

# Caracterización de bacterias ácido lácticas y determinación de la capacidad antioxidante de chucrut verde (*Brassica oleracea* L. var. capitata) y morado (*Brassica oleracea* L. var. capitata f. rubra)

Tania Breshkovskaya Ortiz Escobar<sup>1</sup>, Evelyn Yveth Juárez Pérez<sup>1</sup> y Juan Manuel Silva Ortiz<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidad Politécnica de Gómez Palacio, Departamento de Ingeniería en Biotecnología, Carretera El Vergel – La Torreña Km. 0 820, Localidad El Vergel 35120, Gómez Palacio, Durango, México  
tortiz@upgop.edu.mx

<sup>2</sup> Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Físico Matemáticas, Ciudad Universitaria, Pedro de Alba s/n San Nicolás de los Garza, Nuevo León C.P. 66455

## Resumen

En la presente investigación, se utilizaron dos variedades de repollo para la elaboración de chucrut verde y morado (*Brassica oleracea* L. var. capitata y *Brassica oleracea* L. var. capitata f. rubra, respectivamente); con la finalidad de aislar y caracterizar bacterias ácido lácticas (BAL) presentes en el proceso de fermentación. Se obtuvieron 12 cultivos bacterianos, los cuales se nombraron de acuerdo al laboratorio de microbiología, donde fueron aislados y caracterizados como LM-01 a LM-12, los resultados mostraron bacterias Gram positivas, tamaño uniforme aproximadamente de 0.8  $\mu\text{m}$  de diámetro, con formas de coco y bacilo, anaerobias facultativas, no formadoras de esporas, características significativas de las BAL. A partir de estos cultivos, se seleccionaron seis aislados, tres de chucrut verde y tres de chucrut morado, para evaluar su cinética de crecimiento, las cuales mostraron la máxima velocidad de crecimiento a las 96 h de fermentación y diferencias notorias en el número de población. El chucrut morado generó mayor tamaño de población, lo que comprobó los modelos utilizados, que describen como en un espacio y recursos limitados, una población puede alcanzar un valor máximo sostenible y después ir en declive. De acuerdo a la capacidad antioxidante de los extractos de chucrut, se alcanzaron los valores máximos en los extractos hidroalcohólicos de ambos tipos de chucrut con el método ABTS, en comparación con el DPPH. Sin embargo, los valores mayores fueron en chucrut morado, de aproximadamente 697.43  $\mu\text{mol}$  equivalente de Trolox /g. Estos resultados sugieren la necesidad del consumo de alimentos fermentados y conocer las condiciones que propician el desarrollo de bacterias de importancia, como son las BAL que originan alimentos probióticos y que ayudan en el tratamiento del síndrome del intestino irritable y absorción de minerales.

**Palabras clave**— Bacterias ácido lácticas, capacidad antioxidante, chucrut, fermentación

## Abstract

In this research, two varieties of cabbage were used to prepare green and purple sauerkraut (*Brassica oleracea* L. var. capitata and *Brassica oleracea* L. var. capitata f. rubra), respectively; with the purpose of isolating and characterizing lactic acid bacteria (LAB) present in the fermentation process. 12 bacterial cultures were obtained, which were named according to the microbiology laboratory, where they were isolated and characterized as LM-01 to LM-12, the results showed Gram positive bacteria, uniform size approximately 0.8  $\mu\text{m}$  of diameter, with shapes of coccus and bacillus, facultative anaerobes, no spore forming, significant characteristics of LAB. From these cultures, 6 isolates were selected, 3 from green sauerkraut and 3 from purple sauerkraut, to evaluate their growth kinetics, which showed the maximum growth speed at 96 h of fermentation for both samples, with a speed of similar growth and notable differences in the population number. The purple sauerkraut generated a larger population size, which confirmed the models used, which describe how in a limited space and resources, a population can reach a maximum sustainable value and then go into decline. According to the antioxidant capacity of sauerkraut extracts, the maximum values were reached in the hydroalcoholic extracts of both types of sauerkraut with the ABTS method, compared to the DPPH. However, the highest values were in purple sauerkraut, approximately 697.43  $\mu\text{mol}$  Trolox equivalent/g. These results suggest the need to consume fermented foods and know the conditions that promote the development of important bacteria, such as LAB that produce probiotic foods and that help in the treatment of irritable bowel syndrome and mineral absorption.

**Keywords**— Lactic acid bacteria, antioxidant capacity, sauerkraut, fermentation

## I. INTRODUCCIÓN

Las bacterias ácido lácticas (BAL), son cocos o bacilos Gram positivos, anaerobios facultativos no forman esporas, no motiles, conformados por géneros como *Bifidobacterias*, *Streptococcus*, *Lactobacillus* y *Lactococcus* [1]-[3]. Las BAL producen una variedad de metabolitos con acción antimicrobiana durante el proceso de crecimiento y fermentación de carbohidratos, como el ácido láctico [5] originando alimentos probióticos, como el chucrut [4], [6], [7]. El chucrut es un alimento funcional [8] resultado de la fermentación láctica [9] de col o repollo (*Brassica oleracea* var. *capitata*) en presencia de sal, conservando su valor nutritivo

[10]-[12], sabores y beneficios para la salud, debido a su alto contenido de antioxidantes vitaminas y minerales [8], [13]. En el chucrut, la fermentación ácido láctica se lleva a cabo por la combinación de una correcta concentración de sal y el descenso del pH, lo cual se considera un límite en el desarrollo de microorganismos patógenos que se da por la acumulación de ácido láctico, generado por las bacterias responsable de la fermentación. Durante el proceso fermentativo en los vegetales se desarrollan las siguientes etapas: inicio de la fermentación, fermentación primaria, fermentación secundaria y post-fermentación. En la industria son deseables las dos primeras, pues las bacterias ácido lácticas son las que participan principalmente en relación a la presencia de otros

microorganismos [14]. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue aislar y caracterizar las bacterias ácido-lácticas presentes durante la fermentación de col verde y morada; así como determinar su cinética de crecimiento y la evaluación de la capacidad de antioxidante en ambos tipos de chucrut.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

El chucrut se elaboró mediante fermentación láctica espontánea. Se utilizaron dos variedades de col: verde (*Brassica oleracea* L. var. capitata) y morada (*Brassica oleracea* L. var. capitata f. rubra). Se prepararon cuatro frascos de chucrut de 300 g por variedad de repollo. Se retiraron las hojas exteriores, lavaron y reservaron, el resto del repollo se cortó en trozos de 5 mm aproximadamente y en un recipiente se mezcló con un 2-3 % (p/p) de sal. Una vez realizada la mezcla, esta se colocó en frascos de vidrio con tapa de fermentación, se llenaron hasta un 75 % del volumen y posteriormente se cubrió el total con las hojas exteriores (previamente lavadas). La fermentación del chucrut se llevó a cabo durante siete días, durante ese tiempo se realizó el aislamiento, caracterización y cinética de crecimiento microbiano, y al final de la fermentación se determinó la capacidad antioxidante del chucrut.

### A. Aislamiento y caracterización de las bacterias ácido lácticas

Las bacterias presentes en los extractos de chucrut verde y morado se sembraron en medio de cultivo M.R.S (Man, Rogosa y Sharpe) apropiado para el aislamiento y recuento de lactobacilos y otras bacterias ácido lácticas a partir de muestras de alimentos [15]. Se prepararon diluciones para cada día de la fermentación hasta la  $10^{-6}$  y se sembraron en cajas Petri, mediante la técnica de placa extendida e incubaron por 24 h a 37 °C. Las placas sembradas con la dilución  $10^{-6}$  se utilizaron para realizar la caracterización de las bacterias mediante morfología colonial y microscópica por tinción de Gram y bioquímicas (Citrato de Simmons, Indol, Kligger, TSI, MIO, LIA y SIM). Todas las pruebas se realizaron por triplicado de acuerdo a las instrucciones del fabricante (DIBICO S.A de C.V), las colonias sembradas fueron seleccionadas al azar.

### B. Cinética de crecimiento microbiano

La cinética de crecimiento microbiano se determinó considerando sus primeras tres fases (latencia, crecimiento exponencial y estacionaria) empleando una combinación entre el modelo de Malthus y el modelo de Verhulst. El modelo de Malthus establece que una población aumenta su tamaño en una tasa proporcional al número de individuos presentes en cada instante de tiempo y puede representarse de la siguiente forma:

$$\frac{dN(t)}{dt} = \mu N(t) \quad (1)$$

Donde:

$N(t)$ = concentración celular (UFC/g)

$\mu$ = constante específica de velocidad de crecimiento

$t$ = tiempo de crecimiento

Entonces (1) es una Ecuación Diferencial de Variables Separables sujeta a las condiciones  $N(0) = N_0$

Donde:

$N_0$  es la concentración celular inicial (UFC/g) en  $t = 0$

Se puede expresar la solución de la ecuación diferencial sujeta a la condición inicial como:

$$N(t) = N_0 e^{\mu t} \quad (2)$$

Aplicando  $\ln$  a (2):

$$\ln(N(t)) = \mu t + \ln(N_0) \quad (3)$$

La ecuación (3) muestra una relación lineal de una recta con pendiente  $\mu$  e intersección con el eje en  $\ln(N_0)$ . Entonces para cada tipo de chucrut se puede determinar la constante específica de velocidad de crecimiento y la concentración celular inicial (UFC/g). Al realizar la regresión lineal de los datos, se obtuvo el valor de  $\mu$  y de  $N_0$ .

El modelo de Verhulst establece que la tasa de crecimiento de la población es conjuntamente proporcional al actual nivel poblacional y a la diferencia entre el nivel actual y el máximo,  $M$ , y puede representarse como:

$$\frac{dN(t)}{dt} = kN(t)(M - N(t)) \quad (4)$$

Donde:

$N(t)$ = concentración celular (UFC/g)

$k$ = constante específica de velocidad de crecimiento

$t$ = tiempo de crecimiento

$M$ = Valor máximo sostenible de concentración celular (UFC/g)

Entonces (5) es una Ecuación Diferencial de Variables Separables sujeta a las condiciones  $N(0) = N_0$

Donde:

$N_0$  es la concentración celular inicial (UFC/g) en  $t = 0$

Se puede expresar la solución de la ecuación diferencial sujeta a la condición inicial como:

$$N(t) = \frac{MN_0}{(M - N_0)e^{-kMt} + N_0} \quad (5)$$

De modo que tenemos que  $0 < N(t) < M$

Con base a los datos obtenidos se registró que  $M \gg N_0$ , de forma que:

$$N(t) \cong N_0 e^{kMt} \quad (6)$$

Comparando (6) con (2), y en base a los resultados obtenidos en la linealización obtenemos  $\mu = kM$ .

Reescribiendo (5) con la dependencia del parámetro  $\mu$  tenemos:

$$N(t) = \frac{MN_0}{(M - N_0)e^{-\mu t} + N_0} \quad (7)$$

El modelo representado en (7) representa el tipo de crecimiento en la cinética bacteriana. Las gráficas de crecimiento bacteriano se realizaron con la calculadora gráfica de la plataforma Geogebra. Se utilizaron los valores medios y

la desviación estándar de las UFC'S obtenidos por día en las muestras de chucrut verde y morado.

### C. Evaluación de la capacidad antioxidante de chucrut verde y morado

Se evaluó y comparó la capacidad antioxidante *in vitro* de extractos de chucrut verde y morado por triplicado, 30 g de cada muestra de chucrut se sometieron a una extracción con soluciones hidroalcohólicas e hidrometanólicas al 80 % v/v cada una. Se colocaron las muestras en un agitador orbital durante 48 h, a temperatura ambiente y en ausencia de luz. Posteriormente, las mezclas se filtraron en un embudo y posteriormente el solvente se eliminó con ayuda de un rotavapor (HAHN VAPOR/ HS-2000NS). Los extractos obtenidos se almacenaron en frascos ámbar y se guardaron en un lugar fresco hasta su posterior evaluación por dos métodos. DPPH+ y ABTS. Para ambos métodos se preparó una curva de calibración de Trolox como estándar ( $y = -0.0007x + 0.7328$ ;  $R^2 = 0.998$ ) y ( $y = 0,2481x + 0.1106$ ;  $R^2 = 0.975$ ), respectivamente

### D. Actividad inhibidora del radical libre 1,1-difenil-2-picril hidracilo: DPPH

Esta técnica se realizó mediante el método de Brand-Williams *et al.* [16]. Una solución de DPPH+ (Aldrich, St. Louis, Missouri, USA) fue preparada en etanol. Para la determinación de la capacidad antioxidante, 50  $\mu$ L de la muestra y 1950  $\mu$ L de la solución de DPPH+ se mezclaron y después de 30 min de reacción, la absorbancia de la mezcla se leyó a 517 nm en un espectrofotómetro (Genesys 10). Las lecturas se llevaron a cabo por triplicado y el etanol fue utilizado como blanco (Aldrich, St. Louis, Missouri, USA), y los resultados se reportaron como la capacidad antioxidante en  $\mu$ M de equivalentes de Trolox, por g de peso fresco ( $\mu$ M equiv Trolox/g de muestra)

### E. Actividad inhibidora del radical 2,2'-azino-bis 3-etilben-zotiazolina-6 sulfonato amonio: ABTS

Para la técnica con ABTS se utilizó el método propuesto por Aubad *et al.* [17], donde el radical se genera por una reacción de oxidación del ABTS con persulfato de potasio. Se utilizaron los extractos etanólicos e hidrometanólicos de cada muestra, se tomaron 20  $\mu$ L y se mezclaron con 980  $\mu$ L de la solución de ABTS previamente preparada en una solución buffer fosfato a un pH de 7.4. Las soluciones obtenidas se incubaron en la oscuridad a temperatura ambiente durante 30 min y posteriormente se midieron sus absorbancias por triplicado a 734 nm, los resultados se expresaron como capacidad antioxidante en equivalentes de Trolox (TEAC en  $\mu$ mol Trolox/g de muestra).

### F. Análisis estadístico

Los datos obtenidos de la capacidad antioxidante de los extractos de chucrut verde y morado por los métodos DPPH y ABTS, se analizaron mediante el uso de un código de Python, que permitió determinar la media, varianza y desviación estándar [18].

## III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### A. Aislamiento y caracterización de las bacterias ácido lácticas

Las bacterias se aislaron y desarrollaron en el medio de cultivo MRS, con un crecimiento extendido a las 24 h de incubación. La morfología colonial permitió observar colonias blanquecinas y pequeñas, de forma cóncava, borde entero, superficie cremosa y con olor característico a fermento, de 0.8  $\mu$ m de diámetro en promedio. En la Fig.1, se muestran los aislados nombrados con las iniciales del laboratorio de microbiología (LM), donde fueron caracterizados. Se obtuvieron 12 cultivos, seis de cada chucrut, los cuales se caracterizaron por triplicado. De acuerdo a lo publicado por Szutowska [4], la morfología micro y macroscópica de las bacterias aisladas en este estudio, son similares a las BAL, por su capacidad de fermentar vegetales. La fermentación ácido-láctica se consigue mediante la combinación de dos factores: la concentración de sal y el descenso del pH de la salmuera, debido a la producción de ácido láctico por las bacterias fermentativas, principalmente de la familia Lactobacillaceae. La sal empleada debe contener menos del 1 % de carbonatos o bicarbonatos de sodio, calcio y magnesio, ya que estas sales pueden neutralizar el ácido producido por las bacterias. Además, las altas concentraciones de cloruro de sodio, impiden el desarrollo de microorganismos perjudiciales [19].

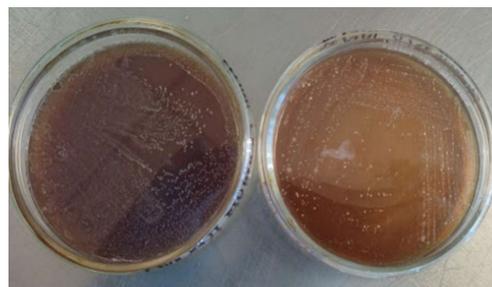


Fig. 1. Crecimiento bacteriano en medio de cultivo MRS (de izquierda a derecha chucrut verde y chucrut morado)

En la Tabla I, se observan las características de los aislados bacterianos obtenidos por morfología microscópica: Gram positivas, con forma de cocos y bacilos mayoritariamente. Se seleccionaron seis aislados para someterse a pruebas bioquímicas, LM-01 a LM-03 de chucrut verde y LM-04 a LM-06 de chucrut morado. En la Fig. 2, se observan las pruebas bioquímicas realizadas. Los resultados se presentan en la Tabla II, todos los aislados fueron negativos a las pruebas de citrato de Simmons y Urea. Los aislados LM-01, LM-05 y LM-06 fueron similares en las pruebas TSI, Kligler y MIO, los aislados LM-02 y 04 mostraron resultados parecidos en las pruebas TSI, Kligler, MIO, SIM. Los aislados LM-02, 03 y 04 tuvieron resultados similares en las pruebas, el aislado LM-03, fue diferente en las pruebas MIO y LIA, debido a la producción de ornitina y pH alcalino en la prueba LIA. Según los resultados

obtenidos, se observaron diferentes capacidades de los aislados para fermentar azúcares, producir H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y CO<sub>2</sub>, entre otros.

Los *Lactobacillus* spp. son el principal grupo de BAL y se caracterizan por generar ácido láctico como producto del metabolismo de carbohidratos, tiene una morfología de bacilos o cocabacilos, Gram positivos y no formadores de esporas. Sus requerimientos nutricionales son complejos y se encuentran principalmente en plantas o frutos, en alimentos fermentados y en el organismo de los animales [20]. En un estudio realizado por Filiberto *et al.* [21], describen que durante la fermentación del chucrut, es predominante la presencia de bacterias como *Lactobacillus plantarum* y *Pediococcus pentosaceus*. Mientras que Gezginc *et al.* [22], detectaron a *Leuconostoc mesenteroides* en la fermentación inicial del chucrut, seguido por el crecimiento de otras bacterias como: *Lactobacillus brevis*, *Pediococcus pentosaceus* y *Lactiplantibacillus plantarum*, las cuales son las responsables de la segunda fase de la fermentación y la acidez tan fuerte del chucrut producido.

TABLA I  
MORFOLOGÍA MICROSCÓPICA

Aislado bacteriano	Morfología	Gram
LM-01	Cocos	+
LM-02	Bacilos	+
LM-03	Cocos y bacilos	+
LM-04	Bacilos	+
LM-05	Bacilos	+
LM-06	Bacilos	+
LM-07	Bacilos	+
LM-08	Bacilos	+
LM-09	Bacilos	+
LM-10	Bacilos	+
LM-11	Bacilos	+
LM-12	Bacilos	+

TABLA II  
PRUEBAS BIOQUÍMICAS

Aislados	TSI (pH, formación de CO <sub>2</sub> , Glucosa, Sacarosa, Lactosa)	Kliger (Producción de gas, fermenta glucosa, fermenta lactosa)	LIA (descarboxilación, desaminación, producción de gas, H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , pH)	MIO (pH, ornitina, movilidad ad, Indol)	SIM (Movilidad, Indol, H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )
LM-01	Ácido, +, +, +	+,-,-	+,-,+,-, alcalino	Alcalino, -, -, -	-, -, -
LM-02	Alcalino, -, -, -	-, -, -	+,-,-,-, alcalino	Ácido, -, -, -	-, -, -
LM-03	Alcalino, -, -, -	-, -, -	+,-,-,-, ácido	Ácido, +, -, -	-, -, -
LM-04	Alcalino, -, -, -	-, -, -	+,-,-,-, alcalino	Ácido, -, -, -	-, -, -
LM-05	Ácido, +, +, +	+,-,-	+,-,-,+,-, alcalino	Alcalino, -, -, -	-, -, +
LM-06	Ácido, +, +, +	+,-,-	+,-,-,+,-, alcalino	Alcalino, -, -, -	-, -, +

TABLA III

PARÁMETROS OBTENIDOS EN LA CINÉTICA DE CRECIMIENTO MICROBIANO

Parámetros	Chucrut verde	Chucrut morado
Constante específica de velocidad de crecimiento $\mu$ [s <sup>-1</sup> ]	0.1945	0.1943
Concentración celular inicial $N_0$ (UFC/g)	1,850	4,800
Modelo de correjimiento bacteriano	$N(t) = 17.271e^{0.1945t}$	$N(t) = 45.807e^{0.1943t}$

### B. Cinética de crecimiento microbiano

De acuerdo a los resultados de la cinética de crecimiento, se observa un comportamiento normal de las fases de una curva de crecimiento bacteriano (adaptación, crecimiento exponencial, estacionaria y muerte). Este comportamiento está estrechamente relacionado con la cantidad de recursos presentes en un espacio delimitado, lo cual genera que una determinada población alcance un valor máximo sostenible M, conforme al tamaño de la población se aproxima a M, el crecimiento demográfico se ralentiza. Aunque las condiciones de preparación, fermentación y manejo de las muestras fue igual para ambos tipos de chucrut, de acuerdo a los datos obtenidos y siguiendo el modelo de Verhulst así como las adecuaciones del modelo de Malthus, se observó un crecimiento poblacional en ambas muestras de tipo exponencial, se encontró que la velocidad de crecimiento bacteriano de ambas muestras fue muy similar, aunque fue 1.001 veces la velocidad de crecimiento de la muestra de chucrut de morado respecto a la muestra de chucrut verde. Pese a que la velocidad de crecimiento bacteriano de ambas muestras fue similar, el desarrollo de la población bacteriana fue mayor



Fig. 2. Pruebas bioquímicas de izquierda a derecha (TSI, Kliger, LIA, citrato de Simmons, MIO, SIM, Urea)

en la muestra de chucrut morado como se puede observar en la Tabla III. El crecimiento de ambas muestras fue sostenido de igual forma con un pico máximo de UFC/ g a las 96 h de lectura, y con una disminución poblacional en ambos casos a partir de las 120 h, dando validez a la hipótesis de que en un espacio delimitado y con recursos limitados, una población es capaz de alcanzar un valor máximo sostenible y después ir en disminución como se puede observar en las Fig. 3 y 4. Ziadi *et al.* [23] estimaron mediante la siembra en agar MRS, el número de células de presuntas BAL aisladas de diferentes vegetales fermentados osciló entre  $6.3 \pm 0.02$  Log UFC/ml y  $8.7 \pm 0.03$  Log. UFC/mL. Estos hallazgos indican que la microbiota puede variar basado en varios factores, incluido el origen de las verduras, la variabilidad de las condiciones fisicoquímicas, la composición de nutrientes y los métodos de producción.

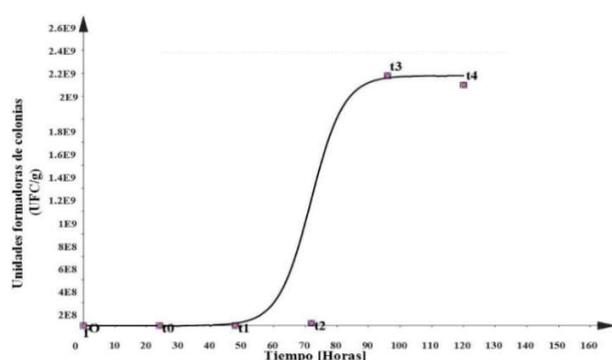


Fig. 3. Cinética de crecimiento microbiano en chucrut verde

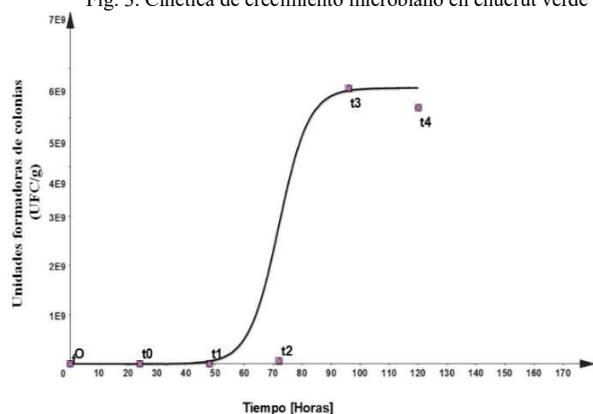


Fig. 4. Cinética de crecimiento microbiano en chucrut morado

C. Evaluación de la capacidad antioxidante de chucrut verde y morado

La capacidad antioxidante mediante los métodos DPPH y ABTS mostraron diferencias entre las muestras evaluadas. Como se observa en la Tabla IV, la actividad antioxidante analizada por el método DPPH, mostró los valores más bajos, entre  $100.98 \pm 0.81$  y  $278.65 \pm 1.22$   $\mu\text{M ET/g}$ ; mientras que por el método ABTS, los valores fueron mayores y oscilaron entre  $398.45 \pm 1.64$  y  $697.43 \pm 3.27$  de TEAC ( $\mu\text{mol/g}$ ). Al comparar los métodos de acuerdo al tipo extracto, los hidrometanólicos tuvieron la capacidad antioxidante más baja en chucrut verde utilizando ambos métodos. Sin embargo, los extractos hidroalcohólicos de chucrut morado, fueron los de capacidad antioxidante más alta, veáanse las Fig. 5 y 6.

Tabla IV  
CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS DE CHUCRUT VERDE Y MORADO POR LOS MÉTODOS DPPH Y ABTS

Extractos	Método DPPH ( $\mu\text{M}$ equivalente de Trolox (ET)/g de muestra)	Método ABTS (TEAC en $\mu\text{mol}$ Trolox/g de muestra)
Chucrut verde hidroalcohólico	$255.87 \pm 4$	$450.32 \pm 25$
Chucrut verde hidrometanólico	$100.98 \pm 0.81$	$398.45 \pm 1.64$
Chucrut morado hidroalcohólico	$278.65 \pm 1.22$	$697.43 \pm 3.27$
Chucrut morado hidrometanólico	$105.67 \pm 1.22$	$512.98 \pm 0.47$

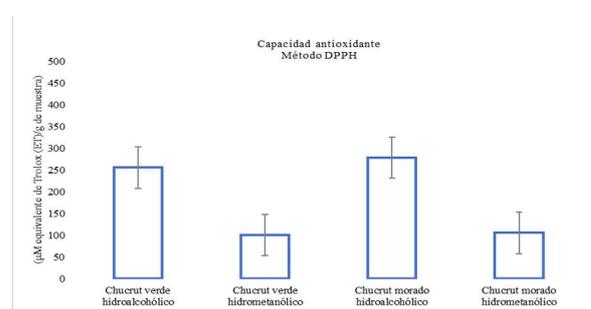


Fig. 5. Determinación de la capacidad antioxidante en chucrut verde y morado por el método DPPH

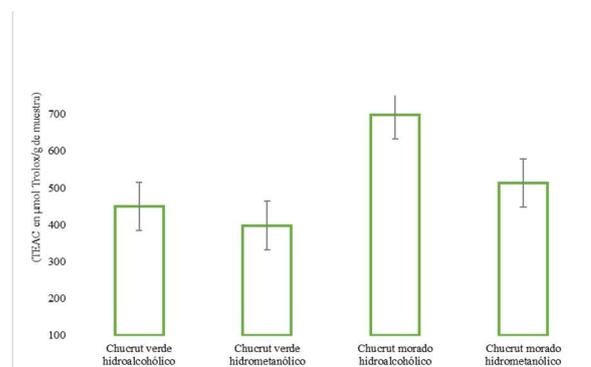


Fig. 6. Determinación de la capacidad antioxidante en chucrut verde y morado por el método ABTS

Las diferencias encontradas en los resultados de capacidad antioxidante entre los dos ensayos de captura de radicales libres DPPH y ABTS empleados pueden deberse a diversas razones. En términos de tiempo de corrida, los extractos reaccionan lentamente con el radical DPPH, el cual necesita 30 min para alcanzar su estado estacionario lo cual lo pone en desventaja con el radical catión ABTS, el cual alcanza su estado estacionario rápidamente [24]. Aunque ambos ensayos miden la capacidad de los antioxidantes presentes en una muestra para capturar el radical libre, la estequiometría y mecanismo de reacción son muy distintos, el ABTS puede ser disuelto en un medio orgánico u acuoso y en ambos puede medirse su actividad antioxidante teniendo en cuenta la naturaleza hidrofílica o lipofílica de los compuestos en la muestra [25]. Contrario a esto, el DPPH solo puede medirse en un medio orgánico, lo cual es un limitante para la interpretación de la capacidad antioxidante de los

compuestos hidrofílicos evaluados [26] y podría ser una razón entre el potencial de captura.

Existen diversos métodos analíticos que se usan para determinar la actividad antioxidante y llegan a diferir entre sí, dando diversos resultados. Por lo cual es importante considerar condiciones como: las fuentes de oxidación, interacciones entre las diferentes especies oxidantes. Recurrir a una combinación de métodos puede ayudar a la evaluación correcta de la capacidad antioxidante [27]. La fuente de antioxidantes es otro factor importante que considerar. La col morada es una hortaliza que en cuanto a su composición química presenta un 91 % de agua, 4 % de carbohidratos, 1% de fibra, 2.6 % de proteína y 1% de lípidos. También posee compuestos bioactivos en donde los antioxidantes hidrofílicos son responsables de más del 89 % de la capacidad antioxidante total [28-29]. Adebo y Medina [30], describen que durante el proceso de fermentación con bacterias ácido-lácticas, algunos compuestos pueden ser descarboxilados o reducidos por acción del ácido fenólico reductasa o por el ácido gálico descarboxilasa, impactando en la formación de nuevos compuestos. Este incremento puede ser atribuido a que algunas bacterias ácido-lácticas pueden metabolizar compuestos fenólicos glicosilados y liberarlos.

Piasek *et al.* [31] informó que los antioxidantes hidrofílicos en hortalizas del género Brassica son responsables de más del 89 % de la capacidad antioxidante total. Los extractos ricos en antocianinas han demostrado poseer una variedad de funciones terapéuticas, incluyendo propiedades antioxidantes, cardioprotectoras y hepatoprotectoras [6], [32]. De acuerdo a lo reportado por Dimidi *et al.* [8], el chucrut contiene compuestos antioxidantes como el kaempferol, glucosinolatos, isotiocianatos, entre otros. Estos fitoquímicos tienen actividades de eliminación de radicales, proteger del daño oxidativo, propiedades antimicrobianas.

#### IV. CONCLUSIONES

Esta investigación, mostró resultados importantes en cuanto a las bacterias presentes en la fermentación de col verde y morada; así como las diferencias entre los métodos para la evaluación de la capacidad antioxidante. Esto sugiere realizar una identificación molecular de las cepas bacterianas en diferentes fases de la fermentación, así como una serie de pruebas de resistencia para determinar la capacidad de las BAL contra microorganismos patógenos y la estandarización de un método para la determinar la capacidad antioxidante y de diversos compuestos bioactivos en el chucrut.

#### REFERENCIAS

- [1] Bautista-Gallego J, Medina E, Sánchez B, Benítez-Cabello A, Arroyo-López FN. (2020). Role of lactic acid bacteria in fermented vegetables. *Grasas Aceites* 71 (2), 358. doi.org/10.3989/gya.0344191
- [2] Santander-Cortés, A. I., & Castro-Rosas, J. (2024). Aislamiento de bacterias ácido lácticas con potencial probiótico de alimentos fermentados típicos de México: una revisión. *Pädi Boletín Científico de Ciencias Básicas e Ingenierías del ICBI*. 11(22),59-68. doi.org/10.29057/icbi.v11i22.11072
- [3] Ziadi, M, Bouzaiene, T, Lakkhal, S, Zaafouri, K, Massoudi, S, Dousset, X, & Hamdi, M. (2019). "Screening of lactic starter from Tunisian fermented vegetables and application for the improvement of caper (*Capparis spinosa*) fermentation through an experimental factorial design" *Annals of microbiology*, 69(13), 1373-1385. doi.org/10.1007/s13213-019-01519-x
- [4] Szutowka, J. (2020). Functional properties of lactic acid bacteria in fermented fruit and vegetable juices: a systematic literature review. *European Food Research and Technology*, 246(3), 357-372, https://doi.org/10.1007/s00217-019-03425-7
- [5] Zapašnik, A., Sokołowska, B., & Bryła, M. (2022). Role of Lactic Acid Bacteria in Food Preservation and Safety. *Foods*, 11(9), 1283. https://doi.org/doi.org/10.3390/foods11091283
- [6] De, Z. M. V., & De los Alimentos, M. U. E. S. y. C. (2021). Microbiología de las hortalizas fermentadas y beneficios de la fermentación. Universidad de la Laguna <http://riull.uill.es/xmlui/handle/915/23243>
- [7] Al-Shawi, S. G., Swadi, W. A., & Hussein, A. A. (2019). Production of Probiotic (Turshi) Pickled Vegetables. *Journal Of Pure And Applied Microbiology*, 13(4), 2287-2293. https://doi.org/10.22207/jpam.13.4.43
- [8] Dimidi, E., Cox, S. R., Rossi, M., & Whelan, K. (2019). Fermented Foods: Definitions and Characteristics, Impact on the Gut Microbiota and Effects on Gastrointestinal Health and Disease. *Nutrients*, 11(8), 1806. https://doi.org/10.3390/nu11081806
- [9] Tomala González, J. L. J. L. (2020). Diseño y validación de mercado de un producto vegetariano con ingredientes funcionales para el sistema inmunológico. <https://repositorio.earth.ac.cr/handle/UEARTH/159>
- [10] Thakur, P. K., Panja, P., Kabir, J., & Dhua, R. S. (2020). Studies on shelf life of sauerkraut. *Journal Of Crop And Weed*, 16(2), 204-209. https://doi.org/10.22271/09746315.2020.v16.i2.1338
- [11] Al-Shawi, S. G., Swadi, W. A., & Hussein, A. A. (2019b). Production of Probiotic (Turshi) Pickled Vegetables. *Journal Of Pure And Applied Microbiology*, 13(4), 2287-2293. https://doi.org/10.22207/jpam.13.4.43
- [12] Guajardo, B.C., Beltrán R. J.C., Nava, T.A.D., Elías, S.M., Foroughbakhch. P. R. (2024). Desarrollo biotecnológico para la producción de probióticos viables de chucrut a escala industrial. *Ciencia UANL* 27(125), pp: 29-34. https://doi.org/10.29105/cienciauanl27.125-4
- [13] Ngcamu, S. P. (2023). The effects of Sauerkraut on human health, nutrition, and food security: A review of the literature. <https://scholar.sun.ac.za/server/api/core/bitstreams/0f15cc7a-b423-4a13-8e8f-658eb5286824/content>
- [14] Rodríguez, V., & Zumba, D. (2021). Influencia de tres variedades de col (Brassica oleracea) en la elaboración de chucrut. *Ecuadorian Science Journal*, 5(3), 99-111. https://doi.org/10.46480/esj.5.3.147
- [15] De Man, J. C., Rogosa, M., & Sharpe, M. E. (1960). A medium for the cultivation of lactobacilli. *Journal Of Applied Bacteriology*, 23(1), 130-135. https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1960.tb00188.x
- [16] Williams, W., Cuvelier, M.E. & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28 (1), 25-30. https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5
- [17] Aubad, L. P., Rojano, B. A., Lobo, E. T. (2007) Actividad antioxidante en musgos. *Scientia Et Technica*, 33 (33), 23-26
- [18] Van Rossum, G., & Drake Jr, F. L. (1995). *Python reference manual*. Centrum voor Wiskunde en Informatica Amsterdam.
- [19] Marteau, P., & Boutron-Ruault, M. C. (2002). Nutritional advantages of probiotics and prebiotics. *British Journal Of Nutrition*, 87(S2), S153-S157. https://doi.org/10.1079/bjn2002531
- [20] Rodríguez-López CM, Guzmán-Beltrán AM, Lara-Morales MC, Castillo E, Brandão PFB. Aislamiento e identificación de *Lactobacillus* spp. (lactobacillaceae) resistentes a Cd(II) y As(III) recuperados de fermento de cacao. *Acta Biol Colomb*. 2021;26(1):19-29. Doi: <http://dx.doi.org/10.15446/abc.v26n1.83677>
- [21] Filiberto, E., Aranda, S., Toledano, M., Morales, J., Pérez, J. (2016). Elaboración de Col Fermentada (Chucrut). *Consejería de Agricultura Pesca y Desarrollo Rural, Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera. Junta de Andalucía*. <https://www.juntadeandalucia.es/agriculturaypesca/ifapa/servifapa/registroservifapa/bd545e15-9383-4aae-9fbc-0f12bd6b4572>
- [22] Gezgin, Y., Topcal, F., Comertpay, S. and Akyol, I., 2015. Quantitative analysis of the lactic acid and acetaldehyde produced by *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* strains isolated from traditional Turkish yogurts using HPLC. *Journal of Dairy Science* 98: 1426-1434.
- [23] Ziadi, M., Bouzaiene, T., Lakkhal, S., Zaafouri, K., Massoudi, S., Dousset, X., & Hamdi, M. (2019b). Screening of lactic starter from Tunisian fermented vegetables and application for the improvement of caper (*Capparis spinosa*) fermentation through an experimental factorial design. *Annals Of Microbiology*, 69(13), 1373-1385. https://doi.org/10.1007/s13213-019-01519-x
- [24] Mathew, A. P., Oksman, K., & Sain, M. (2005). Mechanical properties of

- biodegradable composites from poly lactic acid (PLA) and microcrystalline cellulose (MCC). *Journal Of Applied Polymer Science*, 97(5), 2014-2025. <https://doi.org/10.1002/app.21779>
- [25] Wojdylo A., Oszmiański J., Czemerzys R. (2007). Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry*; 105: 940–949
- [26] Surveswaran S., Cai Y-Z., Corke H, Sun M. (2007). Systematic evaluation of natural phenolic antioxidants from 133 Indian medicinal plants. *Food Chemistry*; 102: 938–953.
- [27] Vázquez-García J.A., Piloni-Martini J, Quintero-Lira A., Soto-Simental S., Ocampo-López j. Evaluación fisicoquímica de harina de col morada (*Brassica oleracea* var. capitata f. rubra) para usos alternos. *Inv. y Des. en Ciencia y Tec. de Alimentos* 8 (2023) 2023 222-229
- [28] Rodríguez-Basantes, A. I., Esparza-Bonilla, C. J., & Huacho-Chávez, I. F. (2019). Obtención de antocianinas de la *Brassica oleracea* var. *Capitata* para el uso en alimentos. *Dominio De Las Ciencias*, 5(1), 652–666. <https://doi.org/10.23857/dc.v5i1.1067>
- [29] Yoshida K., Mori M. y Kondo T. Blue flower color development by anthocyanins: from chemical structure to cell physiology. *Natural Products Report*, 26: (2009). 884-915
- [30] Adebo, O. A., & Medina-Meza, I. G. (2020). Impact of Fermentation on the Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Whole Cereal Grains: A Mini Review. *Molecules/Molecules Online/Molecules Annual*, 25(4), 927. . <https://doi.org/10.3390/molecules25040927>
- [31] Kusznierevicz, B., Lewandowska, J., Kruszyna, A., Piasek, A., Śmiechowska, A., Namieśnik, J., & Bartoszek, A. (2010). The antioxidative properties of white cabbage (*Brassica oleracea* var. capitata f. alba) fresh and submitted to culinary processing. *Journal of food biochemistry*, 34 262-285: . <https://10.1111/j.1745-4514.2009.00329.x>
- [32] Onyesom, I., Mordī, J., Opajobi, A., & Esume, C. (2008). Hepatoprotective Potentials Of *Hibiscus rosasinensis* Petal anthocyanin Extracts Against Carbon tetrachloride-Induced Acute Liver Damage in Wistar Rats. *Sudan Journal Of Medical Sciences*, 3(1). <https://doi.org/10.4314/sjms.v3i1.38509>