



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



INSTITUTO DE INGENIERÍA DE
ALIMENTOS PARA EL DESARROLLO

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos
(FoodUPV)

Uso de ultrasonidos para la caracterización de propiedades
texturales durante la digestión gástrica in vitro

Trabajo Fin de Máster

Máster Universitario en Ciencia e Ingeniería de los Alimentos

AUTOR/A: Yuquilema Alvarado, Bryan Israel

Tutor/a: García Pérez, José Vicente

Cotutor/a externo: DALMAU ESTELRICH, MARIA ESPERANZA

Director/a Experimental: GIACOMOZZI, ANABELLA SOLEDAD

CURSO ACADÉMICO: 2022/2023

USO DE ULTRASONIDOS PARA LA CARACTERIZACIÓN DE PROPIEDADES TEXTURALES DURANTE LA DIGESTIÓN GÁSTRICA IN VITRO

Bryan Yuquilema Alvarado, Anabella Soledad Giacomozzi, María Esperança Dalmau Estelrich, José Vicente García Pérez ¹

RESUMEN:

Uno de los fenómenos más relevantes que ocurre en los alimentos sólidos durante la digestión gástrica es el ablandamiento como consecuencia de la penetración del líquido gástrico. Así, en vistas al diseño de alimentos con propiedades mejoradas relacionadas con la bioaccesibilidad de sus nutrientes, el uso de técnicas no destructivas que permitan monitorizar los cambios texturales durante la digestión in-vitro de forma sencilla, rápida y con bajo coste resulta interesante. Otro aspecto relevante en la búsqueda de tecnologías alternativas de análisis es que sean robustas y que presenten baja variabilidad experimental evitando la incertidumbre asociada a la heterogeneidad de los alimentos. Así, el presente trabajo tiene como objetivo evaluar el uso de ultrasonidos para determinar los cambios de textura durante la digestión in vitro de queso y patata. Las muestras cortadas en láminas de 1 cm de espesor se sometieron a digestión in-vitro a 37 °C durante 5, 10, 15, 20, 25, 30, 60, 90 y 120 minutos. Finalizada la digestión, se determinó la dureza como la fuerza máxima registrada en un ensayo instrumental de compresión-penetración. Por otro lado, las medidas ultrasónicas se realizaron directamente en el recipiente en el que se llevó a cabo la digestión sin necesidad de quitar la muestra de éste. Se realizaron medidas ultrasónicas a 10 y 100 MHz, y se estimó la velocidad ultrasónica de la muestra. Los resultados mostraron que la velocidad ultrasónica se incrementó significativamente ($p < 0.05$) a medida que el tiempo de digestión aumentó. En el queso, se observó un comportamiento particular a partir del tiempo de 60 min, disminuyendo la velocidad de forma abrupta debido a la liberación de la grasa. Así, se encontraron correlaciones lineales significativas ($p < 0.05$) entre las variaciones de dureza y las variaciones de velocidad. Por último, cabe destacar que la variabilidad experimental en las medidas ultrasónicas fue mucho menor que las instrumentales de textura para el caso de la patata.

PALABRAS CLAVE: Digestión gástrica in vitro, Monitorización, Análisis no destructivo, Ultrasonidos, Textura, Difusión

ABSTRACT

One of the most relevant phenomena occurring in solid foods during gastric digestion is softening because of gastric liquid penetration. Thus, in view of the design of foods with improved properties related to the bioaccessibility of their nutrients, the use of non-destructive techniques that allow monitoring textural changes during in-vitro digestion in a simple, fast and low-cost way is of interest. Another relevant aspect in the search for alternative analysis technologies is that they should be robust and have low experimental variability, avoiding the uncertainty associated with food heterogeneity. Thus,

the present work aims to evaluate the use of ultrasound to determine texture changes during in vitro digestion of cheese and potato. Samples cut into 1 cm thick slices were subjected to in-vitro digestion at 37 °C for 5, 10, 15, 15, 20, 25, 30, 60, 90 and 120 minutes. After digestion, hardness was determined as the maximum force recorded in an instrumental compression-penetration test. On the other hand, ultrasonic measurements were performed directly in the vessel in which the digestion was carried out without the need to remove the sample from the vessel. Ultrasonic measurements were performed at 10 and 100 MHz, and the ultrasonic velocity of the sample was estimated. The results showed that the ultrasonic velocity increased significantly ($p < 0.05$) as the digestion time increased. In cheese, a particular behavior was observed from the time of 60 min onwards, decreasing the velocity abruptly due to the release of fat. Thus, significant linear correlations ($p < 0.05$) were found between variations in hardness and variations in velocity. Finally, it should be noted that the experimental variability in the ultrasonic measurements was much lower than the instrumental ones of texture for the case of potato.

KEY WORDS: In vitro gastric digestion, Monitoring, Non-destructive analysis, Ultrasound, Texture, Diffusion.

RESUM:

Un dels fenòmens més rellevants que ocorre en els aliments sòlids durant la digestió gàstrica és l'ablandiment com a conseqüència de la penetració del líquid gàstric. Així, en vista del disseny d'aliments amb propietats millorades relacionades amb la bioaccessibilitat dels seus nutrients, l'ús de tècniques no destructives que permetin monitoritzar els canvis texturals durant la digestió in vitro de manera senzilla, ràpida i amb baix cost resulta interessant. Un altre aspecte rellevant en la cerca de tecnologies alternatives d'anàlisi és que siguin robustes i presentin baixa variabilitat experimental, evitant la incertesa associada a la heterogeneïtat dels aliments. Així, el present treball té com a objectiu avaluar l'ús d'ultrasons per a determinar els canvis de textura durant la digestió in vitro de formatge i patata. Les mostres tallades en làmines de 1 cm d'ample es van sotmetre a digestió in vitro a 37 °C durant 5, 10, 15, 20, 25, 30, 60, 90 i 120 minuts. Finalitzada la digestió, es va determinar la duresa com la força màxima registrada en un assaig instrumental de compressió-penetració. D'altra banda, les mesures ultrasòniques es van realitzar directament en el recipient en el qual es va dur a terme la digestió sense necessitat de llevar la mostra d'aquest. Es van realitzar mesures ultrasòniques a 10 i 100 MHz, i es va estimar la velocitat ultrasònica de la mostra. Els resultats van mostrar que la velocitat ultrasònica es va incrementar significativament ($p < 0.05$) a mesura que el temps de digestió augmentava. En el formatge, es va observar un comportament particular a partir del temps de 60 minuts, disminuint la velocitat de forma abrupta a causa de la lliberació de la greix. Així, es van trobar correlacions lineals significatives ($p < 0.05$) entre les variacions de duresa i les variacions de velocitat. Finalment, cal destacar que la variabilitat experimental en les mesures ultrasòniques va ser molt menor que les instrumentals de textura per al cas de la patata.

PARAULES CLAU: Digestió gàstrica in vitro, Monitorització, Anàlisi no destructiu, Ultrasons, Textura, Difusió.

1. INTRODUCCIÓN

Los alimentos son la fuente de energía, vitaminas, minerales y otras sustancias necesarias para los seres vivos, es así como los alimentos ya sean naturales o procesados están hechos para satisfacer las necesidades cambiantes de los consumidores. Estas necesidades han permitido el desarrollo del diseño de alimentos modificando sus características (textura, aroma, sabor, color y forma) y su procesado, por lo que es importante determinar los cambios fisicoquímicos que ocurren con cada uno de ellos principalmente con la textura. Los cambios texturales influyen en la digestión de los alimentos principalmente en la etapa gástrica, esto debido a que, según Nadia et al. (2022) esta etapa es importante para la descomposición física de los alimentos sólidos, además, de que en esta se produce un ablandamiento de estos y liberación de sus nutrientes. Así, de cara a diseñar alimentos con propiedades mejoradas y mejor bioaccesibilidad, se necesitan técnicas que permitan la monitorización del proceso, no-destructivas y de menor variabilidad que la textura instrumental.

Uno de los ensayos más utilizado para determinar las propiedades texturales es el de penetración, el cual permite medir la firmeza o consistencia de un producto (Blázquez & Díaz, 2008), como lo realizaron Alvis et al. (2011) en el caso del chocolate y Lis et al. (2021) en la mantequilla. El mayor inconveniente de este tipo de análisis es que implica la destrucción de la muestra, ya que, al realizar la penetración se genera daño o rotura del producto, impidiendo de esta forma su reutilización. En este contexto, la industria agroalimentaria busca continuamente nuevas tecnologías de análisis que sean reproducibles, comparables y que además no conlleven la destrucción de las muestras. Estos aspectos son esenciales en el análisis preliminar que se realiza en el diseño de alimentos que busquen mejorar la bioaccesibilidad de los compuestos de interés.

Los ultrasonidos pueden considerarse como una alternativa prometedora a otras técnicas de caracterización no invasiva y no destructiva considerando su coste moderado. Los ultrasonidos aplicados a baja potencia permiten la monitorización de un proceso sin comprometer la integridad del producto analizado (Mason et al., 2015). La técnica ultrasónica es sencilla y se basa en la generación de una onda de baja intensidad, a frecuencias generalmente superiores a 100 kHz, que se propaga por el interior de un material, de manera que la propagación de la onda es únicamente dependiente de las propiedades mecánicas del medio (Awad et al., 2012). Así, aquellas propiedades fisicoquímicas que afectan a las propiedades mecánicas del alimento son susceptibles de ser medidas con esta tecnología.

En la industria cárnica, los ultrasonidos se han empleado para determinar diferentes propiedades tecnológicas (Ureta et al., 2017), monitorizar el salado de la carne de cerdo (De Prados Pedraza, 2013), la pastosidad de jamón curado (Cervera, 2015) o evaluar la composición de mezclas de carne curada (Benedito et al, 2001).

En la industria láctea, los ultrasonidos se utilizaron para determinar su efecto al aplicarlos al suero de leche previo al calentamiento en la elaboración de requesón (Ramírez Rivas & Chávez Martínez, 2017), estudiar la evolución

del proceso de maduración de quesos (Benedito et al., 2000), estudiar la gelificación de los componentes de la leche (Corredig et al., 2004), caracterizar productos lácteos (Dukhin et al., 2005).

En la industria agroalimentaria, en las frutas y verduras, las aplicaciones de las técnicas ultrasónicas se han empleado para determinar las propiedades texturales de frutas y verduras (Yildiz et al., 2019), evaluar la calidad de frutas y hortalizas frescas (Mizrach, 2008), evaluar los cambios texturales del aguacate durante la maduración (Fariñas et al., 2021).

Teniendo en cuenta lo expuesto anteriormente, el objetivo de este trabajo fue evaluar la viabilidad del uso de ultrasonidos para la caracterización de propiedades texturales durante la digestión gástrica *in vitro* de alimentos. A nuestro conocimiento, no existen referencias previas del uso de esta tecnología para la monitorización de la digestión *in-vitro*.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Materiales

2.1.1. MATERIA PRIMA

La materia prima objeto de estudio de este trabajo fue el queso cheddar curado y patata (var. *Soprano*). Esta materia prima fue adquirida en mercados locales en Valencia (España) y conservada a 4.0 ± 0.5 °C.

El procedimiento de acondicionamiento de la materia prima incluyó el corte para obtener una lámina de 1 cm de espesor y posteriormente se cortaron en forma rectangular de 4.5 cm de largo y 3.5 cm de ancho. Previamente al inicio del proceso de digestión gástrica las muestras se atemperaron a 37°C, temperatura a la que tiene lugar dicha digestión.

2.1.2. REACTIVOS

Los reactivos utilizados para este trabajo fueron los siguientes:

- CaCl_2 (Panreac, n.º de cat. 141221)
- KCl (Labkem, n.º de cat. POCL-00A-1K0)
- KH_2PO_4 (Panreac, n.º de cat. 131509)
- NaHCO_3 (Labkem, n.º de cat. SOHC-00P-1K0)
- NaCl (Sigma, n.º de cat. S9888)
- $\text{MgCl}_2(\text{H}_2\text{O})_6$ (Fisher, n.º de cat. BP214-500)
- $\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ (Fisher, n.º de cat. 10085303)
- NaOH (Labkem, n.º de cat. SOHY-P0T-1K0)
- HCl (Sigma, n.º de cat. 4102233408)
- Pepsina gástrica de cerdo (Sigma, n.º de cat. 1003486260)

2.2. Digestión gástrica *in vitro*

Para llevar a cabo, la simulación de la digestión gástrica *in vitro*, se siguió el protocolo estandarizado INFOGEST (Brodkorb et al., 2019).

En primer lugar, se prepararon las disoluciones electrolíticas (TABLA 1) para la obtención del fluido gástrico simulado (SGF) (TABLA 2).

TABLA 1. Disoluciones electrolíticas.

Compuestos	Concentración (mol/L)
CaCl ₂ (H ₂ O) ₂	0.3
KCl	0.5
KH ₂ PO ₄	0.5
NaHCO ₃	1.0
NaCl	2.0
MgCl ₂ (H ₂ O) ₆	0.15
(NH ₄) ₂ CO ₃	0.5
NaOH	1.0
HCl	1.0

TABLA 2. Composición del fluido gástrico.

Compuestos	Concentración (mol/L)
KCl	6.9
KH ₂ PO ₄	0.9
NaHCO ₃	25
NaCl	47.2
MgCl ₂ (H ₂ O) ₆	0.12
(NH ₄) ₂ CO ₃	0.5
HCl	15.6

2.2.1. ETAPA GÁSTRICA

Para la simulación de la fase gástrica se preparó el fluido como se indica a continuación. En primer lugar, se mezclaron 75 ml de SGF con 4.96 ml de agua y 20 ml de la solución de pepsina. Esta solución se preparó con 1 g de pepsina porcina en 20 ml de agua destilada. Finalmente se ajustó el fluido a un pH de 3 con la ayuda de una disolución de HCl.

El fluido se atemperó en una estufa a 37°C al igual que las muestras que se analizaron (queso y patata). El proceso de digestión gástrica tuvo una duración de 2h y se tomaron muestras a distintos tiempos (0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 60, 90 y 120 minutos), tanto para el análisis de textura como para las señales ultrasónicas. La digestión se realizó en un recipiente de metacrilato que quedó sumergido en un baño a 37 °C, tal y como se muestra en la Figura 3.2. Las digestiones de cada una de las muestras se realizaron por triplicado.

2.3. Sistema de ultrasonidos

2.3.1. MONTAJE EXPERIMENTAL

Las medidas de los ultrasonidos se realizaron a 10 tiempos distintos (sección 2.2.1.) y por triplicado, estas se llevaron a cabo utilizando un montaje experimental realizado por el Departamento de Tecnología de Alimentos de la Universitat Politècnica de València, el cual consta de 6 elementos principales

(FIGURA 3.1). El brazo deslizante (1) permite colocar el transductor emisor a la altura deseada. Por otra parte, el transductor receptor se encuentra colocado de manera fija en la superficie de medida (2) y el transductor emisor se encuentra acoplado al brazo deslizante (3). Ambos transductores deben de estar perfectamente enfrentados. Así, el recipiente donde se lleva a cabo la digestión (Figura 3.2) se coloca entre ambos transductores, se sumerge el transductor unos milímetros en la superficie del líquido para realizar la medida. Así, la señal eléctrica que emite el generador (4) se convierte en una onda mecánica por el transductor emisor (3) que atraviesa el líquido, se propaga a través de la muestra, vuelve al líquido y, por último, atraviesa la pared de metacrilato del recipiente (Figura 3.2) y es recogida por transductor receptor, que la convierte en una señal eléctrica proporcional a la amplitud de la señal mecánica. La señal es acondicionada por el generador (4) y digitalizada por el osciloscopio (5), que está conectado a un PC (6) para su almacenamiento y análisis mediante diversas aplicaciones realizadas en LabVIEW™ 2021 (National Instruments).

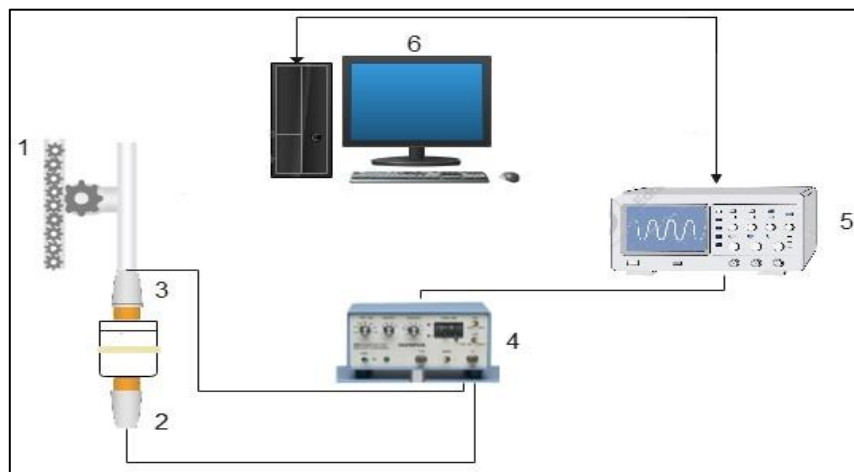


FIGURA 3.1. Diagrama del montaje de ultrasonidos de señal

La configuración de los transductores ultrasónicos es la siguiente:

- Transductores (A 314S, Panametrics): se utilizaron dos transductores cuya banda estrecha es de 1 MHz.
- Generador – Receptor (5057PR Square Wave Pulsar/Receiver, Olympus): encargado de generar el pulso eléctrico para excitar al transductor receptor a 400 V, un ancho de pulso ajustado a 1 MHz, una frecuencia de pulso de 200 Hz, una ganancia de -20 dB en el queso y 49 dB.
- Osciloscopio (MDO3024 Mixed Domain Oscilloscope, Tektronix). Se realizaron medidas a 10 y 100 MS/s, almacenando 10 k puntos, promediando 128 señales y con la señal de trigger (umbral de 200 mV) colocada al 10%.
- Brazo deslizante constituido por un calibre digital (192-18, Mitutoyo) que permite conocer la separación entre los transductores.

2.3.2. ANÁLISIS DE LA SEÑAL ULTRASÓNICA

Las medidas ultrasónicas se realizaron para todos los productos mencionados en el apartado 2.1. En la Figura 3.2., se muestra un esquema del método llevado a cabo durante la medida. Así, el recipiente en el que se lleva a cabo la digestión se coloca y se sumerge el transductor emisor unos milímetros en el jugo gástrico de manera que la distancia al otro transductor fue fija y de 69.5 mm. Se realizaron medidas solo con jugo gástrico y con la muestra.

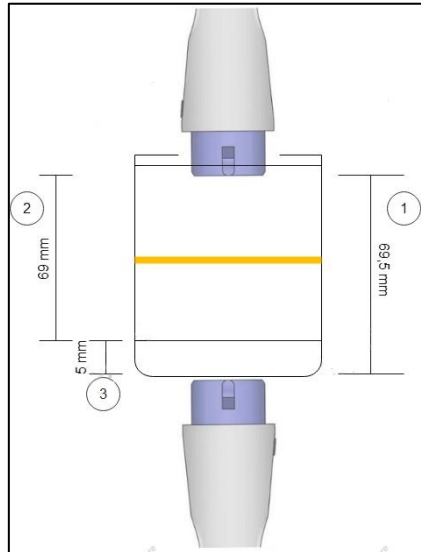


FIGURA 3.2. Detalle del montaje experimental y la colocación del recipiente de digestión para la medida. 1. Distancia entre transductores, 2. Altura de líquido gástrico (o líquido gástrico y patata), 3. Espesor de la pared de metacrilato. La línea naranja hace referencia a la muestra de espesor 10 mm.

El análisis de los parámetros ultrasónicos es complejo ya que la onda en su tránsito entre ambos transductores se propaga por diferentes medios. En las medidas donde únicamente se coloca jugo gástrico, la velocidad de la onda ultrasónica se puede calcular con la ecuación (1) que considera la propagación por el jugo gástrico y el metacrilato. Mientras que si se coloca la muestra la velocidad pasaría a calcularse con la ecuación 2. Finalmente, la velocidad ultrasónica de la onda (V) en la muestra se calculó de acuerdo con la ecuación (4), tomando en cuenta el espesor de la muestra y el tiempo de la variación del tiempo de vuelo, calculado mediante el método del umbral de energía.

$$V = \frac{h_T}{TOF_{SM}} = \frac{h_T}{\frac{h_L}{V_L} + \frac{h_{met}}{V_{met}}} \quad (1)$$

$$V = \frac{h_T}{TOF_{CM}} = \frac{h_T}{\frac{h_L}{V_L} + \frac{h_{met}}{V_{met}} + \frac{L_m}{V_m}} \quad (2)$$

donde: V = velocidad total de la onda (m/s); h_T = altura total (m); h_L = altura del líquido (m); h_{met} = altura del metacrilato (m); V_L = velocidad de la onda en el líquido (m/s), V_m = velocidad de la onda en la muestra (m/s); L_m = espesor

de la muestra; y V_{met} = velocidad de onda en el metacrilato (m/s). TOF hace referencia al tiempo de vuelo de la onda ultrasónica que se calculó por el método del umbral de energía (Garcia-Perez et al., 2019) considerando un umbral superior de un 25% superior al ruido eléctrico máximo y un umbral inferior de 0.75 veces el ruido máximo, mientras los subíndices SM y CM hacen referencia a las medidas con muestra y sin muestra. La velocidad del metacrilato se calculó utilizando un cilindro de 30 mm de espesor y calculando la velocidad de propagación (2496 m/s)

A partir del cálculo de la variación del tiempo de vuelo (entre las medidas con y sin muestra (Ecuación 3), y el cálculo de la velocidad en el jugo gástrico (Ecuación 1) se puede calcular la velocidad en la muestra utilizando la ecuación 4.

$$\Delta TOF = TOF_{CM} - TOF_{SM} \quad (3)$$

$$V_m = \frac{L_m}{\Delta TOF + \frac{L_m}{V_L}} \quad (4)$$

donde: ΔTOF = variación del tiempo de vuelo (μs).

Las medidas de velocidad se realizaron con las señales adquiridas a 100 Ms/s. Las medidas a 10 Ms/s se utilizaron para determinar parámetros relacionados con la energía, como la amplitud, integral y norma. No se muestra dicha información en el presente documento ya que no se observó una tendencia clara de estos parámetros ultrasónicos durante la digestión.

2.4. Medidas de textura

Se realizaron 10 análisis de textura tomando 5 datos de fuerza por cada análisis, esto por triplicado tanto para muestras en fresco como en solución de fluido gástrico con una sonda de 2 mm de diámetro (P/2N, Stable Micro Systems). Para realizar los ensayos de textura se utilizó un texturometro (TA-XT2i Texture Analyser, Aname). Los ensayos consistieron en la compresión de la muestra a una velocidad de 0.5 mm/s hasta una deformación del 40%. Este tipo de ensayo puede considerarse como un ensayo mixto de compresión-penetración. Al inicio del ensayo la sonda comprime la muestra, pero finalmente, penetra en el producto. Así, se midió la variación de la fuerza máxima, tanto en la patata en fluido gástrico como en fresco a los tiempos de digestión mencionados en la sección 2.2.1, de igual forma se realizó con el queso, con el objetivo de evaluar su dureza.

2.5. Análisis estadístico

La influencia del tiempo de digestión y el tipo de alimento en los parámetros tanto texturales como ultrasónicos se evaluó estadísticamente utilizando el análisis de varianza (ANOVA).

Además, los parámetros ultrasónicos y texturales también se correlacionaron. Los residuos se analizaron para verificar su distribución aleatoria y normal.

En todos los casos, el análisis estadístico se llevó a cabo utilizando Statgraphics Centurion XVII (Statgraphics Technologies Inc., VA, USA) considerando un nivel de significancia del 95%.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Variación de la velocidad de ultrasonidos durante la digestión

La velocidad con la que los ultrasonidos atraviesan la muestra analizada fue el parámetro ultrasónico evaluado durante la digestión in vitro, ya que en otros parámetros tales como la amplitud de señal o la integral no se observaron diferencias significativas en los diferentes tiempos de digestión evaluados, como se ha comentado con anterioridad.

A partir de la ecuación (2), y del valor medido de TOF_{sm} ($45.03\mu s$), se determinó el valor de la velocidad ultrasónica en el líquido (fluido gástrico), siendo esta de $V_L=1526$ m/s.

3.1.1. DIGESTIÓN IN-VITRO DE PATATA

En la FIGURA 3.1 se muestra un ejemplo de las señales ultrasónicas tomadas en el recipiente de digestión con patata fresca y patata después de 120 minutos de digestión.

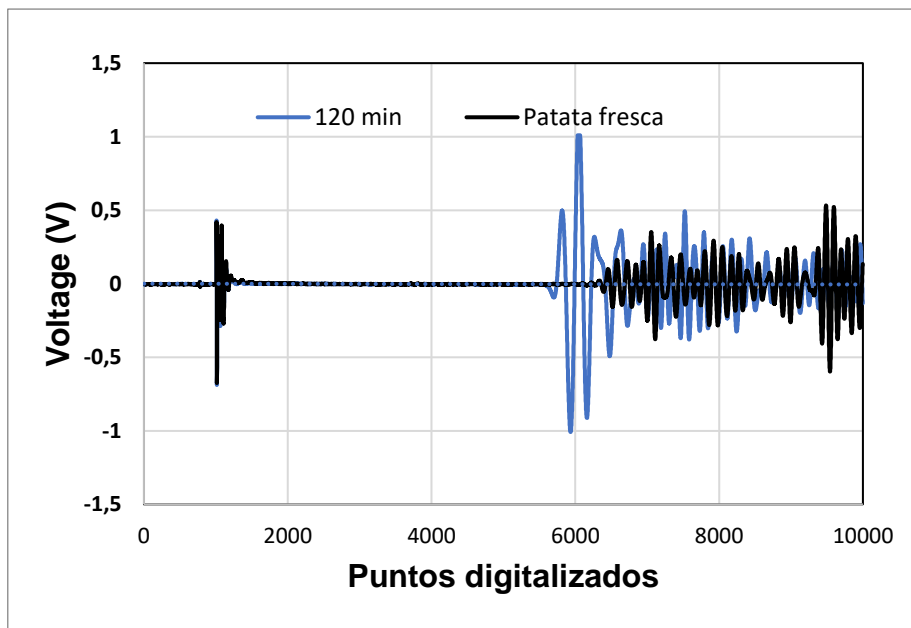


FIGURA 3.1. Señal ultrasónica adquiridas con patata fresca y después de 120 min.

Tal y como se observa en la Figura 3.1. la señal tomada a los 120 min de digestión se encuentra adelantada respecto a la adquirida con patata fresca ($t=0$). Esto se debe a que, a medida que aumenta el tiempo de digestión, el líquido gástrico penetra en el interior de la patata, modificando sus propiedades. Esto favorece la velocidad propagación de la onda ultrasónica a través de la patata.

Una vez que se obtuvieron las señales de los ultrasonidos estas se analizaron para calcular la velocidad de la onda ultrasónica y la variación de velocidad respecto a la patata fresca, resultados que se incluyen en la (TABLA 3) para las tres réplicas realizadas del experimento de digestión.

TABLA 3. Velocidad ultrasónica en patata para diferentes tiempos de digestión.

t(min)	R1		R2		R3		Media	
	v (m/s)	Δv (m/s)	v (m/s)	Δv (m/s)	v (m/s)	Δv (m/s)	v (m/s)	Δv (m/s)
0	632.7	0	870.7	0	813.0	0	772.1	0
5	929.1	296.4	1030.9	160.2	841.5	28.6	933.9	161.7
10	982.0	349.2	976.9	106.2	852.6	39.7	937.2	165.0
15	1207.2	574.5	967.2	96.5	890.7	77.8	1021.7	249.6
20	917.1	284.4	1147.5	276.8	968.7	155.7	1011.1	239.0
25	1168.6	535.8	1264.8	394.1	955.8	142.9	1129.7	357.6
30	1040.6	407.8	1240.5	369.8	1026.2	213.2	1102.4	330.3
60	1214.4	581.6	1392.8	522.1	1075.5	262.5	1227.5	455.4
90	1285.4	652.7	1492.4	621.7	997.7	184.8	1258.5	486.4
120	1151.7	518.9	1479.6	608.9	1183.8	370.8	1271.7	499.5

v: velocidad ultrasónica; Δv : variación de la velocidad ultrasónica respecto a la correspondiente a la patata fresca.

De acuerdo con los resultados presentados en la tabla anterior se tiene que el valor de velocidad en la patata a tiempo cero es ligeramente superior (772.1 m/s) al encontrado por Sanchez-Jimenez et al. (2023) (509 m/s) y similar al reportado por Ha et al. (1991) (824 m/s). Esta diferencia se atribuye a la gran variabilidad entre las distintas especies de patatas analizadas, que se refleja en el alto valor de la desviación estándar de la velocidad (124.1 m/s), similar a lo reportado por Ha et al. (1991).

Conforme se prologa la digestión, el líquido gástrico penetra en la patata, por lo cual la velocidad se incrementa significativamente ($p < 0.05$), aproximándose a la velocidad de la onda en el líquido (FIGURA 3.2). El cálculo de la variación de velocidad respecto a la velocidad inicial correspondiente a la patata fresca (Δv) se realizó debido a las diferencias encontradas entre las distintas muestras de patata usadas en el diseño experimental. Se observó que Δv muestra el mismo comportamiento de incremento que la propia velocidad, conforme aumenta el tiempo de digestión.

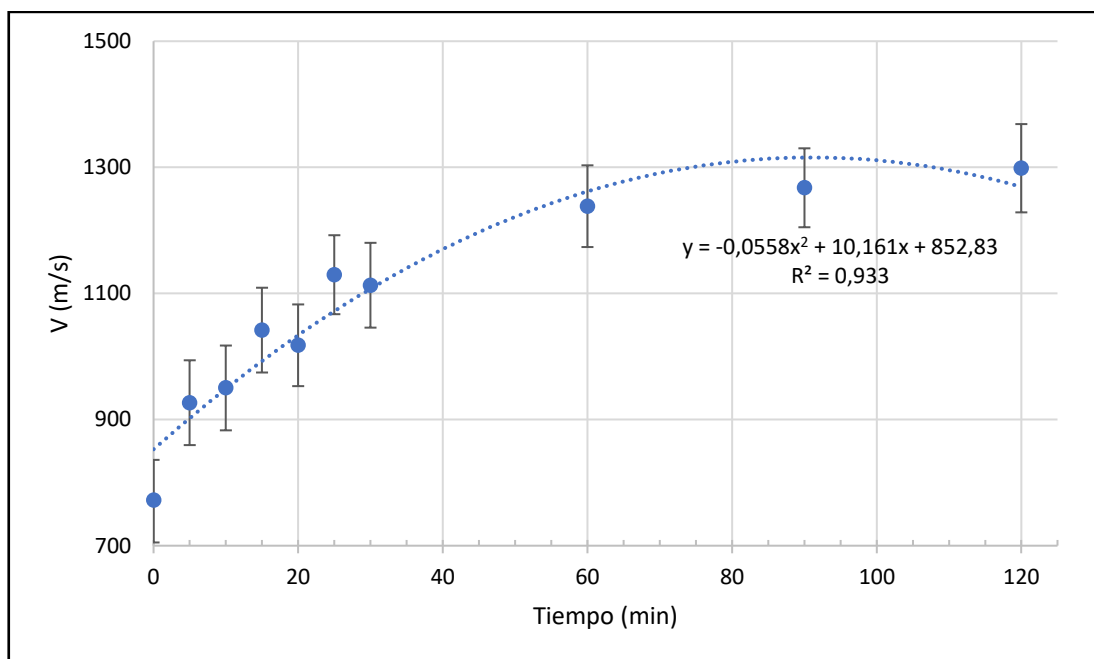


FIGURA 3.2. Evolución de la velocidad ultrasónica en patata durante la digestión e intervalos LSD (95%).

Se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las velocidades ultrasónicas en los distintos tiempos de digestión. El incremento en la velocidad con el tiempo de digestión siguió un modelo logarítmico ($R^2 = 0.93$, FIGURA 3.2), que se considera lo esperado asumiendo que la penetración del líquido gástrico sigue un patrón difusional.

3.1.2. DIGESTIÓN IN-VITRO DE QUESO

En la Figura 3.3. se representan las señales de ultrasonidos tomadas a diferentes tiempos de digestión en relación con la tomada para queso fresco.

Como puede observarse en la Figura 3.3, después de 60 min de digestión, la señal ultrasónica se encuentra adelantada respecto a la señal correspondiente al queso fresco (FIGURA 3.3B), lo que evidencia un incremento en la velocidad ultrasónica, como puede observarse en la FIGURA 3.4. La velocidad inicial en el queso fue de 1453 m/s, lo que se corresponde con los valores encontrados por Benedito et al., (2000). El incremento en la velocidad es leve debido a que la velocidad del queso es similar a la velocidad del líquido (1453 vs. 1526 m/s)

En cambio, tras 120 min de digestión, la señal ultrasónica se encuentra atrasada respecto a la señal correspondiente al queso fresco (FIGURA 3.3C). Esto se debe a una disminución en la velocidad de propagación de la onda ultrasónica, como puede observarse en la FIGURA 3.4. Esta disminución en la velocidad a partir de $t = 60$ min se atribuye a la perturbación en la medida que supone la migración del aceite contenido en el queso hacia el líquido. De acuerdo con Gomez-Gomez et al. (2021) la salida del aceite provoca una disminución de la velocidad no únicamente debido a la menor velocidad del aceite que el líquido gástrico a 37 °C, sino también a que las micelas de grasa

forman una dispersión de aceite en agua, convirtiendo un medio líquido homogéneo en heterogéneo, lo que también contribuye al descenso de la velocidad.

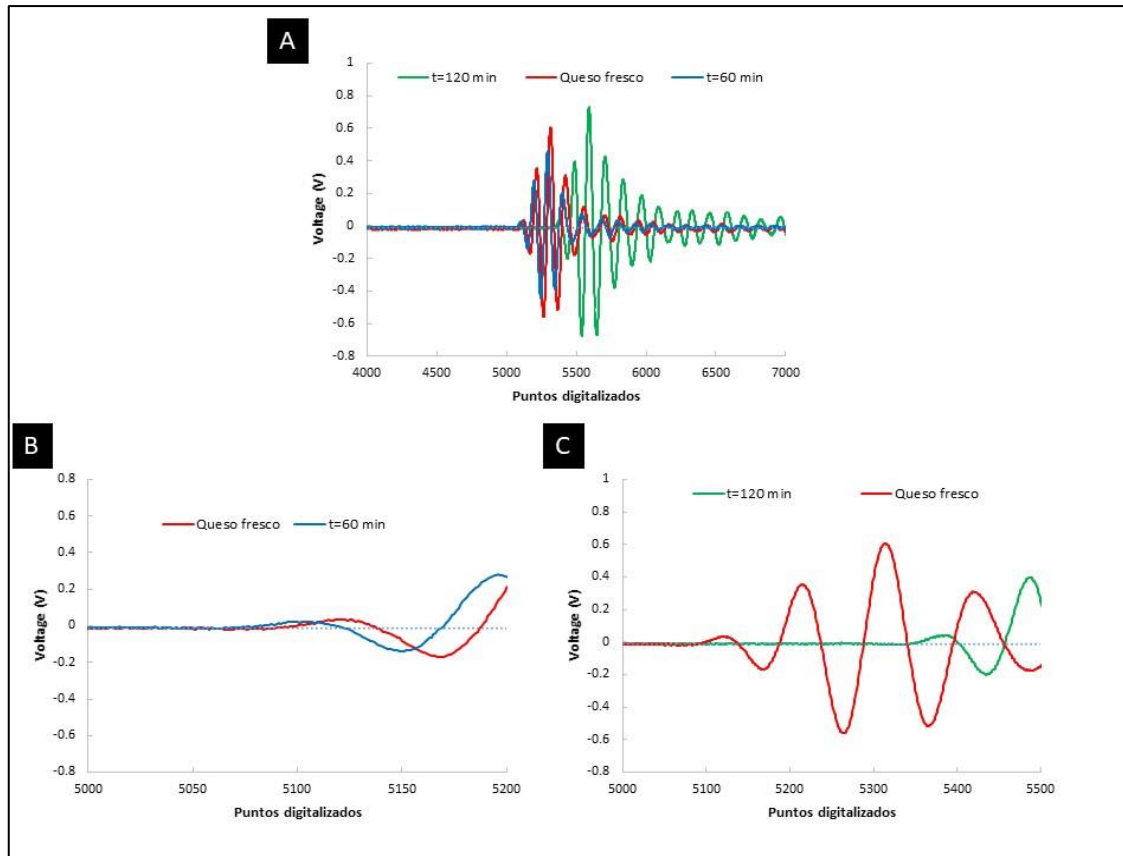


FIGURA 3.3. Comparación de señales ultrasónicas a 60 y 120 minutos en relación con la adquirida para queso fresco.

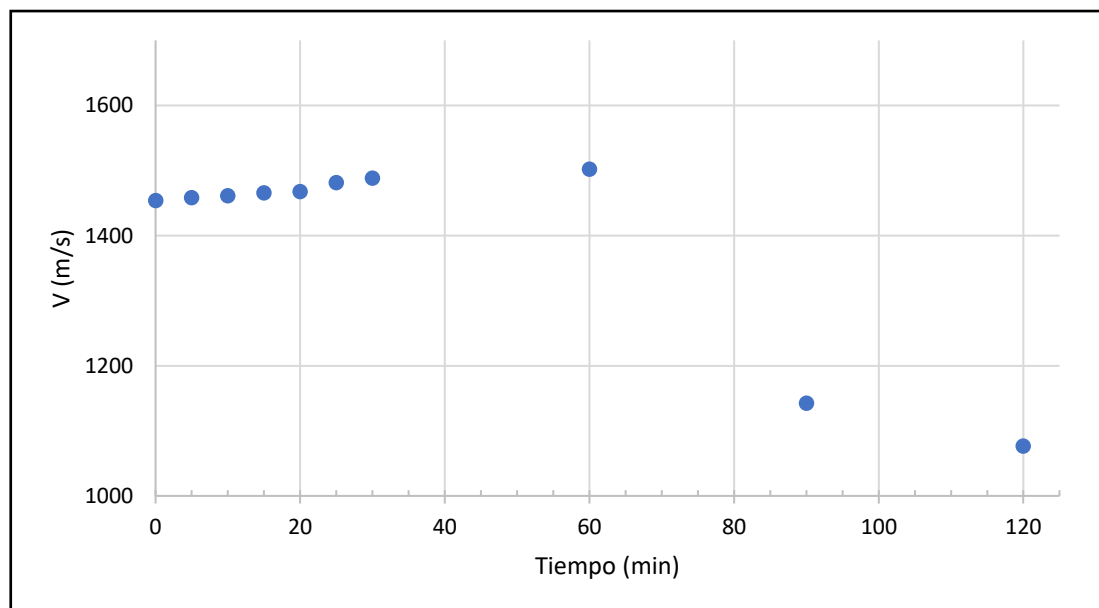


FIGURA 3.4. Velocidad ultrasonidos en el queso durante la digestión in-vitro.

3.2. Modificaciones texturales

Dado que la variabilidad propia de cada producto no permitió visualizar los cambios de los valores absolutos de los parámetros texturales estudiados, se evaluó la variación en la fuerza máxima de compresión a lo largo del tiempo de digestión respecto a la del producto fresco.

3.2.1. DIGESTIÓN IN-VITRO DE PATATA

En la FIGURA 3.5. se muestra la variación de la dureza de la patata durante la digestión, cuantificada por la diferencia entre la fuerza máxima en el ensayo de compresión-penetración para la patata fresca menos la fuerza máxima registrada para la patata sometida a digestión. En general, se observa que la variación de fuerza máxima se incrementa significativamente ($p < 0.05$) a medida que transcurre el tiempo de digestión, lo que viene explicado por la reducción de dureza provocada por la digestión. Además, esto se debe a la penetración del líquido gástrico en el interior de la estructura de la patata, lo que se corresponde con los resultados encontrados en la velocidad ultrasónica (sección 3.1.1). El fenómeno de ablandamiento que provoca la difusión de jugo gástrico en las partículas sólidas es uno de los aspectos más relevantes que favorecen la disgregación de estas partículas en el estómago (Somaratne et al., 2020).

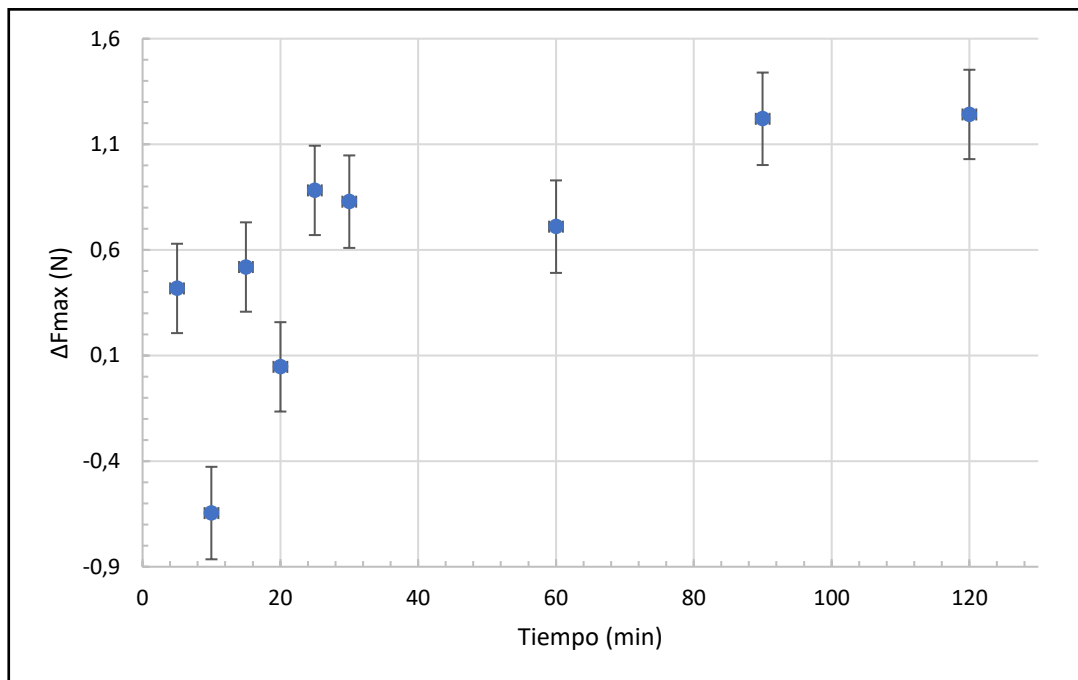


FIGURA 3.5. Valores medios e intervalos LSD (95%) de la variación de fuerza máxima en patata en función del tiempo de digestión.

Como se puede apreciar en la FIGURA 3.5, a los 10 minutos se obtiene un valor de fuerza muy distinto a los demás esto puede deberse a la variabilidad en la estructura celular de la muestra, lo cual coincide con Singh et al., (2016) quienes en su trabajo exponen que la textura de la patata puede variar de

manera notable considerando su microestructura, los componentes de la pared celular y el contenido de amilosa.

Al descartar el punto correspondiente a t=10 min, se observó que la diferencia de la fuerza máxima se incrementó de manera lineal con el tiempo de digestión. El ajuste de un modelo lineal parece indicar que el proceso está lejos de alcanzar un valor asintótico y por tanto del equilibrio. Así, la velocidad de ablandamiento de los materiales durante la digestión se ha mostrado variable, probablemente debido tanto a la diferente difusividad del ácido como a la de las transformaciones estructurales asociadas (Svihus, 2014)

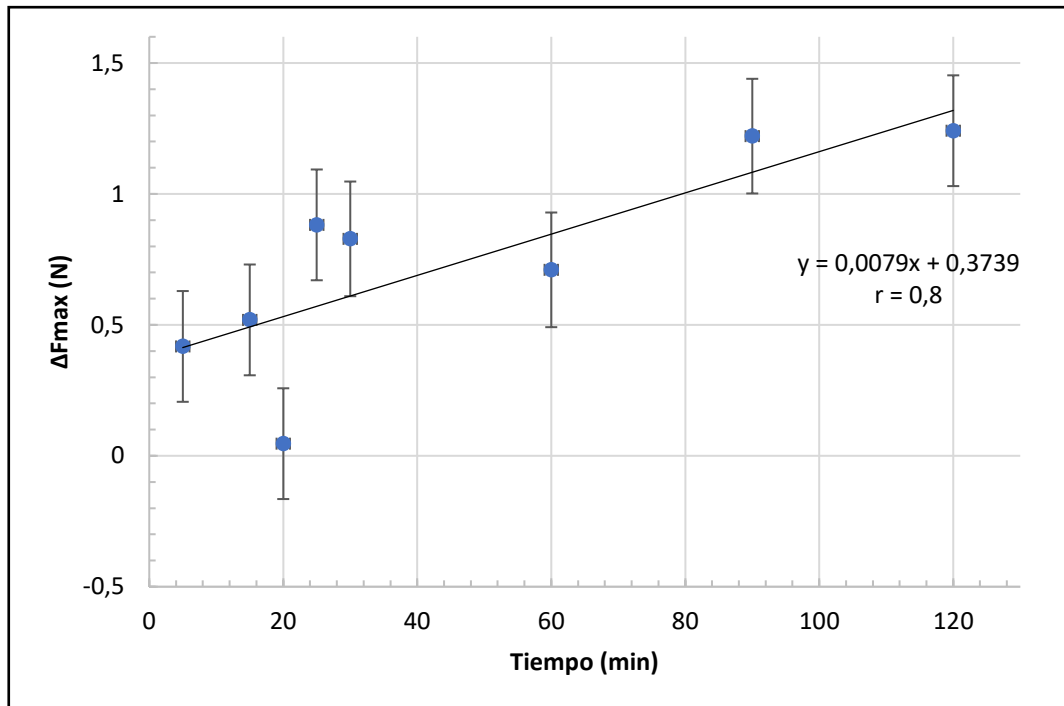


FIGURA 3.6. Regresión lineal entre la diferencia de fuerza máxima y el tiempo de digestión.

TABLA 4. Análisis de la variabilidad de los parámetros ultrasónicos y texturales. SDV: desviación estándar, CV: coeficiente de variación.

Tiempo (min)	ΔFmax (N)			V (m/s)		
	Media	SDV	CV (%)	Media	SDV	CV (%)
5	0.418	0.472	112.9	926.76	121.43	13.1
10	-0.646	0.495	-76.6	950.17	122.79	12.9
15	0.519	0.676	130.3	1041.86	174.62	16.8
20	0.046	0.470	1013.3	1017.83	144.20	14.2
25	0.882	0.465	52.7	1129.74	211.55	18.7
30	0.828	0.475	57.3	1113.05	141.55	12.7
60	0.710	0.535	75.3	1238.40	183.30	14.8
90	1.221	0.740	60.6	1267.59	235.13	18.5
120	1.241	0.811	65.3	1298.60	168.52	13.0

Es importante destacar que la variabilidad de los resultados del parámetro textural analizado fue significativamente mayor que la variabilidad en la medida de la velocidad ultrasónica, lo cual se ve reflejado en los valores del coeficiente de variación (CV), calculado como el cociente entre la desviación estándar y el promedio para cada muestra (TABLA 4).

3.2.2. DIGESTIÓN IN VITRO QUESO

En la siguiente figura se muestra los valores de diferencia de fuerza máxima del queso a diferentes tiempos de digestión respecto a la fuerza máxima aplicada al queso sin tratar.

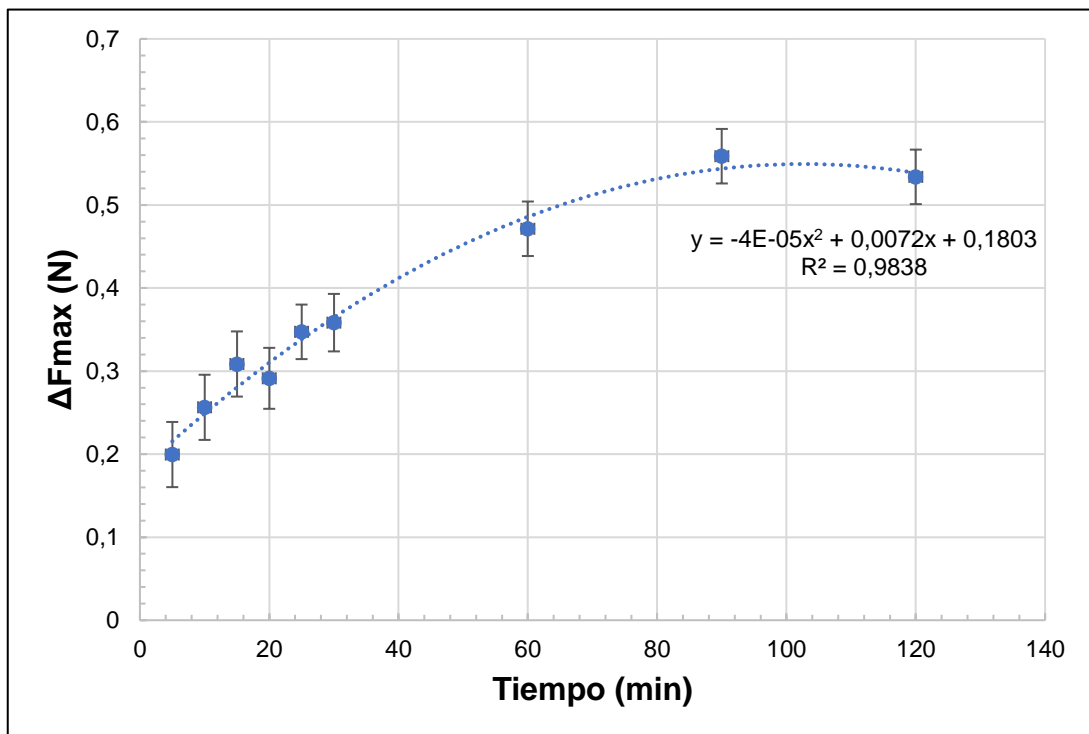


FIGURA 3.7. Valores medios e intervalos LSD (95%) de la variación de fuerza máxima en el queso en función del tiempo de digestión.

Al igual que lo observado en la patata, se evidenció un incremento de la variación de la fuerza máxima a medida que se incrementa el tiempo de digestión. Pero en este caso, los valores parecen alcanzar un valor asintótico a partir de los 60 min lo que parece indicar que el proceso ha alcanzado el equilibrio. Así, se utilizó un modelo polinómico de segundo grado para describir la relación significativa ($p < 0.05$) entre la variación en la fuerza máxima y el tiempo de digestión.

3.3 Correlación entre la velocidad de ultrasonidos y los cambios texturales durante la digestión gástrica.

Se estudió la relación existente entre la variación de velocidad (parámetro ultrasónico) y fuerza máxima (parámetro textural) entre las muestras frescas y sometidas a digestión. En el caso de la patata, como puede observarse en

la FIGURA 3.8, se encontró una relación positiva entre el incremento de la velocidad y la variación en la fuerza máxima de compresión a lo largo del tiempo de digestión estudiado.

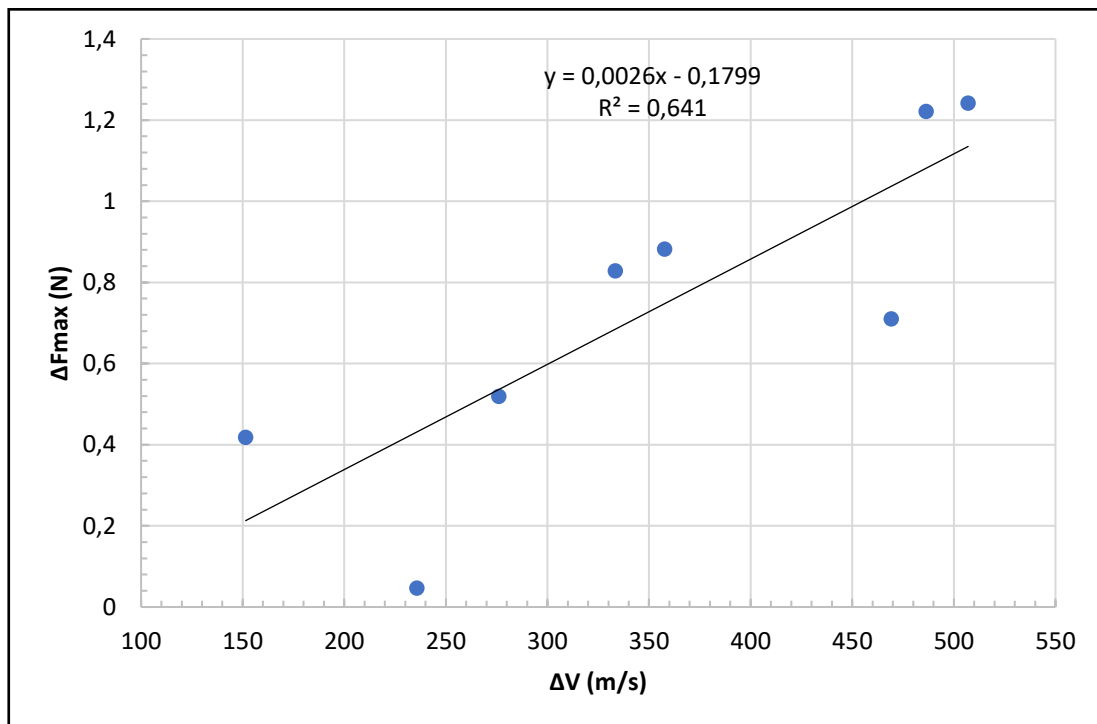


FIGURA 3.8. Relación entre la variación de la velocidad ultrasónica y la evolución de la diferencia de fuerza máxima durante el proceso de digestión gástrica de patata.

Para el análisis de los resultados obtenidos en el queso, solo se consideraron los datos experimentales obtenidos hasta $t=60$ min, dado a la disminución abrupta de la velocidad observada a partir de este tiempo (explicada en la sección 3.1.2). Como puede observarse en la Figura 3.9, la diferencia de la fuerza máxima se correlaciona positivamente con el cambio en la velocidad ultrasónica, siguiendo un modelo de regresión lineal. Si se compara las relaciones mostradas para ambos productos se observa que la pendiente en la relación del queso es superior a la observada en la patata, lo cual se atribuye no a una mayor variación de fuerza (eje y) sino a que la variación de velocidad es casi un orden de magnitud inferior (50 m/s en queso y 500 m/s en patata).

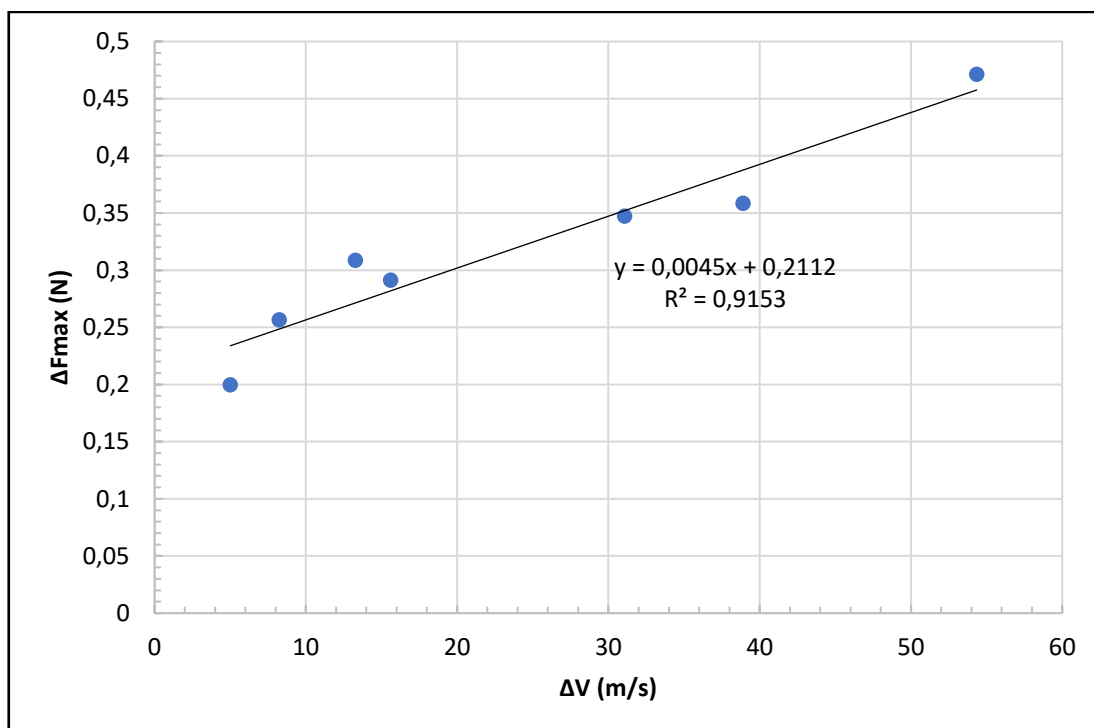


FIGURA 3.9. Relación entre la variación de la velocidad ultrasónica y la evolución de la diferencia de fuerza máxima durante el proceso de digestión gástrica en el caso del queso.

CONCLUSIONES

Las principales conclusiones que derivan de este trabajo se detallan a continuación:

- La velocidad de los ultrasonidos, tanto en patatas como en quesos, se modifica en función del tiempo de digestión. En el caso de la patata, la velocidad se incrementó como consecuencia de la penetración del líquido gástrico en su estructura interna, lo que a su vez se vio reflejado en la disminución de la dureza. Lo mismo sucedió en el queso durante los primeros 60 min del proceso de digestión. Sin embargo, para tiempos mayores, se observó una disminución de la velocidad ultrasónica, la cual se atribuyó a la migración del aceite contenido en el queso hacia el líquido gástrico.
- Se observaron correlaciones significativas ($p < 0.05$) entre las variaciones de fuerza y de velocidad ultrasónica.
- La variabilidad en la medida de la velocidad ultrasónica fue menor que la correspondiente a la diferencia en la fuerza máxima en la patata, lo cual pone de manifiesto la posibilidad de utilizar los ultrasonidos como método no destructivo para la monitorización de los parámetros texturales del proceso de digestión gástrica y su aplicación en el diseño de nuevos alimentos con bioaccesibilidad mejorada.

AGRADEMIENTOS

Los autores agradecen el financiamiento provisto por el proyecto ULTRADIGITAL (AGROALNEXT/2022/045), el cual forma parte del programa AGROALNEXT, financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación con fondos europeos NextGenerationEU (PRTR-C17.I1), así como por la Generalitat Valenciana.

3. REFERENCIAS

- Alvis, A., Pérez, L., & Arrazola, G. (2011). Determinación de las Propiedades de Textura de Tabletas de Chocolate Mediante Técnicas Instrumentales. *Información tecnológica*, 22(3), 11-18. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642011000300003>
- Awad, T. S., Moharram, H. A., Shaltout, O. E., Asker, D., & Youssef, M. M. (2012). Applications of ultrasound in analysis, processing and quality control of food: A review. *Food Research International*, 48(2), 410-427. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.05.004>
- Benedito, J., Carcel, J. A., Rossello, C., & Mulet, A. (2001). Composition assessment of raw meat mixtures using ultrasonics. *Meat Science*, 57(4), 365-370. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(00\)00113-3](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(00)00113-3)
- Benedito, J., Carcel, J., Clemente, G., & Mulet, A. (2000). Cheese Maturity Assessment Using Ultrasonics. *Journal of Dairy Science*, 83(2), 248-254. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(00\)74871-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)74871-5)
- Blázquez, J., & Díaz, C. (2008). Estudio del efecto del tratamiento térmico sobre la textura y el análisis sensorial. <http://hdl.handle.net/2099.1/4708>
- Brodkorb, A., Egger, L., Alminger, M., Alvito, P., Assunção, R., Ballance, S., ... Recio, I. (2019). INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion. *Nature Protocols*, 14(4), 991-1014. <https://doi.org/10.1038/s41596-018-0119-1>
- Cervera Perea, C. (2015). Puesta a punto de una metodología para la caracterización de pastosidad en jamón curado mediante ultrasonidos. <https://riunet.upv.es:443/handle/10251/54291>
- Corredig, M., Alexander, M., & Dalgleish, D. G. (2004). The application of ultrasonic spectroscopy to the study of the gelation of milk components. *Food Research International*, 37(6), 557-565. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2003.12.011>
- De Prados Pedraza, M. (2013). Monitorización del salado de carne de cerdo (Biceps femoris) mediante ultrasonidos de señal. <https://riunet.upv.es:443/handle/10251/27996>
- Dukhin, A. S., Goetz, P. J., & Travers, B. (2005). Use of Ultrasound for Characterizing Dairy Products. *Journal of Dairy Science*, 88(4), 1320-1334. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)72798-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72798-3)
- Fariñas, L., Sanchez-Torres, E. A., Sanchez-Jimenez, V., Diaz, R., Benedito, J., & Garcia-Perez, J. V. (2021). Assessment of avocado textural changes during ripening by using contactless air-coupled ultrasound. *Journal of Food Engineering*, 289, 110266. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2020.110266>
- Garcia-Perez, J. V., de Prados, M., Martinez, G., Gomez Alvarez-Arenas, T. E., & Benedito, J. (2019). Ultrasonic online monitoring of the ham salting process. Methods for signal analysis: Time of flight calculation. *Journal of Food Engineering*, 263, 87-95. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2019.05.032>
- Gomez-Gomez, A., Brito-de la Fuente, E., Gallegos, C., Garcia-Perez, J. V., & Benedito, J. (2021). Combined pulsed electric field and high-power ultrasound treatments for microbial inactivation in oil-in-water emulsions. *Food Control*, 130, 108348. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108348>
- Ha, K. L., Kanai, H., Chubachi, N., & Kamimura, K. (1991). A basic study on nondestructive evaluation of potatoes using ultrasound. *Japanese journal of applied physics*, 30(S1), 80.
- Lis, A., Staniewski, B., & Ziajka, J. (2021). A comparison of butter texture measurements with the AP 4/2 penetrometer and TA.XT. Plus texture analyzer. *International Journal of Food Properties*, 24(1), 1744-1757. <https://doi.org/10.1080/10942912.2021.1999262>

Mizrach, A. (2008). Ultrasonic technology for quality evaluation of fresh fruit and vegetables in pre- and postharvest processes. *Postharvest Biology and Technology*, 48(3), 315–330. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.10.018>

Nadia, J., Bronlund, J. E., Singh, H., Singh, R. P., & Bornhorst, G. M. (2022). Contribution of the proximal and distal gastric phases to the breakdown of cooked starch-rich solid foods during static in vitro gastric digestion. *Food Research International*, 157, 111270. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111270>

Ramírez Rivas, I., & Chávez Martínez, A. (2017). Efecto del ultrasonido aplicado al suero de leche previo al calentamiento en la elaboración de requesón. *Interciencia*, 42, 828-833. <https://www.redalyc.org/journal/339/33953770008/html/>

Sanchez-Jimenez, V., Collazos-Escobar, G. A., González-Mohino, A., Gomez Alvarez-Arenas, T. E., Benedito, J., & Garcia-Perez, J. V. (2023). Non-invasive monitoring of potato drying by means of air-coupled ultrasound. *Food Control*, 148, 109653. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2023.109653>

Singh, J., Kaur, L., & Rao, M. A. (2016). Textural Characteristics of Raw and Cooked Potatoes. En *Advances in Potato Chemistry and Technology* (pp. 475-501). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800002-1.00016-9>

Somaratne, G., Ye, A., Nau, F., Ferrua, M. J., Dupont, D., Paul Singh, R., & Singh, J. (2020). Egg white gel structure determines biochemical digestion with consequences on softening and mechanical disintegration during in vitro gastric digestion. *Food Research International*, 138, 109782. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109782>

Svihus, B. (2014). Function of the digestive system. *Journal of Applied Poultry Research*, 23(2), 306–314. <https://doi.org/10.3382/japr.2014-00937>

Yildiz, F., Özdemir, A. T., & Uluışık, S. (2019). Evaluation Performance of Ultrasonic Testing on Fruit Quality Determination. *Journal of Food Quality*, 2019, 1-7. <https://doi.org/10.1155/2019/6810865>