMP Coliformes totales	>1100	9,1	>1100	<3
Recuento aerobios mesófilos	20300	21600	31100	10000
Recuento <i>Bacillus cereus</i>	<100	100	<100	<100
Recuento de <i>Staphylococcus auerus</i> coagulasa positiva	<10	<10	<10	<100

La carga microbiana de las muestras demostró ser alta, en donde la mayoría de los compuestos se consideran como no conformes. La cantidad de coliformes totales es un criterio de control de calidad de alimentos donde se cuantifican las bacterias gram negativas capaces de fermentar lactosa a 35°C por 48 horas. Esto comprende los géneros *Enterobacter*, *Escherichia*, *Citrobacter* y *Klebsiella*. Los coliformes fecales la constituyen bacterias gram negativas capaces de fermentar lactosa a 44°C por 48 horas, y *Escherichia coli* es su bacteria más representativa (Rodríguez, 2020).

Los aerobios mesófilos son bacterias capaces de desarrollarse en oxígeno a una temperatura entre 20°C y 45°C, este criterio refleja la calidad sanitaria de los productos y un recuento elevado puede deberse a varios factores:

- Contaminación en exceso de materia prima.
- Manipulación incorrecta.
- Presencia de agentes patógenos.
- Alteración del producto.

Bacillus cereus es una bacteria capaz de producir intoxicaciones y toxiinfecciones en los alimentos; puede estar presente en la mayoría de los alimentos entrando en cualquier parte de la cadena trófica y su habilidad para generar esporas que resisten varios procesos a los que se someten los alimentos, como secado, congelamiento o tratamientos térmicos lo convierten en un patógeno de cuidado en temas de salud pública. (Cortés, 2018). La pulpa presentó un número mayor de *B. cereus* que las demás partes, pero ninguna superó las especificaciones reglamentarias.

La intoxicación estafilocócica hace parte de las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) más común en el mundo (Peña, 2015). Esta bacteria gram positiva puede causar una gran variedad de enfermedades relacionadas con morbi-mortalidad, bacteremias, síndrome de choque tóxico y celulitis (Henao, 2017). Todas las muestras reportaron cantidades insignificantes en el recuento de *S. aureus*, descartando el riesgo que presenta esta bacteria.

Análisis cromatográfico de compuestos fenólicos en pulpa, placenta y epicarpio de *Cucurbita moschata*.

El resultado del análisis no reportó compuestos fenólicos detectables en ninguna de las tres muestras. Las propiedades cromatográficas deben ser modificadas en orden de obtener lecturas sensibles y robustas de los antioxidantes fenólicos, ya que la literatura reporta su presencia en concentraciones de 2,00 - 10,69 miligramos Equivalentes de Ácido Gálico (GAE) por gramo de Peso Seco (DW).

Análisis cromatográfico de carotenos totales en pulpa, placenta y epicarpio de *Cucurbita moschata*.

El método analítico reportó los siguientes datos:

Tabla No. 4: Resultados de carotenos totales para epicarpio, pulpa y placenta de ahuyama:

Metabolito	Epicarpio	Pulpa	Placenta
Carotenos totales ($\mu\text{g/g}$) DW	212.44	336.39	337.28

Los resultados, comparados entre sí, muestran una mayor cantidad de carotenos en la placenta que en la pulpa, que siempre ha sido considerada la parte más concentrada del fruto (Kampuse, 2015). Los rangos estudiados de carotenos totales de *Cucurbita moschata* variaban de 404,98 a 234.21 $\mu\text{g/g}$ según el cultivo (de Escalada, 2007), los datos no sólo se encuentran en este rango, sino que se acercan al valor máximo reportado, indicando que la presencia de carotenos es un factor de los

subproductos agroindustriales que puede ser aprovechado para el enriquecimiento vitamínico de alimentos (Jaeger et al., 2012).

Aplicaciones potenciales de los subproductos de la ahuyama en productos nutraceuticos

Las aplicaciones de otros subproductos agroindustriales en la industria de la nutraceutica usualmente siguen dos caminos: el enriquecimiento de alimentos con harinas del subproducto o la extracción de metabolitos para su formulación en una presentación farmacéutica (Mejías-Brizuela, 2016). El enriquecimiento de productos de panificación con harina de pulpa de ahuyama ha brindado resultados positivos en la percepción del consumidor y en el aumento de carotenos en la formulación, volviéndolo un producto más saludable (Flórez, 2017). La elaboración de tortas y ponqués con harinas de ahuyama incorporadas reportaron datos de enriquecimiento de fibra del 11% de fibra convirtiéndolo en un producto alto en fibra.

La extracción de carotenos para su implementación como suplementos vitamínicos no ha sido estudiada con detalle. Pero el producto de la separación de estas sustancias puede servir como materia prima para la incorporación de una forma farmacéutica simple, como polvo para solución, o con tecnologías más complejas, como comprimidos o capsulas de gelatina blanda (García-Jiménez 2018).

Conclusiones

La *Cucurbita moschata* Duchesne ha demostrado ser un fruto cuyos subproductos agroindustriales tienen amplio aprovechamiento en la industria farmacéutica, especialmente la pulpa y la placenta, enfocándose en el uso de los carotenos para el enriquecimiento de alimentos o para la elaboración de una presentación farmacéutica. Los valores reportados de estos carotenos concuerdan con datos de otros estudios y el aporte de estos nutrientes es significativo para ser utilizados.

La variación UNAPAL-Abanico 75 de la ahuyama, trabajada en este proyecto, proporcionó valores altos tanto en su caracterización inicial como en el contenido de carotenos comparándose con otras especies de *Cucurbita moschata*, sobre todo en el contenido de proteínas y grasa.

Se deben estudiar otras propiedades cromatográficas para la identificación de compuestos fenólicos, y manejar el alimento con el cuidado correcto, para evitar que pueda ser fuente de contaminación bacteriana.

Bibliografía

- Amin, M. Z., Islam, T., Uddin, M. R., Uddin, M. J., Rahman, M. M., & Satter, M. A. (2019). *Comparative study on nutrient contents in the different parts of indigenous and hybrid varieties of pumpkin (Cucurbita maxima Linn.)*. Heliyon, 5(9), e02462.
- Ayala-Zavala, J., Vega-Vega, V., Rosas-Domínguez, C., Palafox-Carlos, H., Villa-Rodriguez, J. A., Siddiqui, M. W., ... & González-Aguilar, G. A. (2011). *Agro-industrial potential of exotic fruit byproducts as a source of food additives*. Food Research International, 44(7), 1866-1874.
- Baena García, D., Ortiz Grisales, S., Valdés Restrepo, M. P., Estrada Salazar, E. I., & Vallejo Cabrera, F. A. (2010). *UNAPAL –Abanico 75: nuevo cultivar de zapallo con alto contenido de materia seca en el fruto para fines agroindustriales*. Acta Agronómica, 59(3), 285-292.
- Beltrán Iturat, E. (2014). *Investigación de Toxinas Naturales en Aguas y Alimentos mediante Cromatografía Líquida acoplada a Espectrometría de Masas en Tándem* [Tesis de Doctorado en Ciencias, Universitat Jaume I], Tesis Doctorals en Xarxa. <http://hdl.handle.net/10803/133022>
- Biruete, A., Juárez, E., Sieiro, E., Romero, R., y Silencio, J. (2009). *Los nutraceuticos. Lo que es conveniente saber*. Revista Mexicana de Pediatría, 76(3), 136-145.

Borda Barajas, E.C. (2018). *Estudio de factibilidad para la elaboración de pan vegetal de auyama como producto innovador y promotor de la empresa Riverpan en el barrio San Jorge de Bogotá D.C.* (Tesis de pregrado, Universidad Cooperativa de Colombia). Repositorio Institucional, <http://repository.ucc.edu.co/handle/ucc/11526>.

Choct, M., & Cadogan, D. J. (2001). *How effective are supplemental enzymes in pig diets.* Manipulating Pig Production, 8, 240-247.

Cortés Sánchez, A. D. J., Guzmán Medina, C. A., & Díaz Ramírez, M. (2018). *Sobre Bacillus cereus y la inocuidad de los alimentos (una revisión).* Revista de Ciencias, 22(1), 93-108.

Cury, K.; Aguas, Y.; Martinez, A.; Olivero, R.; Chams, L. (2017). *Residuos agroindustriales su impacto, manejo y aprovechamiento.* Revista Colombiana de Ciencia Animal, 9, 122-132.

de Carvalho, L. M. J., Gomes, P. B., de Oliveira Godoy, R. L., Pacheco, S., do Monte, P. H. F., de Carvalho, J. L. V.,... Ramos, S. R. R., (2012). *Total carotenoid content, α -carotene and β -carotene, of landrace pumpkins (*Cucurbita moschata* Duch): A preliminary study.* Food Research International, (47,2) 337-340.

de Escalada Pla, M. F., Ponce, N. M., Stortz, C. A., Gerschenson, L. N., & Rojas, A. M. (2007). *Composition and functional properties of enriched fiber products*

obtained from pumpkin (Cucurbita moschata Duchesne ex Poiret). LWT-Food Science and Technology, 40(7), 1176-1185.

Dorantes-Jiménez J., Flota-Bañuelos C., Candelaria-Martínez B., Ramírez-Mella M. y Crosby-Galván M.M. (2016). *Calabaza chihua (Curcubita argyrosperma Huber), alternativa para alimentación animal en el trópico. Agroproductividad, 9(9), 33-37.*

FAO, 2018. *Cantidades de producción / rendimiento de calabazas, calabacines y calabacines en Colombia.* <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC>

Flórez, E.; Ortega, L.; Rincones, E. (2017). *Evaluación nutricional y sensorial de pastas alimenticias elaboradas con sémola de trigo (Triticum durum) y harina de ahuyama (Cucurbita máxima duch).* Revista de la Asociación Colombiana de Ciencia y Tecnología de Alimentos, 25(42), 3-17.

García-Jiménez, F. A., Romero-Castillo, P. A., Reyes-Dorantes, A. (2018). *Presencia de carotenoides en chile ancho y pasilla (Capsicum annuum L.) en muestras de 10 años y recientes.* Polibotánica, 46, 259-272.

Graminha, E.B.N., Gonc, alves, A.Z.L., Pirota, R.D.P.B., Balsalobre, M.A.A., da Silva, R., Gomes, E., (2008). *Enzyme production by solid-state fermentation: Application to animal nutrition.* Anim. Feed Sci. Technol, 144, 1–22.

Guleria, S., Zhou, J., Koffas, M. A. (2017). *Nutraceuticals (vitamin C, carotenoids, resveratrol).* Industrial biotechnology: products and processes, 4, 309-336.

- Hassen, H., (2000). *Producción limpia, gestión ambiental y desarrollo sostenible*. Revista Escuela de administración de negocios, (39-40), 56-72.
- Henao, L. A. O., Hernández, D. C., & Castaño, L. M. (2017). *Staphylococcus aureus coagulasa positiva: Estado portador en manipuladores de alimentos del SENA Regional Caldas en Manizales*. Revista Nova, 3, 20-29.
- Jacobo-Valenzuela, N., Maróstica-Junior, M. R., de Jesús Zazueta-Morales, J., Gallegos-Infante, J. A. (2011). *Physicochemical, technological properties and health-benefits of Cucurbita moschata Duchense vs. Cehualca: A Review*. Food Research International, 44(9), 2587-2593.
- Jarungjitaree, P., Naradisorn, M. (2019). *Evaluación de las actividades antioxidantes y antifúngicas del subproducto de calabaza y su aplicación en banano*. Revista de Ciencia de los Alimentos y Tecnología Agrícola (JFAT), 4, 129-133.
- Iwasaki K., Matsumura A. (1999). *Effect of silicon on alleviation of manganese toxicity in pumpkin (Cucurbita moschata Duch cv. Shintosa)*. Soil Science and Plant Nutr., 45(4), 909–920.
- Kampuse, S., Ozola, L., Straumite, E., Galoburda, R. (2015). *Quality parameters of wheat bread enriched with pumpkin (Cucurbita Moschata) by-products*. Acta Universitatis Cibiniensis: Series E: Food Technology, 19(2), 3-14.

- Malagón, M. L., Corzo, R. J., Manrique, I. G. (2017). *Uso potencial de fitoquímicos derivados de microalgas para la obtención de nutraceuticos*. Fundación Universidad de América. Semilleros Formación Investigativa, 3(1), 91-100.
- Martínez, Y., Valdivié, M., Martínez, O., Estarrón, M., Córdova, J. (2010). *Utilización de la semilla de calabaza (Cucurbita moschata) en dietas para pollos de ceba*. Revista Cubana de Ciencia Agrícola, 44(4), 393-398.
- Martínez-Expósito, R. (2018). *Estudio de la composición fenólica de plantas mediante cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas*. [Tesis de pregrado, Universidad de Jaén]. Repositorio de Trabajos Académicos de la Universidad de Jaén. <https://hdl.handle.net/10953.1/6514>.
- Maynard, D. N., Elmstrom, G. W., Talcott, S. T., Carle, R. B. (2002). *'El Dorado' and 'La Estrella': Compact plant tropical pumpkin hybrids*. HortScience, 37(5), 831-833.
- Mejías-Brizuela, N., Orozco-Guillén, E., Galáan-Hernández, N. (2016). *Aprovechamiento de los residuos agroindustriales y su contribución al desarrollo sostenible de México*. Revista de Ciencias Ambientales y Recursos Naturales, 2(6), 27-41.
- Moron, C., Zacarias, I., Pablo, S. D. (1997). *Producción y manejo de datos de composición química de alimentos en nutrición*. Producción y manejo de datos

de composición química de alimentos en nutrición. FAO. Dirección de Alimentación y Nutrición. <http://www.fao.org/3/Ah833s20.html>.

Peña, Y. P., Hernández, M. E., Castillo, V. L., López, N. A., Muñoz, Y. P., Rodríguez, P. S. (2015). *Resistencia antimicrobiana en cepas de estafilococos coagulasa positiva aisladas en alimentos y manipuladores*. Revista Cubana de Alimentación y Nutrición, 25(2), 245-260.

Peñaranda González, L. V., Montenegro Gómez, S. P., Giraldo Abad, P. A. (2017). *Aprovechamiento de residuos agroindustriales en Colombia*. Revista De Investigación Agraria y Ambiental, 8(2), 141 - 150.

Priori, D., Barbieri, R. L., Mistura, C. C., Villela, J. C. B. (2018). *Caracterização morfológica de variedades crioulas de abóboras (Cucurbita maxima) do sul do Brasil*. Revista Ceres, 65(4), 337-345.

Quintana, S. E., Marsiglia, R. M., Machacon, D., Torregroza, E., García-Zapateiro, L. A. (2018). *Chemical composition and Physicochemical properties of squash (Cucurbita moschata) cultivated in Bolivar Department (Colombia)*. Contemp. Eng. Sci, 11, 1003-1012.

Ramírez, E., Villa, F. (2015). *Obtención de harina de zapallo por el proceso de secado de alimentos*. Ventana Científica, 5(9), 1-17.

Rodríguez Ruíz, R. A. (2020). *Evaluación de Coliformes totales y Escherichia coli en superficies de contacto, Salmonella sp. en carne de res, en el primer y tercer*

trimestre del 2018, establecimiento# 2. Managua, Nicaragua. [Monografía, Universidad Nacional Agraria]. Repositorio Institucional.

<https://repositorio.una.edu.ni/4124/>

Rodríguez, R. A., Valdés, M. P., Ortiz, S. (2018). *Características agronómicas y calidad nutricional de los frutos y semillas de zapallo Cucurbita sp.* Revista colombiana de ciencia animal recia, 10(1), 86-97.

Saavedra, M., Aires, A., Dias, C., Almeida, J., Vasconcelos, M., Santos, P., Rosa, E. (2015). *Evaluation of the potential of squash pumpkin by-products (seeds and shell) as sources of antioxidant and bioactive compounds.* Journal of Food Science and Technology, 52, 1-8.

Saavedra, M., Aires, A., Dias, C., Almeida, J., De Vasconcelos, M., Santos, P., Rosa, E. (2015). *Evaluación del potencial de los subproductos de calabaza (semillas y cáscara) como fuentes de compuestos antioxidantes y bioactivos.* Revista de ciencia y tecnología de alimentos, 52(2), 1008-1015.

Kampuse, S., Ozola, L., Straumite, E., Galoburda, R. (2015). *Quality parameters of wheat bread enriched with pumpkin (Cucurbita moschata) by-products.* Acta Universitatis Cibiniensis. Series E: Food Technology, 19(2), 3-14.

Song, J., Yang, Q., Huang, W., Xiao, Y., Li, D. y Liu, C. (2018). *Optimización de la luteína trans de la cáscara de calabaza (Cucurbita moschata) mediante*

extracción asistida por ultrasonido. Procesamiento de alimentos y bioproductos, 107, 104-112.

Sosa-Medina, A., Hernández-Vélez, R., Antonio-Cruz, R., Arellano-Cárdenas, S. *Caracterización de la Calabaza Criolla "Cucurbita lundelliana" F-TIR y absorción atómica. Revista de la invención técnica* 2017, 1(4),10-21.

Tosse, D., Cabrera, F., García, D. (2010). *Evaluación de familias de zapallo (Cucurbita moschata Duch.) seleccionadas por mayor contenido de materia seca en el fruto y otras características agronómicas. Acta Agronómica*, 59(1), 65-72.

Valdés-Restrepo, M., Ortiz-Grisales, S., Vallejo-Cabrera, F., Baena-García, D. (2013). *Estabilidad fenotípica de rasgos asociados con la calidad del fruto en calabacín (Cucurbita moschata Duch.). Agronomía Colombiana*, 31 (2), 147-152.

Vargas Corredor, Y., Pérez Pérez, I. (2018). *Aprovechamiento de residuos agroindustriales en el mejoramiento de la calidad del ambiente. Revista Facultad De Ciencias Básicas*, 1(1), 59-72.

Vázquez Espinosa, M. (2018). *Desarrollo y optimización de técnicas de extracción y análisis de compuestos con actividad biológica en maqui (Aristotelia chilensis). [Tesis de pregrado, Universidad de Cádiz]. Repositorio de Objetos de Docencia*

e Investigación de la Universidad de Cádiz.

<https://rodin.uca.es/handle/10498/20296>.

Yepes, S.; Montoya, L.; Orozco, F. (2008). *Valorización de Residuos Agroindustriales - Frutas – en Medellín y el Sur del Valle de Aburrá, Colombia*. Revista Facultad Nacional de Agronomía, Universidad Nacional. 61(1). 4422-4431.