

9 CIBIA

Congreso Iberoamericano
de Ingeniería de Alimentos

Valencia (España)

13 - 16 enero 2014

Libro de Actas

Vol. 1

Editado por Pedro Fito, Ana María Andrés,
Ángel Luis Argüelles y María Dolores Ortolá



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



INSTITUTO DE INGENIERÍA DE
ALIMENTOS PARA EL DESARROLLO

Congreso Iberoamericano de Ingeniería de Alimentos CIBIA9

13 - 16 enero 2014 Valencia (España)

Libro de Actas

Vol. 1

Editores:

Pedro Fito
Ana María Andrés
Ángel Luis Argüelles
María Dolores Ortolá

EDITORIAL
UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

Colección Congresos

Los contenidos de esta publicación han sido evaluados por los miembros del Comité científico:

Pedro Fito
Ana María Andrés
Ángel Luis Argüelles
Amparo Chiralt
Marco Dalla Rosa
María José Galotto
Albert Ibarz
María Dolores Ortolá
Paola Pittia
Abel Guarda Moraga

Primera edición, 2013 (versión impresa)

© Editores: Pedro Fito
Ana María Andrés
Ángel Luis Argüelles
María Dolores Ortolá

© de la presente edición: Editorial Universitat Politècnica de València
distribución: Telf. 963 877 012 / <http://www.lalibreria.upv.es> / Ref. 6125_01_01_01

ISBN: 978-84-9048-168-4 (version impresa)

Queda prohibida la reproducción, la distribución, la comercialización, la transformación y, en general, cualquier otra forma de explotación, por cualquier procedimiento, de la totalidad o de cualquier parte de esta obra sin autorización expresa y por escrito de los autores.

Comité Organizador:

Pedro Fito – Instituto de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo, Departamento de Tecnología de Alimentos, Universitat Politècnica de València, Camino de Vera s/n, 46022 Valencia, Spain.

Ana María Andrés - Instituto de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo, Departamento de Tecnología de Alimentos, Universitat Politècnica de València, Camino de Vera s/n, 46022 Valencia, Spain

David Arce - Grid y Computación de Altas Prestaciones (GRyCAP)
Instituto de Instrumentación para Imagen Molecular (I3M)
Universitat Politècnica de València (UPV)

Ángel Luis Argüelles - Instituto de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo, Departamento de Tecnología de Alimentos, Universitat Politècnica de València, Camino de Vera s/n, 46022 Valencia, Spain

Ignacio Blanquer – Grid y Computación de Altas Prestaciones (GRyCAP)
Instituto de Instrumentación para Imagen Molecular (I3M)
Universitat Politècnica de València (UPV)

Juan Manuel Castagnini- Universidad Nacional de Entre Rios (Argentina)

Carolina Ivonne Contreras - Instituto de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo, Departamento de Tecnología de Alimentos, Universitat Politècnica de València, Camino de Vera s/n, 46022 Valencia, Spain

Virginia Larrea - Instituto de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo, Departamento de Tecnología de Alimentos, Universitat Politècnica de València, Camino de Vera s/n, 46022 Valencia, Spain

María Dolores Ortolá - Instituto de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo, Departamento de Tecnología de Alimentos, Universitat Politècnica de València, Camino de Vera s/n, 46022 Valencia, Spain

Milagro Reig - Instituto de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo, Departamento de Tecnología de Alimentos, Universitat Politècnica de València, Camino de Vera s/n, 46022 Valencia, Spain

Mario Visquert - Instituto de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo, Departamento de Tecnología de Alimentos, Universitat Politècnica de València, Camino de Vera s/n, 46022 Valencia, Spain

Comité Científico:

Pedro Fito - Instituto de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo, Departamento de Tecnología de Alimentos, Universitat Politècnica de València, Camino de Vera s/n, 46022 Valencia, Spain

Ana María Andrés - Instituto de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo, Departamento de Tecnología de Alimentos, Universitat Politècnica de València, Camino de Vera s/n, 46022 Valencia, Spain

Ángel Luis Argüelles - Instituto de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo, Departamento de Tecnología de Alimentos, Universitat Politècnica de València, Camino de Vera s/n, 46022 Valencia, Spain

Amparo Chiralt - Instituto de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo, Departamento de Tecnología de Alimentos, Universitat Politècnica de València, Camino de Vera s/n, 46022 Valencia, Spain

Marco Dalla Rosa – Interdepartmental Centre for Agri-Food Industrial Research – Alma Mater Studiorum – Università di Bologna (Italia)

María José Galotto – Laben-Chile. Laboratorio de Envases. Dpto. de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad de Santiago de Chile.

Abel Guarda - Laben-Chile. Laboratorio de Envases. Dpto. de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad de Santiago de Chile.

Albert Ibarz - Departament Tecnologia Aliments, UTPV-XaRTA, Agrotecnio Center, Universitat de Lleida (España)

María Dolores Ortolá - Instituto de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo, Departamento de Tecnología de Alimentos, Universitat Politècnica de València, Camino de Vera s/n, 46022 Valencia, Spain

Paola Pittia – Facoltà di Bioscienze e Tecnologie Agroalimentari ed Ambientali – Università di Teramo (Italia)

Presentación

En el año 1995, del 5 al 9 de Noviembre se celebró en Campinas (Brasil) la primera Conferencia Ibero-Americana de Ingeniería de Alimentos. Fue organizada por la Red Iberoamericana de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo (RIBIADIR) dentro del Programa CYTED-D, que celebraba el 500 aniversario del descubrimiento de América. Este hecho certificaba, no solo el potencial científico de la Comunidad Iberoamericana, sino la oportunidad de hacerlo contribuyendo al mismo tiempo al reconocimiento y fortalecimiento de una disciplina joven e íntimamente ligada al potencial de desarrollo social y económico de la región. De los más de 300 trabajos presentados, la mayor parte fueron publicados por la Universidad Politécnica de Valencia.

Basándose en la información recibida y con ayuda de muchos de los autores de dichos trabajos se publicó el libro **FOOD ENGINEERING 2000** (1) que cumplía la doble función de recoger los principales conceptos e informaciones incluidos en los trabajos presentados, con la colaboración de sus autores, y en segundo lugar hacer una reflexión sobre el concepto y contenidos de la Ingeniería de Alimentos, desarrollándolos de una forma estructurada.

El resultado fue un volumen histórico por cuanto demostraba el potencial de la Región en una disciplina en desarrollo, con enorme potencial científico y económico, y al mismo tiempo proponía a la comunidad científica la sistematización de su ámbito de influencia. En él se abordaba el estudio de esta disciplina manejando conceptos tan actuales como estructura y propiedades físicas de los alimentos, modelos del proceso y de sus operaciones, envasado y un capítulo dedicado a la Formación en la Ingeniería de Alimentos.

En la Introducción los editores del libro señalábamos:

“Is quite apparent Food engineering is gaining recognition worldwide by developing an identity within food and engineering related programs in academia, institutions and the food industry. We are confident this book will help in the consolidation of a much needed profession and will also provide its readers an incentive for identifying what is awaiting for the profession in the twenty-first century.”

Hoy, 18 años después, podemos asegurar sin ninguna duda que la Ingeniería de Alimentos se ha consolidado como una disciplina académica, científica y profesional fundamental para hacer frente al desafío de alimentar a la población mundial, mejorando la producción y distribución de alimentos más saludables, nutritivos y accesibles, especialmente para los sectores menos desarrollados.

Este CIBIA 9, con los más de 400 trabajos presentados, es un ejemplo de que el impulso de industriales, profesores e investigadores persiste. Otros muchos foros sobre Ingeniería de Alimentos han aparecido en el Mundo, pero CIBIA mantiene una característica peculiar: es el fruto del impulso de una comunidad que se reconoce como tal y que disfruta las posibilidades de demostrarlo.

Pedro Fito

“Food Engineering 2000” Edited by Pedro Fito, Enrique Ortega y Gustavo V. Barbosa
Chapman & Hall 1997

Índice

Presentación	3
--------------	---

Conferencias Plenarias

LA BIOACCESIBILIDAD COMO PARÁMETRO DE OPTIMIZACIÓN DE PROCESOS ALIMENTARIOS Y DESARROLLO DE NUEVOS PRODUCTOS Ana Andrés y Ana Heredia	19
--	----

MATERIALES BIODEGRADABLES PARA EL ENVASADO ACTIVO DE ALIMENTOS A BASE DE ALMIDÓN..... Amparo Chiralt	27
---	----

UNDERSTANDING THE RELATIONSHIP BETWEEN METABOLIC MODIFICATIONS AND QUALITY RETENTION IN MINIMALLY PROCESSED KIWIFRUIT..... <u>Marco Dalla Rosa</u> , Pietro Rocculi, Urszula Tylewicz, Valentina Panarese, Santina Romani, Silvia Tappi	37
--	----

NUEVAS TENDENCIAS EN ENVASES DE ALIMENTOS..... Galotto, Maria José; Guarda, Abel	46
---	----

MODELIZACIÓN DE LOS TRATAMIENTOS FOTOQUÍMICOS EN ALIMENTOS FLUIDOS..... <u>Albert Ibarz</u> , Alfonso Garvín y Raquel Ibarz	54
--	----

DEVELOPMENT OF EDUCATION/RESEARCH/INDUSTRY INTERFACES TO FOSTER THE INNOVATION OF THE FOOD CHAIN..... Paola Pittia	67
---	----

APLICACIÓN DE DESINFECTANTES ORGÁNICOS PARA LA DESTRUCCIÓN DE MICROORGANISMOS PATÓGENOS AISLADOS DEL PROCESO PRODUCTIVO DE TUNTA (ILAVE, PUNO)..... <u>Velezmoro Carmen</u> , Santos Ricardo, Ramos Elena, Martínez Patricia, Valdez Jenny, Zúñiga Doris	75
---	----

Comunicaciones

- 2 EFECTO DE LA LUZ UV-C EN FACTORES DE CALIDAD DE LECHE DE COCO (*COCOS NUCIFERA* L.) ALMACENADA EN REFRIGERACIÓN 85
Mercedes Cruz-González, Lorena Luna-Guevara, Paola Hernández-Carranza, Juan J. Luna-Guevara, José Á. Guerrero-Beltrán y Carlos E. Ochoa-Velasco
- 4 ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE EXTRACTOS DE PRODUCTOS APÍCOLAS CHILENOS PARA USO EN PELICULAS COMESTIBLES 93
Velásquez Patricia, Valenzuela Loreto, Montenegro Gloria
- 6 ESTUDIO SOBRE LA UTILIZACIÓN DE UN CULTIVO LÁCTEO PRODUCTOR DE EXOPOLISACÁRIDOS SOBRE EL RENDIMIENTO, SABOR Y TEXTURA DEL QUESO CREMA..... 97
Perla Lizeth Morales Hernández, Néstor Gutiérrez Méndez
- 7 PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE BIOFILMES DO RESÍDUO DA EXTRAÇÃO DO ÓLEO DE BABAÇU 105
Maniglia, B. C., Lucas, A. de A., Tapia-Blácido, D.
- 8 MODIFICACIÓN DE LAS PROPIEDADES REOLÓGICAS DEL QUESO CREMA MEDIANTE LA APLICACIÓN DE ULTRASONIDO DE ALTA POTENCIA 114
Ing. José Luis Almanza Rubio, Dr. Néstor Gutiérrez Méndez, Dr. Martha Yareli Leal Ramos, Dr. David Sepúlveda Ahumada
- 9 OPTIMIZACIÓN DE LA EXTRACCIÓN DE MUCILAGO DE NOPAL (*OPUNTIA SPP.*) MEDIANTE LA APLICACIÓN DE ULTRASONIDO DE ALTA POTENCIA..... 121
Mónica Lizette Guevara Ayala, Néstor Gutiérrez Méndez, Erika Salas Muñoz, José Carlos Rodríguez Figueroa
- 12 PERFIL DESCRIPTIVO OTIMIZADO: QUANTOS JULGADORES SÃO NECESSÁRIOS? 128
Rita de Cássia dos Santos Navarro da Silva, Valéria Paula Rodrigues Minim, Alexandre Navarro da Silva, Luiz Alexandre Peternelli, Andréa Alves Simiqueli, Luis Antônio Minim.
- 13 EFEITO DA ADIÇÃO DE CURCUMINA E DA TEMPERATURA DE SECAGEM NAS PROPRIEDADES DOS FILMES DE DOIS TIPOS DE GELATINA 138
Correa, M. C., Beloti, Luiz G. M., Maniglia, B.C., Tapia-Blácido, D.
- 17 DESARROLLO DE PELICULAS COMPUESTAS CON CAPACIDAD DE ADSORCION DE ETILENO A BASE DE PEBD Y ZEOLITA NATURAL MODIFICADA 146
A. Coloma; M. J. Galotto; A. Guarda; F. Rodríguez; C. Pizarro; J. Bruna

- 21 EFECTO DE LA HOMOGENIZACIÓN A ULTRA ALTA PRESIÓN SOBRE LA ESTABILIDAD FÍSICA DE LA HORCHATA DE CHUFA..... 153
Codina-Torrella, I., Escriu, R., Guamis, B., Trujillo, A.J.
- 22 CINÉTICA DE LA EVOLUCIÓN DE HIDROXIMETILFURFURAL (HMF) EN EL PROCESO TÉRMICO DE PULPA CONCENTRADA DE MANGO (MANGIFERAINDICA L) VARIEDAD HADEN Y KENT 160
Damián Manayay Sánchez, Albert Ibarz Ribas, Williams Castillo Martínez y Lenin Palacios Ambrocio
- 23 COLOR, PIGMENTOS Y POLIFENOLES TOTALES EN JUGOS DE ECUADOR A BASE DE MEZCLAS DE MORA ANDINA, FRESA, TOMATE DE ÁRBOL Y REMOLACHA..... 168
 Arozarena, Iñigo; Ortiz-Escobar, Jacqueline; Rodríguez-Hidalgo, Claudia; Peña-Fernández, Jessica; Navarro-Huidobro, Montserrat; Marín-Arroyo, M^a Remedios
- 24 CRISTALIZAÇÃO DE LACTOSE EM SORO DE LEITE PURIFICADO 176
 Gustavo Araújo Teixeira, Ricardo Amâncio Malagoni, José Roberto Delalibera Finzer
- 26 COMPARACIÓN DE MÉTODOS DE PRETRATAMIENTO DE LAS PEPITAS DE UVA PARA SU APROVECHAMIENTO EN LA OBTENCIÓN DE EXTRACTOS POLIFENÓLICOS CON ELEVADA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE..... 185
 Marín-Arroyo, María R.; Larrea Posadas, J.; Navarro Huidobro, M.; Arozarena Martinicorena, I.
- 28 EFECTO DE LA DESHIDRATACIÓN EN LAS PROPIEDADES ÓPTICAS Y MECÁNICAS DE DIFERENTES VARIEDADES DE BERENJENA. ESTUDIO DE LAS CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO. 191
Acurio, Liliana; Casa, Francisco; Igual, Marta; Martínez-Navarrete, Nuria; Camacho, María del Mar
- 29 INFLUENCIA DEL GRADO DE HIDRÓLISIS EN LA CAPACIDAD GELIFICANTE DE UN SISTEMA MIXTO PROTEÍNA HIDROLIZADA DE *PHASEOLUS LUNATUS*: GOMA CARBOXIMETILADA DE FLAMBOYÁN ... 202
 Luis Jorge Corzo-Rios, David Betancur-Ancona, Luis Chel-Guerrero
- 34 PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS Y FUNCIONALES EN NUEVE VARIEDADES DE ALMIDÓN DE PAPAS NATIVAS (*Solanum phureja*) 210
Martínez Patricia, Málaga Alexandra, Betalleluz Indira, Linares Laura, Ureña Milber, Velezmore Carmen.
- 35 MALTODEXTRINAS ENZIMÁTICAMENTE RESISTENTES OBTENIDAS POR PIROCONVERSIÓN E HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA DE ALMIDÓN DE YUCA (*Manihot esculenta*)..... 218
 Rocío Toraya-Avilés, Maira Segura-Campos, David Betancur-Ancona

- 36 ENCAPSULACIÓN DE HIDROLIZADOS PROTEÍNICOS DE *Phaseolus lunatus* CON ACTIVIDAD INHIBITORIA DE LA ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA..... 225
 Jorge Carlos Ruiz Ruiz; Maira Rubí Segura Campos; David Abram Betancur Ancona; Luis Antonio Chel Guerrero.
- 37 FRACCIONES PEPTÍDICAS DE FRIJOL TERCIOPELO (*Mucuna pruriens*): POTENCIAL INHIBIDOR DEL SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA Y COMPOSICIÓN AMINOACÍDICA 232
 Castillo-Yam, E., Betancur-Ancona, D.A., Segura-Campos, M.R.
- 38 PESQUISA, DESENVOLVIMENTO E INOVAÇÃO: EXPERIÊNCIA COM O PACAMÃ..... 239
Léa Silvia Sant´Ana, Camila Baptistella Yazbek, Lilian Viana Teixeira, Ronald Kennedy Luz, Edgar de Alencar Teixeira, Daniel Vieira Crepaldi.
- 39 VALOR NUTRICIONAL DE UMA NOVA ESPÉCIE DE PEIXE 243
Léa Silvia Sant´Ana, Adriane Aiko Iwamoto, Daniel Vieira Crepaldi, Lilian Viana Teixeira, Edgar de Alencar Teixeira, Ronald Kennedy Luz.
- 41 NEOFOBIA EM RELAÇÃO ÀS NOVAS TECNOLOGIAS DE ALIMENTOS: UM ESTUDO DE CASO NO BRASIL 247
 Márcia Cristina Teixeira Ribeiro Vidigal, Valéria Paula Rodrigues Minim, Rêmio Teixeira Moreira, Douglas Fernando Balbino, Luis Antonio Minim
- 44 PROPIEDADES FUNCIONALES DE HIDROLIZADOS DE PROTEÍNA DE PESCADO PROCESADOS MEDIANTE EL USO DE UN SISTEMA DE REACCIÓN ACELERADA POR MICROONDAS..... 255
 Liceaga, Andrea M., Tahergorabi, R.
- 46 MIGRACIÓN DE CARVACROL DESDE LOS NANOCOMPOSITOS DE ACETATO BUTIRATO DE CELULOSA 263
R.I. Quintero, M.J. Galotto, A. Guarda, F. Rodríguez, A. Torres
- 50 EFECTO DE LA LIPASA SOBRE LAS PROPIEDADES FÍSICAS DE BIZCOCHOS DE CONTENIDO REDUCIDO EN GRASA DURANTE EL ALMACENAMIENTO 271
 J. Rodríguez-García Sarabjit S Sahi; I. Hernando
- 51 ESTUDIO REOLÓGICO DE NUEVOS ALIMENTOS LÁCTEOS RICOS EN CAROTENOIDES ELABORADOS CON CAQUI. 279
 M. Hernández-Carrión, A. Tárrega, I. Hernando, S. M. Fiszman, A. Quiles
- 52 CAMBIOS REOLÓGICOS EN BATIDOS ELABORADOS CON DIFERENTES HIDROCOLOIDES TRAS SU DIGESTION ORAL *IN VITRO* 287
 P. Morell, I. Hernando, S.M. Fiszman

- 54 USO DE GRADIENTES DE PRESIÓN PARA ACORTAR EL TIEMPO DE HIDRATACIÓN DE FRIJOLES TEPARY (*Phaseolus acutifolius* A. Gray) Y PINTO (*Phaseolus vulgaris* L.) 295
E. Zanella Díaz, M.C. Soto-Caballero, I. Moreno-Murrieta, J. Welti-Chanes, H. Mújica-Paz, A. Valdez-Fragoso
- 55 ANALISIS FACTORIAL MULTIPLE Y MODELAMIENTO PLS PATH EN LA CARACTERIZACION DE MIELES VENEZOLANAS DE LARA Y YARACUY 302
Nelson Rodríguez Arias; Mónica Patricia Osorio Tangarife Guillermo Salamanca Grosso
- 56 APLICACIÓN DE ANÁLISIS DE CLUSTER Y REDES NEURONALES ARTIFICIALES PARA LA CLASIFICACIÓN DE MIELES COLOMBIANAS .. 313
Nelson Rodríguez Arias; Guillermo Salamanca Grosso; Laura Maria Reyes Méndez
- 57 EVALUACIÓN DE ALGUNAS CARACTERÍSTICAS EN JAMONES ADICIONADOS CON PASTAS RESIDUALES DE ACEITE DE FRUTOS SECOS 323
 Juan José Luna Guevara, Carlos Enrique Ochoa Velasco, María Lorena Luna Guevara, José Ángel Guerrero Beltrán
- 58 CUANTIFICACIÓN DE LA DEFORMACIÓN DE ALIMENTOS SUJETOS A SECADO CONVECTIVO MEDIANTE TÉCNICAS DE ANÁLISIS DE IMAGEN..... 332
 E. Yañez-Mota, F.M. Pacheco-Aguirre, H. Ruiz-Espinosa, M.A. García-Alvarado, I.I. Ruiz-López
- 59 DETERMINACIÓN DE LA DIFUSIVIDAD EFECTIVA DE AGUA EN BERENJENA DURANTE SECADO CONVECTIVO CONSIDERANDO SU DEFORMACIÓN..... 340
 M. López-Aguirre, F.M. Pacheco-Aguirre, J.J. Luna-Guevara, H. Ruiz-Espinosa, M.A. García-Alvarado, I.I. Ruiz-López
- 60 MODELACIÓN Y SIMULACIÓN DEL PROCESO DE DESHIDRATACIÓN OSMÓTICA CON CONDICIÓN DE FRONTERA TIPO CAUCHY 348
 G.D. Torres-Icelo, H. Ruiz-Espinosa, M.A. García-Alvarado, I.I. Ruiz-López
- 61 MODELACIÓN Y SIMULACIÓN DE LA TRANSFERENCIA DE AGUA DURANTE EL SECADO CONVECTIVO DE ALIMENTOS CONSIDERANDO SU ENCOGIMIENTO Y DEFORMACIÓN 354
 B.O. García-Carrasco, F.M. Pacheco-Aguirre, M.L. Luna-Guevara, H. Ruiz-Espinosa, M.A. García-Alvarado, I.I. Ruiz-López
- 62 EFECTO DE LA COMPOSICIÓN SOBRE LAS PROPIEDADES DIELECTRICAS DE SOLUCIÓN SIMULADA DE AGUA DE COCO VERDE . 362
 Franco, A.P.; Yamamoto, L.; Gut, J.A.W.; Tadini, C.C.

- 63 INTERACCIÓN DE DIFERENTES COMPUESTOS EN LA OXIDACIÓN DEL COLESTEROL E FORMACIÓN DE ÓXIDOS DE COLESTEROL..... 370
Elisângela Serenato Madalozzo, Neura Bragagnolo
- 64 DEGRADACIÓN DEL COLESTEROL E FORMACIÓN DE ÓXIDOS EN SISTEMAS MODELO CALENTADOS A 230°C Y FLUJO CONSTANTE DE O₂..... 380
Elisângela Serenato Madalozzo, Neura Bragagnolo
- 65 FORMULACIÓN DE UNA BEBIDA SIMBIÓTICA LÁCTEA CON FRUTAS Y A-GALACTÓSIDOS EXTRAÍDOS DE LEGUMINOSAS 388
Colina, Jhoana y Torres, Alexia
- 66 DISEÑO DE PELÍCULAS ECO-ACTIVAS BASADAS EN NANOCOMPOSITOS DE ACETATO DE CELULOSA 397
F. J. Rodríguez, P. E. Moya, V. P. Jordan, M. J. Galotto, A. Guarda, J. E. Bruna, R. L. Abarca.
- 69 NUEVOS NANOCOMPOSITOS ANTIMICROBIANOS BASADOS EN POLIÁCIDO LÁCTICO Y MONTMORILLONITAS MODIFICADAS CON COBRE OBTENIDOS MEDIANTE EXTRUSION EN FUNDIDO 405
J. E. Bruna, L. Espinoza, F. Rodríguez, A. Guarda, M^a. José Galotto
- 70 ECO-COMPOSITOS BASADOS EN UN DESECHO AGROINDUSTRIAL Y POLIÁCIDO LÁCTICO CON ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA Y ANTIOXIDANTE PARA POTENCIAL USO EN ENVASES DE ALIMENTOS . 413
J. E. Bruna, M. Castillo, R. Ocampo, F. Rodríguez, A. Guarda, Ma. José Galotto
- 71 MEJORA DE LA CALIDAD DE PANES SIN GLUTEN A TRAVÉS DE MEZCLAS DE ALMIDONES DE MAIZ Y TRIGO Y HARINAS DE ARROZ ... 421
Cristina Merino, Camino M. Mancebo, Mario M. Martínez, Manuel Gómez
- 72 LOS ACEITES ESENCIALES EN EL CONTROL DE *BIPOLARIS* AISLADO DEL ARROZ DE VALENCIA..... 428
Josefa Roselló, Francisca Sempere, Silvia Giménez, Maria Pilar Santamarina
- 73 INTERACCIONES ANTAGONISTAS ENTRE EL HONGO PATÓGENO DEL ARROZ *Phoma glomerata* (Corda) Wollenweber & Hochapfel Y *Trichoderma Harzianum* Rifai 435
Francisca Sempere, Silvia Giménez, Josefa Roselló, Maria Pilar Santamarina
- 74 LA PROTEÓMICA COMO ALTERNATIVA CAPAZ DE DISCRIMINAR ENTRE ESPECIES CARNICAS ESTRECHAMENTE RELACIONADAS PRESENTES EN LOS ALIMENTOS 443
Alberto Massa, Enrique Sentandreu, Miguel Ángel Sentandreu
- 76 AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DE PÃES DE TRIGO E DE ARROZ SUPLEMENTADO COM *SPIRULINA* 450
Selmo, M. S., Fagundes, G. A., Salas-Mellado, M. M.

- 77 EFEITO DA ADIÇÃO DE PROTEÍNAS DE COBIA (*RACHYCENTRON CANADUN*) SOBRE AS CARACTERÍSTICAS TECNOLÓGICAS DE PÃES DE TRIGO 458
Fagundes, G. A.; Salas-Mellado, M. M.
- 78 AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE E DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE GOIABA MINIMAMENTE PROCESSADA ADICIONADA DE *Lactobacillus Acidophilus*..... 465
 Marcela Zonta Rodrigues; Aline Inacio Alves; Eliane Maurício Furtado Martins; Maurílio Lopes Martins; Edimar Aparecida Filomeno Fontes; Afonso Mota Ramos
- 79 VIABILIDADE DE CULTURAS PROBIÓTICAS EM GOIABA MINIMAMENTE PROCESSADA IMPREGNADA A VÁCUO..... 473
 Marcela Zonta Rodrigues; Aline Inacio Alves; Maurílio Lopes Martins; Edimar Aparecida Filomeno Fontes; Eliane Maurício Furtado Martins; Afonso Mota Ramos
- 80 EFECTO DE TENSOACTIVOS SOBRE LAS PROPIEDADES ESTRUCTURALES Y DE BARRERA DE PELÍCULAS A BASE DE ALMIDÓN 481
Rodrigo Ortega-Toro, Alberto Jiménez Marco, Pau Talens Oliag, Amparo Chiralt Boix
- 81 PELÍCULAS A BASE DE ALMIDÓN E HIDROXIPROPIL-METIL-CELULOSA. INFLUENCIA DEL ÁCIDO CÍTRICO COMO AGENTE DE ENTRECruzAMIENTO..... 489
Rodrigo Ortega-Toro, Pau Talens Oliag, Amparo Chiralt Boix
- 82 ELABORACIÓN DE DULCE TIPO BOCADILLO CON DIFERENTES FRUTAS, CON FRUCTOSA Y STEVIA (*Stevia Rebaudiana Bertoni*)..... 498
 Juan Manuel Moreno, Juan David Sánchez, Diego Súa, Martha M. Cuenca
- 83 CLASIFICACIÓN DE HIDROMIELES UTILIZANDO TÉCNICAS ELECTROQUÍMICAS Y QUIMIOMÉTRICAS 505
Martha María Cuenca, Luis Alejandro Palacios, Carlos Mario Zuluaga Matteo Scampicchio
- 84 UTILIZACIÓN DE TÉCNICAS ELECTROQUÍMICAS PARA MONITOREAR EL PROCESO FERMENTATIVO PARA OBTENCIÓN DE HIDROMIEL 513
Martha M. Cuenca, Amaury Blanco Carlos Mario Zuluaga, Matteo Scampicchio
- 85 AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DE DIFERENTES MEMBRANAS POLIMÉRICAS COMERCIAIS NA DESSOLVENTIZAÇÃO DE ÓLEOS COMESTÍVEIS 521
 MSc. Katia Rezzadori; Eng. Frederico Marques Penha; Eng. Mariane Carolina Proner; Dr. Marco Di Luccio; Dr. José Carlos Cunha Petrus

- 86 PROPIEDADES FÍSICAS Y ANTIFUNGICAS DE FILMS DE ALMIDÓN-GELATINA CON ACEITES ESENCIALES..... 529
Sandra Acosta, Chelo González-Martínez, Josefa Rosello Caselles, María Pilar Santamarina Siurana, Amparo Chiralt, Maite Cháfer
- 87 APLICACIÓN DE UN RECUBRIMIENTO COMESTIBLE PARA AUMENTAR LA VIDA ÚTIL EN CARNE DE POLLO. 539
Acevedo, N.; Riquelme, N; Matiacevich, S.
- 88 ESTUDIO DE LOS FACTORES QUE AFECTAN LA LIBERACIÓN PROLONGADA DE CARVACROL ENCAPSULADO EN PELÍCULAS COMESTIBLES DE ALGINATO..... 547
Almonacid, M.J.; Riquelme, N; Matiacevich, S.
- 89 EFECTOS DE LA ADICIÓN DE INULINA, POLIDEXTROSA Y AÍSLADO PROTEICO SOBRE LA CALIDAD SENSORIAL DE QUESO GOUDA REDUCIDO EN CALORIAS..... 555
Molina, R. P.; Gertosio, C. A.; Medina, A. E. y Acevedo, C. A.
- 90 FORMULACION Y DESARROLLO DE UN GEL DE FRUTAS A PARTIR DE PULPA DE MANZANA 563
Cecilia Gertosio S.; Katherinne Saavedra R.; Paulina Sandoval T.
- 91 CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA, TEXTURAL, REOLÓGICA Y SENSORIAL DE QUESOS TIPO PANELA ELABORADOS CON MEZCLAS DE LECHE DE CABRA Y VACA..... 571
Carolina Ramírez-López, Jorge Fernando Vélez-Ruiz
- 92 AISLAMIENTO, SELECCIÓN Y CARACTERIZACIÓN FUNCIONAL DE CEPAS AUTÓCTONAS DE LECHE Y QUESOS ARTESANALES DE CABRA PARA LA ELABORACIÓN DE CULTIVOS INICIADORES 580
Carolina Ramírez-López, Jorge Fernando Vélez-Ruiz
- 93 DETERMINAÇÃO DO CALOR ESPECÍFICO DE SUSPENSÕES AQUOSAS DE BIOMASSA DE RESÍDUOS DE AMENDOIM..... 589
Tiago Carregari Polachini, Javier Telis-Romero, Renato Alexandre Ferreira Cabral
- 94 FENOMENOLOGIA DA APLICAÇÃO DE ULTRASSOM DE POTÊNCIA EM SUSPENSÕES DE CASCAS DE AMENDOIM EM PÓ PELO MÉTODO CALORIMÉTRICO 595
Tiago Carregari Polachini, Javier Telis-Romero
- 95 INFLUÊNCIA DA POTÊNCIA ULTRASSÔNICA NA HIDRÓLISE DE BIOMASSA EM SUSPENSÃO PROVENIENTE DE RESÍDUOS DE AMENDOIM 602
Tiago Carregari Polachini, Javier Telis-Romero

- 96 APLICACIÓN DE LA MATRIZ DE CALIDAD EN EL DESARROLLO DE UNA MIEL CREMOSA CON MACADAMIA (*Macadamia Integrifolia*)..... 607
Leidy Marcela Montoya Devia, Mónica Patricia Osorio Tangarife Nelson Rodríguez Arias; Guillermo Salamanca Grosso
- 97 EFECTO DE LA HOMOGENEIZACIÓN A ULTRA ALTA PRESIÓN (UHPH) EN LA ESTABILIDAD FÍSICA DE EMULSIONES SUBMICRÓN DE ACEITE DE SOJA EN AGUA..... 616
C. Fernández-Ávila, J. Sánchez, B. Juan, A.J. Trujillo
- 98 MONITORIZACIÓN DEL SALADO EN PILA DE *LONGISSIMUS DORSI* MEDIANTE ULTRASONIDOS DE SEÑAL 622
M. de Prados, J.V. García-Pérez, E. Fulladosa, A. Mulet, J. Bedito
- 99 CINÉTICAS DE SECADO ASISTIDO POR ULTRASONIDOS DE ALTA INTENSIDAD DE PIÑA (*Ananas comosus* (L.) Merr) PRETRATADA OSMÓSTICAMENTE 630
J.L.G. Corrêa, M.C. Rasia, J.V. Garcia-Perez, A. Mulet, J.A. Cárcel
- 100 MODELIZACIÓN DE LA DIFUSIÓN DEL NITRITO DE SODIO EN CARNE DE CERDO..... 638
Gómez, J., Clemente, G., Sanjuán, N., Bon, J., Mulet, A.
- 101 INFLUENCIA DE LA APLICACIÓN DE ULTRASONIDOS EN LA CINÉTICA DE SECADO A BAJA TEMPERATURA DE BACALAO DESALADO 646
M. E. Guerrero, J. V. García-Pérez, A. Mulet, C. Roselló, J. A. Cárcel

Actas Sesiones Plenarias

LA BIOACCESIBILIDAD COMO PARÁMETRO DE OPTIMIZACIÓN DE PROCESOS ALIMENTARIOS Y DESARROLLO DE NUEVOS PRODUCTOS

Ana Andrés y Ana Heredia

Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo. Universitat Politècnica de València. Camino de Vera s/n, 46022 Valencia (España)
aandres@upv.es

1. INTRODUCCIÓN

El interés de los consumidores por alimentos con beneficios notables para las funciones fisiológicas del organismo es una tendencia mundial, y es cada vez mayor (Tojo et al., 2003). Atrás quedó la concepción del siglo XIX, donde el alimento era tan sólo un aporte seguro y adecuado de energía, así como de macro y micronutrientes. Del concepto de “*Alimento Sano*”, es decir aquel alimento que no presenta ningún riesgo para la salud y que conserva su capacidad nutricional y frescura (Diplock et al., 1999), se ha pasado al de “*Alimento Funcional*”, definido como un alimento que se consume como parte de un patrón normal de alimentación, que contiene componentes naturales en concentraciones modificadas o no, y que aporta además de su valor nutritivo, un efecto beneficioso para el organismo al proporcionar bienestar y reducir el riesgo de padecer diferentes enfermedades (ILSI, 1999). En este contexto, las ciencias médicas también ven en los alimentos funcionales una estrategia para la prevención y el tratamiento de las enfermedades crónicas no transmisibles, que se han convertido en las primeras causas de mortalidad en todo el mundo. Obesidad, diabetes, colesterol, celiaquía, son enfermedades que ya se abordan desde la estrategia de la alimentación funcional. Pero también hay otras enfermedades, que unidas a las particularidades de determinados segmentos de la población, pueden ser tratadas a través de una nueva categoría de alimentos denominados “*Alimentos Clínicos*”. Concretamente los pacientes pediátricos y los pacientes geriátricos con enfermedades crónicas, son los que más pueden beneficiarse del desarrollo de este tipo de alimentos, debido a que la administración diaria de suplementos a niños y ancianos, resulta muchas veces complicada, por ejemplo por dificultades de deglución o rechazo al formato del suplemento.

En los últimos años se han realizado numerosos esfuerzos en el desarrollo e incorporación de nuevas tecnologías de *micro* y *nanoencapsulación* de compuestos bioactivos para la formulación de alimentos. Pero el desarrollo de formas más amigables para la administración de suplementos y compuestos bioactivos debe hacerse desde un enfoque multidisciplinar, en el que se integre también la perspectiva de los profesionales de la salud con la perspectiva de la ciencia e ingeniería de alimentos, y de otras disciplinas como la nanotecnología o la ciencia de biomateriales. Sin embargo, este no es el enfoque habitual en la mayoría de los numerosos trabajos orientados a la microencapsulación de compuestos bioactivos. La elección de la tecnología y los materiales de encapsulación se suele hacer únicamente desde la perspectiva de la estabilización y preservación de la funcionalidad del compuesto que se microencapsula, de manera que el resultado será un producto, que podrá funcionar o no, en función de la matriz a la que se incorpore, y las variables de proceso y conservación a las que se someta el producto.

2. BIOACCESIBILIDAD y BIODISPONIBILIDAD

Es bien sabido que los beneficios de un compuesto bioactivo, una vez superado el “*Proceso Industrial*”, depende de las transformaciones que experimenta durante el “*Proceso Digestivo*”. En este último, el alimento es sometido a nuevas variables de proceso que desencadenan cambios y reacciones importantes, por lo que es necesario ir mas allá de la aplicación industrial, y plantear la optimización del proceso analizando los cambios que se van a producir durante el proceso digestivo, para saber en qué condiciones, llegan los macro y micronutrientes a la etapa duodenal para su absorción.

De ahí la importancia de la bioaccesibilidad como parámetro de optimización en la producción y elaboración de alimentos, ya que el primer paso para que un nutriente esté biodisponible, es que su liberación de la matriz alimentaria sea *posible* y *máxima*, así como su conversión en una forma química que pueda unirse e introducirse en las células del intestino o incluso atravesarlas. Posteriormente, su Biodisponibilidad dependerá de la cantidad absorbida que alcance el torrente sanguíneo.

La fracción de la dosis ingerida finalmente biodisponible, es el resultado de un proceso de reducción paso a paso, de manera que para optimizar la biodisponibilidad, su reducción en cada etapa, debe ser la mínima posible.

Los pasos iniciales vienen determinados por los parámetros fisicoquímicos de los ingredientes activos, y por la microestructura del alimento (Bioaccesibilidad); mientras que

posteriormente, son la bioquímica y la fisiología del consumidor las que juegan un papel más importante en la Biodisponibilidad.

Por tanto, es en esas etapas iniciales en las que deben centrarse los esfuerzos desde la Ingeniería de Alimentos para Optimizar los Procesos. Afortunadamente, contamos ya con numerosos estudios que nos van a permitir afrontar este reto, y utilizar el conocimiento generado para modular el comportamiento digestivo de los alimentos y provocar determinadas respuestas fisiológicas. Sabemos que la biodisponibilidad de los macronutrientes (proteínas, carbohidratos y grasas) es en general bastante alta (90%), pero tendemos a pensar sobre su comportamiento digestivo de una manera generalista.

Así por ejemplo, sabemos que las proteínas son los macronutrientes con mayor poder saciante, pero no todas las proteínas son iguales. Algunas se digieren y se absorben rápidamente, mientras que otras pueden influir en el metabolismo de la glucosa.

Además, existen indicios de que las interacciones de las proteínas con las enzimas proteolíticas y los surfactantes fisiológicos en el tracto gastrointestinal, juegan un papel muy importante en la digestión de las proteínas, por lo que profundizar en estudios de este tipo y esclarecer estas interacciones permitiría fabricar alimentos para una óptima nutrición de los consumidores.

Otro ejemplo, lo tenemos con los carbohidratos con los que tampoco podemos ser generalistas. Sabemos que la calidad nutricional del almidón depende fuertemente del procesado y de sus características fisicoquímicas.

Los Carbohidratos de digestión lenta, como el almidón nativo de maíz o la Isomaltulosa, ofrecen la ventaja de un aumento lento de los niveles de glucosa en sangre y un mantenimiento de dichos niveles durante más tiempo, influyendo en la saciedad, rendimiento físico y mental.

El manejo adecuado de las grasas es otra de las estrategias que se sabe que puede aportar beneficios en varias áreas. Así pues, la ingesta de lípidos puede controlarse mediante sistemas de emulsiones complejas, y por otro lado, las estructuras coloidales lipídicas pueden utilizarse para el diseño de sistemas de liberación controlada de compuestos bioactivos.

Pero no son los macronutrientes los que presentan más problemas de biodisponibilidad, ni los que más metabolitos generan, de ahí que casi todos los trabajos científicos que encontramos se centran en el estudio de los factores de afectan a la biodisponibilidad de compuestos bioactivos: vitaminas, minerales y fitoquímicos.

Si observamos cómo evolucionan en general, el contenido y la bioaccesibilidad de algunos nutrientes a lo largo de la cadena alimentaria, nos encontramos con un patrón en el que la concentración de compuesto activo disminuye mientras que su bioaccesibilidad aumenta (Parada & Aguilera, 2007). Se observa además que los principales cambios se dan al inicio y dependen de la variedad, condiciones de cultivo, etc., de las condiciones de almacenamiento, y del procesado, de manera que deberíamos orientar los objetivos hacia la minimización de las pérdidas y el aumento de la Bioaccesibilidad.

3. FACTORES AFECTAN A LA BIOACCESIBILIDAD DE NUTRIENTES

Los factores que podemos modular desde la Tecnología de Alimentos son los que se conocen como factores externos:

MATRIZ ALIMENTARIA. El efecto matriz es uno de los más importantes. Tanto para liberar compuestos activos como para incorporarlos, debemos tener muy presente los distintos elementos estructurales de la matriz (paredes celulares, gránulos de almidón, proteínas, gotas de agua o aceite, cristales de grasa, burbujas de gas, etc.) y su comportamiento durante el procesado industrial y digestivo. Así por ejemplo, para la liberación de un compuesto durante el procesado, la masticación o la digestión, necesitamos conocer la microestructura de la matriz y la localización del compuesto dentro de la matriz (Parada & Aguilera, 2007). La matriz juega un papel tan importante que por ejemplo gran parte de las estructuras del tejido de las almendras permanecen intactas después de la masticación y la digestión impidiendo la liberación de los lípidos intracelulares (Ellis et al., 2004).

LA FORMA QUÍMICA DEL NUTRIENTE. Los minerales y otros nutrientes existen en distintas formas químicas en los alimentos, y esto puede influir en su bioaccesibilidad. Son numerosos los ejemplos nos sirven para ilustrar este factor de bioaccesibilidad:

- Hierro Hemo (procedente de la carne, pescado y aves) y Hierro no Hemo, menos soluble (y que encontramos en otros productos de origen animal y en vegetales).
- Los Folatos y Ácido fólico. El ácido fólico que se añade es más biodisponibles que el natural que procede de los folatos (frutas, verduras o hígado) presentando de un 20 a 70% menor biodisponibilidad.
- El isómero *Trans* del Licopeno es la forma mayoritaria en tomate crudo y es menos biodisponible mientras que la forma *Cis*, más biodisponible, es mayoritaria en los productos de tomate tratados térmicamente.

EL PROCESADO. Es otro de los factores que influyen en la Bioaccesibilidad y que puede modularse en distintas etapas de la cadena alimentaria:

- en la etapa de los tratamientos Postcosecha, mediante el uso de condiciones adecuadas para garantizar la estabilidad de vitaminas y minerales,
- en los Procesos Industriales de separación o extracción de ingredientes, transformación y conservación, en los procesos de formulación y mezclado, etc.
- adecuando las condiciones de Almacenamiento y Distribución para controlar la Degradación Oxidativa, ó
- mediante el uso de nuevas Tecnologías: Altas Presiones Hidrostáticas, Pulsos Eléctricos, Ultrasonidos de Potencia, etc.

El procesado puede mejorar la Bioaccesibilidad como consecuencia de distintos mecanismos, como son:

- la disrupción o rotura de paredes celulares, que se produce por ejemplo en los procesos de molienda.
- la disociación del complejo que a veces forma el nutriente con la matriz, ó
- la transformación en estructuras moleculares más activas como sucede en algunos productos de la fermentación.

En el caso concreto de los tratamientos térmicos, los cambios de bioaccesibilidad se deben fundamentalmente a:

- cambios en la estructura de la matriz; con el consiguiente aumento de la extractabilidad
- inactivación enzimática
- desnaturalización de proteínas como sucede con la avidina del huevo que en condiciones naturales impide la absorción de biotina, ó
- isomerización como hemos comentado que sucede con el licopeno.

INTERACCIONES CON LA MATRIZ. Otro de los factores que condicionan la bioaccesibilidad es el de las interacciones entre ingredientes. Algunas interacciones resultan ser positivas por lo que se suele hablar de sustancias *potenciadoras* o *cofactores*, mientras que otras ejercen su efecto a través de mecanismos de *inhibición* o *supresión*.

Los potenciadores pueden actuar de formas diferentes, manteniendo el nutriente soluble (ej: Vitamina C y Hierro, ó los Carotenoides y grasa), o protegiéndolo de la acción de los inhibidores. En cuanto a la inhibición, se produce fundamentalmente de 3 formas:

- Uniéndose al compuesto activo de forma que no pueda ser reconocido por las células intestinales. (Ej: Fitoesteroles y Colesterol)

- Insolubilizando el nutriente e impidiendo su absorción. (Ej: ácido fítico y Ca) ó
- Compitiendo por el mismo sistema de utilización (Ej: Ca y Fe no hemo) ya que ambos minerales se unen a un mismo transportador en la superficie de las células intestinales.

En la literatura podemos encontrar algunos estudios de interacciones entre nutrientes y su relación con la bioaccesibilidad (Papadopoulou & Frazier, 2004), pero son escasos por lo que sería conveniente abordar más estudios con este enfoque si se quiere progresar en este sentido.

MEAL FACTORS o interacción con otros alimentos ingeridos durante la misma comida. Las interacciones entre ingredientes, pueden darse por estar en la misma matriz, o bien por la ingesta combinada de distintos alimentos. Un buen ejemplo para ilustrar la importancia de este factor está muy bien reflejado en un *review* publicado recientemente en el *Progress in Lipid Research* (Michalski et al., 2013). Este trabajo describe los factores que influyen en el metabolismo de los lípidos y la biaccesibilidad de los ácidos grasos. Así pues, el tipo de *carbohidrato* presente en la dieta influye notablemente en los niveles de lípidos en sangre, de manera que:

- los azúcares lo aumentan
- los almidones no influyen
- las fibras lo disminuyen

Los mecanismos que parecen explicar estos efectos son:

- la modificación del tiempo de vaciado gástrico que provoca la glucosa, oligosacáridos y algunas fibras,
- el aumento de la viscosidad del bolo (Fibras), lo que dificulta la emulsificación y la hidrólisis enzimática de las grasas, y que
- algunas fibras presentan un efecto inhibitorio de las lipasas pancreáticas.

También el tipo de *proteína* influye notablemente en los niveles de colesterol en sangre (HDL). Según un estudio en ratas se observó que el nivel de lípidos en sangre era menor en las ratas alimentadas con proteína de pescado que las que se alimentaron con caseína (Shukla et al., 2006). Sin embargo, cuando la caseína se combinó con proteína de soja, los niveles fueron menores que con caseína sola. La diferente hidrofobicidad y capacidad de unirse a los ácidos biliares de las distintas proteínas parece ser el mecanismo que justifica estas diferencias.

También los *minerales* pueden repercutir en la bioaccesibilidad de las grasas ya que los ácidos grasos saturados de cadena larga forman con algunos cationes divalentes (principalmente Ca y Mg) complejos insolubles (jabones) que se excretan con las heces.

Los factores anteriormente citados (efecto matriz, forma química, procesado, interacción con otros compuestos, etc.) son los llamados factores externos que afectan a la bioaccesibilidad de nutrientes. Después también influyen obviamente los llamados factores internos: el sexo, la edad, el estado nutricional y la etapa de la vida (ej: lactancia, crecimiento, embarazo, vejez), que si bien no los podemos modular desde la tecnología de alimentos, deben tenerse en cuenta en el planteamiento de los proyectos de I+d+i.

4. BIOACCESIBILIDAD Y DEMANDA DE ALIMENTOS SALUDABLES

En base a los conceptos de Bioaccesibilidad y Biodisponibilidad y los factores que afectan a estos dos parámetros tan importantes, se deduce que para dar respuesta a la creciente demanda de alimentos saludables es necesario entender no solo la mera composición de los productos y concentración de compuestos bioactivos, sino también los mecanismos y factores que modulan su liberación de la matriz alimentaria y su conversión a una forma química para que pueda unirse e introducirse en las células del intestino.

Pero la bioaccesibilidad y biodisponibilidad de los nutrientes es muy variada, y no necesariamente los compuestos más abundantes en la ingesta son los que conducen a mayores concentraciones de metabolitos activos en los tejidos.

Actualmente disponemos de numerosas *Bases de Datos de Composición de alimentos* en las que en pocos casos se incluye información sobre compuestos bioactivos, y prácticamente en ningún caso se incluye información sobre parámetros de bioaccesibilidad.

También es sabido que el procesado y la formulación de alimentos juegan un papel importante en la bioaccesibilidad de los compuestos activos, por lo que este concepto se ha convertido en un parámetro clave en la optimización de los procesos alimentarios y en el desarrollo de alimentos funcionales y alimentos clínicos.

Los procesos tecnológicos de fabricación de alimentos han ido evolucionando progresivamente en base a objetivos de *mejora de la eficiencia energética, rendimiento de producción y mejora de la calidad y seguridad alimentaria*, y también en base a objetivos de *mejora del valor nutricional*. Pero ha llegado el momento de dar un paso más allá; incrementar la digestibilidad de nutrientes, aumentar la bioaccesibilidad, así como la destrucción de factores antinutricionales son objetivos alcanzables con un adecuado manejo de las tecnologías y variables de proceso.

La optimización de procesos forma parte de la estrategia para afrontar los grandes retos sociales algunos de los cuales están directamente relacionados con los alimentos: sostenibilidad, alimentación y salud, y asegurar el acceso de alimentos a toda la población.

Desde la Tecnología de Alimentos se ha hecho y se puede seguir haciendo mucho en relación a estos retos, y en especial para afrontar este último. Según la FAO, en 2012 el hambre crónica afectó a 1.040 millones de personas en el mundo, agravado por el alza en el precio de los alimentos y la crisis económica.

Según las previsiones de aumento de población, en 2050 necesitaremos un 70% más de alimentos, y un 100% más en 2100. Ante esta situación está claro que tenemos que desperdiciar menos, y producir más, pero también podemos afrontar este reto *Optimizando la Bioaccesibilidad*; mejorar la Bioaccesibilidad de los alimentos que producimos es también una cuestión ética, ya que permite maximizar el uso de los recursos y la inversión/beneficio del consumidor.

5. REFERENCIAS

- Diplock AT, Aggett PJ, Ashweel M, Bornet F, Fern EB, Roberfroid M. 1999. Scientific Concepts of Functional Foods in Europe - Consensus Document. *Br. J. Nutr.*, 81(1):1-27.
- Ellis, P.R., Kendall CW, Ren Y, Parker C, Pacy JF, Waldron KW, Jenkins DJ (2004) Roll of Cell walls in the bioavailability of lipids in almond seeds. *Am J Clin Nutr* 80: 604-13.
- ILSI Europe. 1999. Scientific Concepts of Functional Foods in Europe: Consensus Document. *Br. J. Nutr.*, 81(1):S1-S27
- Michalski M.C., Genot C., Gaayet C., Lopez F., Joffre F., Vendeuvre J.L., Bouvier J., Chardigny J.M., Raynal-Ljutovac K., Multiscale structures of lipids in foods as parameters affecting fatty acid bioavailability and lipid metabolism. *Progress in Lipid Research*, 52, 354-373.
- Papadopoulou, A., Frazier, R. (2004) Characterization of Protein-polyphenol interactions. *Trends in Food Science & Technology*, 15, 186-190.
- Parada, J, Aguilera J.M. (2007) Food Microstructure Affects the Bioavailability of Several Nutrients. *Journal of Food Science*, 72 (2), 21-32.
- Shukla A, Bettzieche A, Hirche F, Brandsch C, Stangl GI, Eder K, (2006) Dietary fish proteins alters blood lipid concentration and hepatic genes involved in cholesterol homeostasis in the rat model. *Br J Nutr* 96, 674-682.
- Tojo Sierra, R.; Leis Trabazo, R.; Tojo González, R. 2003. Probióticos y prebióticos en la salud y enfermedad del niño. *Gastroenterol. Hepatol.*, 26(1):37-49.

MATERIALES BIODEGRADABLES PARA EL ENVASADO ACTIVO DE ALIMENTOS A BASE DE ALMIDÓN

Amparo Chiralt

Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo (IAD). Universitat Politècnica de Valencia

INTRODUCCIÓN

La necesidad de desarrollar envases biodegradables que contribuyan a minimizar el impacto medioambiental de los plásticos derivados del petróleo, haciendo uso de fuentes renovables, es uno de los retos de nuestra sociedad y aparece como prioridad en los programas de investigación de la mayoría de los países desarrollados. A su vez, las tecnologías de envasado activo, basadas en la liberación de agentes capaces de retardar el deterioro microbiológico y oxidativo de los alimentos generan gran interés y expectativas en la industria alimentaria, al posibilitar la comercialización de alimentos con mayor calidad, seguridad y vida útil (Fortunati et al, 2012). No obstante, la presencia en el mercado de envases biodegradables activos es muy escasa, dada la necesidad de desarrollar materiales competitivos por precio y propiedades y a la dificultad de incorporación de los bioactivos, normalmente termolábiles, en los procesos de termoformado de los films. Así mismo, el control de la cinética de liberación de los compuestos activos, permitiendo su migración al alimento a la velocidad y en la extensión adecuadas es otro reto que exige estudios específicos.

Los bioplásticos han pasado a ser el centro de atención en conferencias y entornos científico-tecnológicos sobre materiales. Pueden ser de fuentes renovables o de síntesis, pero son biodegradables o compostables y su utilización se ha incrementado en muy diversos campos industriales, biomédicos, alimentarios, etc. Muchas grandes empresas del sector de materiales han creado divisiones especializadas en la producción de plásticos de este tipo. Como consecuencia, ha habido un gran incremento en la producción mundial de bioplásticos de los cuales el 40 % aproximadamente se dedica el sector de envases. La figura 1 ilustra cuales son los productos mayormente utilizados en ese sentido, de los cuales, el almidón, los poli-hidroxi-alcanoatos (PHA) y ácido poli-láctico (PLA), seguidos por los poliésteres biodegradables, son los materiales con una mayor utilización.

El almidón es un gran protagonista en este contexto debido a que se obtiene de fuentes renovables, es biodegradable, altamente disponible y tiene bajo coste. Además, una vez gelatinizado, posee propiedades termoplásticas que permiten su procesado para la obtención

de films por las técnicas convencionales de la industria de plásticos (extrusión, moldeo por compresión, ...). No obstante, los films de almidón presentan deficiencias como material de envase: excesiva fragilidad y baja extensibilidad, gran capacidad de humectación, bajo poder barrera al vapor de agua y envejecimiento (Jimenez et al. 2012a). La combinación del almidón con otros biopolímeros, plastificantes, compatibilizadores o nanopartículas de arcillas, fibras o celulosa, puede permitir la adecuación de sus propiedades a las necesidades del envasado, pero se requieren estudios de optimización de la formulación y condiciones de obtención del material compuesto. Por otro lado, la incorporación de compuestos antioxidantes y antimicrobianos a los films de almidón es de gran interés para la obtención de films bioactivos que permitan alargar la vida útil de los productos envasados. Entre los posibles compuestos activos, los aceites esenciales de plantas, y algunos de sus componentes aislados, reúnen la doble propiedad de ser antimicrobianos y antioxidantes, además de ser seguros (FDA) (López et al., 2007; Sanchez González et al., 2011). La incorporación de micro y nano partículas a films de almidón ha sido analizada por diferentes autores (Curvelo et al., 2001, Arvanitoyannis & Kassaveti, 2009; Vázquez & Álvarez, 2009). Estos films se han denominado *biocomposites* y los rellenos estudiados son tanto orgánicos (como fibras de celulosa) como inorgánicos (arcillas). En general, se han obtenido los resultados satisfactorios en cuanto a la mejora en las propiedades mecánicas y de barrera al vapor de agua. También se han observado modificaciones en la Tg del almidón (Carvalho et al. 2001), que reflejan las interacciones del polímero con el material de relleno, que pueden contribuir a la fluencia del material durante el termoprocesado y que indican la necesidad de adaptar las condiciones del proceso en cada caso. En este capítulo, se discuten algunos de los resultados obtenidos en cuanto a la influencia de la incorporación de otros compuestos moleculares o poliméricos en las propiedades de los films de diferentes tipos de almidón.

Efecto de la incorporación de lípidos

El efecto de la incorporación de lípidos a los films de almidón ha sido bastante estudiado. Lo esperable de la presencia de lípidos en la matriz es que reduzcan su afinidad con el agua promoviendo la mejora de las propiedades barrera al vapor de agua que es uno de los problemas de los films de almidón, a pesar de su baja permeabilidad al oxígeno, especialmente en los films con alto contenido en amilosa (Cano et al., 2014). No obstante, dada la inmiscibilidad de los lípidos con el almidón su incorporación da lugar a una microestructura heterogénea en el film, afectando esto a sus propiedades físicas (Jiménez et al., 2012b). La figura 2 muestra la sección transversal de films de almidón de maíz, con

glicerol como plastificante, observada por SEM, sin lípido y con tres lípidos diferentes: ácido palmítico, esteárico y oleico. La incorporación del lípido se traduce en la formación de una fase dispersa del mismo que interrumpe la matriz continua de polímero. Las imágenes de microscopía de fuerza atómica (AFM) de las superficies de los films también reflejan alta heterogeneidad superficial, con partículas de lípidos que migran a la superficie durante la etapa de secado debido a fenómenos de floculación, coalescencia y cremado en la emulsión de partida (Ortega-Toro et al., 2014a).

Otra información relevante se obtiene de los espectros de difracción de rayos X. La figura muestra estos difractogramas para films de almidón de maíz con ácidos grasos, almacenados durante 1 y 5 semanas. Se observa la formación de formas cristalinas tipo V, propias de los complejos amilosa-lípido con un pico máximo a $\theta=20^\circ$ y en las muestras con lípidos también cristalizan los ácidos grasos (picos más finos) característicos, incluso en las que tienen OA a tiempos más largos de almacenamiento, a pesar del estado líquido habitual de este lípido. La formación de estas formas cristalinas potencia en gran medida la fragilidad de los films (Jiménez et al 2012b; Ortega-Toro, 2014a). En la tabla 1 se dan los valores de los parámetros mecánicos para films de almidón con y sin lípidos, donde puede apreciarse el gran acortamiento de la extensibilidad en el punto de fractura, a las 5 semanas, incluso para el film con ácido oleico que era el más extensible a 1 semana de almacenamiento. Los films son duros (altos valores del módulo de elasticidad) pero muy frágiles, sobre todo con el almacenamiento. Cuando se equilibran a alta humedad relativa, la respuesta mecánica cambia mucho por el alto nivel de humectación del film: se hacen más extensibles, pero mucho menos duros y resistentes debido al efecto plastificante del agua que disminuye además en gran medida sus propiedades barrera (Jiménez et al 2013a).

Por otro lado, la disminución esperada de la permeabilidad al vapor de agua por los lípidos no es muy relevante, como puede apreciarse en los valores reflejados en la tabla 1, y además aumenta con el tiempo. La permeabilidad al oxígeno, aunque siguen con valores bajos, aumenta con la incorporación de lípidos debido a que se potencia la solubilidad del gas en la matriz y, especialmente, si estos están en estado líquido (Fabra et al., 2012). Los films además pierden transparencia y brillo con la adición de lípidos y con el tiempo de almacenamiento.

Efecto de la mezcla con otros polímeros.

La mezcla con otros biopolímeros ofrece buenas expectativas, dependiendo de la compatibilidad de los polímeros. Por ejemplo, con quitosano, hay una muy buena

miscibilidad. Los films con diferentes proporciones de ambos son homogéneos, tal como describen Bonilla et al. (2013a) a través de las imágenes de SEM de mezclas con diferentes proporciones con almidón de trigo y quitosano, con glicerol como plastificante. Las mezclas presentan además una notable mejora en las propiedades mecánicas con respecto a los films de almidón. Los films de quitosano puro son más fuertes que los de almidón y con una mayor extensibilidad. Su incorporación a los films de almidón potencia mucho su extensibilidad y aumenta su resistencia a la fractura. Con un 20% de quitosano ya se obtienen grandes mejoras. Además los films mixtos son mucho más estables en su respuesta mecánica que los de almidón, lo que significa que los procesos de cristalización de la amilosa se inhiben en bastante proporción (Bonilla et al., 2013a). Los valores de la permeabilidad al vapor de agua y al oxígeno no experimentan grandes cambios ya que las dos matrices son bastantes higroscópicas, con muy baja permeabilidad al oxígeno. La adición de quitosano convierte en bioactivos a los films de almidón debido al poder antimicrobiano del quitosano, en especial contra las bacterias gram negativas (Sanchez-González et al., 2011). Los films mixtos almidón-quitosano presentaron efecto antimicrobiano en carne de cerdo picada, inhibiendo el crecimiento de coliformes y aumentando la vida útil del producto. La efectividad fue ligeramente menor que con films de quitosano puro, pero muy significativa (Bonilla et al., 2014).

Cuando a los films mezcla almidón-quitosano se les incorporaron antioxidantes como aceites esenciales de albahaca o tomillo, ácido cítrico o tocoferol, las propiedades mecánicas cambiaron muy poco, pero los films fueron menos permeables al oxígeno y con ácido cítrico y tocoferol fueron menos permeables al vapor de agua, a la vez que todos presentaron poder antioxidante (Bonilla et al., 2013b).

Las mezclas de almidón de maíz con caseinato sódico, proporcionaron también films homogéneos debido a la buena compatibilidad de los polímeros (Jiménez et al. 2013). Los espectros de difracción de rayos X de estos films mostraron el carácter amorfo de los films proteicos, y también de los que contienen almidón-proteína 50:50, donde tampoco se observaron picos finos en el difractograma. Esto refleja la inhibición de la cristalización de la amilosa en presencia de una proporción adecuada de caseinato y, aunque los films son menos fuerte que los de almidón puro y se debilitan más con el tiempo, presentan una mayor extensibilidad a diferentes tiempos de almacenamiento, especialmente los que contienen proporciones similares de almidón y proteína. La propiedades barrera al vapor de agua no cambiaron notablemente por la adición de proteína, aunque aumentó la permeabilidad al oxígeno, lo cual es coherente con la mayor permeabilidad de la fracción proteica (Jiménez et

al. 2012c). La incorporación de tocoferol como antioxidante en estos films mixtos almidón-caseinato sódico 1:1, con o sin ácido oleico para promover la hidrofobicidad de la matriz, dió lugar a separación de fases en los films, no solo de la fase lipídica sino de las fases poliméricas, potenciada por la diferente afinidad química de los lípidos con la proteína y con el almidón. En el film con ácido oleico se observó la formación de dos capas, la inferior rica en almidón y la superior rica en proteína y lípidos. La incorporación de tocoferol potenció también la separación de los polímeros formándose dos redes interpenetradas. Sin embargo, las propiedades mecánicas mejoraron considerablemente, sobre todo con el almacenamiento, y los films mixtos con lípidos se volvieron menos frágiles y mucho más extensibles. Además, la presencia de tocoferol impartió carácter antioxidante a los films, reduciendo la permeabilidad al oxígeno, sin afectar de manera relevante a los valores de la permeabilidad al vapor de agua (Jiménez et al. 2013b).

En las mezclas de almidón de maíz con hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), no se dio miscibilidad de los polímeros, separándose dos fases, tanto en los films obtenidos por extensión de la dispersión acuosa (Jiménez et al. 2014d) como en los obtenidos por mezcla en fundido y termocompresión (Rodrigo-Toro et al. 2014b). No obstante, se observó una inhibición del crecimiento de las zonas cristalinas de almidón en ambos casos, mediante los espectros de difracción de rayos X. Los valores de la temperatura de transición vítrea (T_g) del almidón revelaron una miscibilidad parcial del HPMC en la matriz de almidón que puede contribuir al retardo de los procesos de cristalización (Ortega-Toro et al., 2014b). La incorporación de ácido cítrico a estos films para potenciar la compatibilidad de los polímeros y el entrecruzado de cadenas a través de su reacción con los grupos hidroxilo, no fue muy efectiva en cuanto a mejorar las propiedades de mezcla, pero sí produjo efecto de entrecruzado que se reflejó en las propiedades mecánicas de los films.

Las mezclas de almidón de yuca con gelatina dieron resultados muy prometedores (Acosta, 2014). Los films de gelatina presentan una mejor respuesta mecánica que los de almidón, y su mezcla con el almidón mejoró en gran medida la dureza, resistencia a la fractura y extensibilidad de los films mixtos. Además, a las 5 semanas de almacenamiento los films con proporciones equivalentes de ambos polímeros mantuvieron sus propiedades mecánicas, presentando con muy buenas propiedades barrera al vapor de agua y al oxígeno. Los espectros de difracción de rayos X no reflejaron la formación de zonas cristalinas en el almidón, en parte debido a la baja proporción de amilosa del almidón de yuca (Acosta, 2014). Los dos polímeros no son completamente miscibles y formó una matriz con redes interpenetradas de ambos polímeros como se dedujo desde el análisis por SEM y AFM. No

obstante, se detectó una miscibilidad parcial de ambos polímeros, de manera que, de las dos fases, una es rica en almidón con Tg inferior a la del film con solo almidón y otra rica en gelatina con una Tg superior a la del film con solo gelatina (Acosta, 2014)

Cuando se incorporaron al film mixto de gelatina-almidón de yuca (proporción 1:1) aceites esenciales de hoja de canela, clavo y orégano, las propiedades mecánicas no cambiaron significativamente y mejoraron las propiedades barrera al vapor de agua y al oxígeno, y, adicionalmente, los films presentaron propiedades antifúngicas, contra dos hongos causantes de deterioro en frutas como la papaya (*Fusarium oxysporum* y *Colletotrichum gloesporoides*). (Acosta, 2014).

CONCLUSIÓN

Es posible modular de las propiedades de los films de almidón, adecuándolas a diferentes requerimientos de envasado por adición de diferentes tipos de micro- o nano partículas, otros polímeros con diferente grado de compatibilidad, compatibilizadores y plastificantes. No obstante, se requieren estudios de optimización de las formulaciones y condiciones de procesado. La obtención de materiales para el envasado activo por incorporación compuestos bioactivos (antioxidantes y antimicrobianos) requiere estudios de sus cinéticas de liberación y durabilidad de la actividad para definir la vida útil y la efectividad del envase desde el punto de vista del control de la liberación de bioactivos. La estrategia de obtención de films bi-capa combinando el termoprocesado con la extensión de una capa polimérica con los compuestos bioactivos puede permitir la obtención de materiales más efectivos, al conservar las propiedades del bioactivo asegurando el control de su liberación.

REFERENCIAS

- Acosta, S. (2014). Propiedades de films de almidón de yuca y gelatina. incorporación de aceites esenciales con efecto antifúngico. *Tesis Doctoral*. Universidad Politécnica de Valencia.
- Arvanitoyannis, I.S., Kassaveti, A. (2009). Starch-cellulose blends. In: Wiley: *Biodegradable polymer blends and composites from renewable resources*, pp, 19-53. John Wiley and Sons, New York, US.
- Bonilla, J.; Atarés, L.; Vargas, M.; Chiralt, A. (2013a). Properties of wheat starch film-forming dispersions and films as affected by chitosan addition. *Journal of Food Engineering*, 114, (3), 303-312.

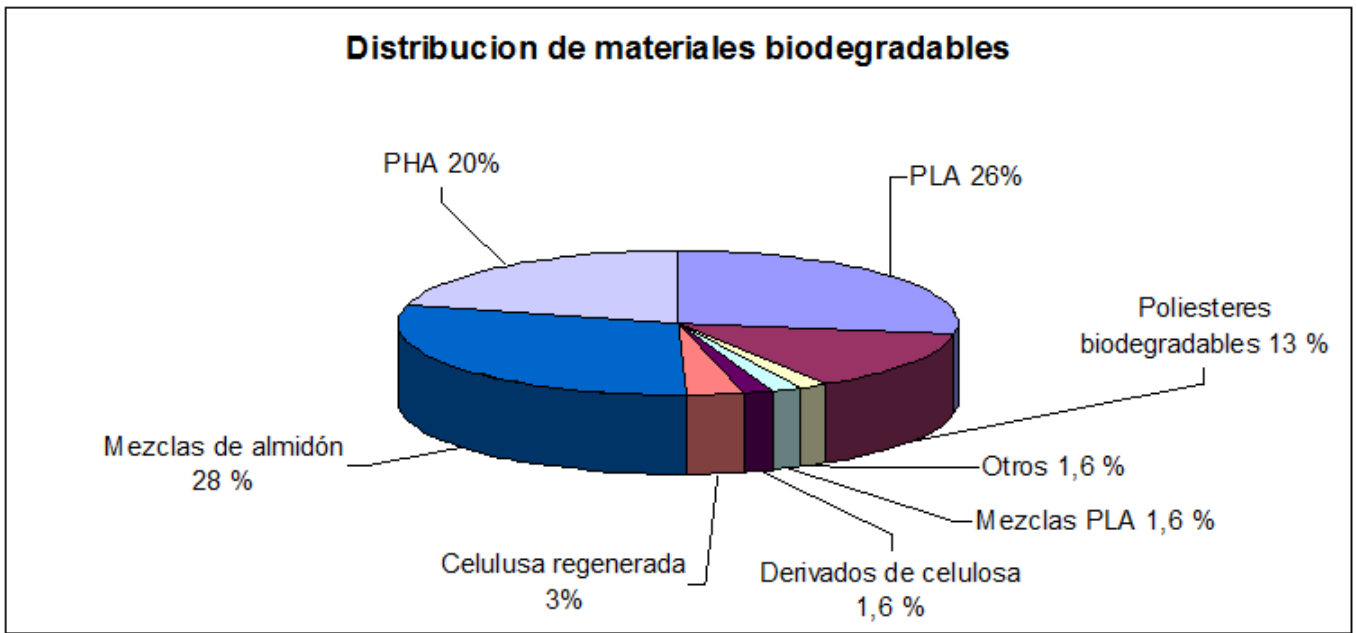
- Bonilla, J., Talón, E., Atarés L., Vargas M., Chiralt A. (2013b). Effect of the incorporation of antioxidants on physicochemical and antioxidant properties of wheat starch-chitosan films. *Journal of Food Engineering*, 118, 271-278.
- Bonilla, J.; Vargas, M.; Atarés, L.; Chiralt, A. (2014). Effect of chitosan-essential oil films on the storage-keeping quality of pork meat products. *Food and Bioprocess Technology: An International Journal*. (En prensa)
- Cano, A.; Alberto Jiménez, J.; Cháfer, M.; González, C.; Chiralt, A. (2014). Characterization of starch films with different amylose:amylopectin ratio. Effect of rice bran addition. *Carbohydrate Polymers* (En prensa)
- Carvalho, A.J.F., Curvelo, A.A.S., Agnelli, J.A.M. (2001). A first insight on composites of thermoplastic starch and kaolin. *Carbohydrate Polymers*, 45 (2), 189-194.
- Curvelo, A.A.S, Carvalho, A.J.F., & Agnelli, J.A.M. (2001). Thermoplastic starch-cellulosic fibers composites: preliminary results. *Carbohydrate Polymers*, 45 (2), 183-188.
- Fabra, M. J.; Talens, P.; Gavara, R.; Chiralt, A. (2012) Barrier properties of sodium caseinate films as affected by lipid composition and moisture content. *Journal of Food Engineering*, 109(3), 372-379.
- Fortunati, E.; Armentano, I.; Iannoni, A.; Barbale, M.; Zaccheo, S.; Scavone, M.; Visai, L.; Kenny, J. M. (2012). New multifunctional Poly(lactide acid) composites: mechanical, antibacterial and degradation properties. *Journal of Applied Polymer Science*, 124, 87-98.
- Jiménez, A.; Fabra, M.J.; Talens, P.; Chiralt, A. (2012a). Edible and Biodegradable Starch Films: A Review. *Food and Bioprocess Technology*, 5(6), 2058-2076.
- Jiménez, A.; Fabra, M.J.; Talens, P.; Chiralt, A. (2012b). Effect of sodium caseinate on properties and ageing behaviour of corn starch based films. *Food Hydrocolloids*, 29(2), 265-279
- Jiménez, A.; Fabra, M.J.; Talens, P.; Chiralt, A. (2012c). Effect of sodium caseinate on properties and ageing behaviour of corn starch based films. *Food Hydrocolloids*, 29(2), 265-279
- Jiménez, A.; Fabra, M.J.; Talens, P.; Chiralt, A. (2012d). Influence of hydroxypropylmethylcellulose addition and homogenization conditions on properties and ageing of corn starch based films. *Carbohydrate Polymers*, 89(2), 676-686
- Jiménez, A.; Fabra, M.J.; Talens, P.; Chiralt, A. (2013a). Phase transitions in starch based films containing fatty acids. Effect on water sorption and mechanical behaviour. *Food Hydrocolloids*, 30, (1), 408-418.
- Jiménez, A., Fabra, M.J., Talens, P.; Chiralt, A. (2013b) Physical properties and antioxidant capacity of starch-sodium caseinate films containing lipids. *Journal of Food Engineering*, 116, 695-702
- López, P., Sánchez, C., Batlle, R., Nerín, C. (2007). Development of flexible antimicrobial films using essential oils as active agents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 8814–8824.
- Ortega-Toro, R.; Jiménez, A.; Talens, P.; Chiralt, A. (2014a) Effect of the incorporation of surfactants on the physical properties of corn starch films. *Food Hydrocolloids*, 38, 66-75
- Ortega-Toro, R.; Jiménez, A.; Talens, P.; Chiralt, A. (2014b). Properties of starch-hydroxypropyl methylcellulose based films obtained by compression molding. *Carbohydrate Polymers*, (en prensa)

Sánchez-González, L., Cháfer, M., Hernández, M., Chiralt, A., González-Martínez, C. (2011). Antimicrobial activity of polysaccharide films containing essential oils. *Food Control*, 22, 1302-1310.

Vázquez, A., Álvarez, V.A. (2009). Starch-cellulose fiber composites. In: Wiley: *Biodegradable polymer blends and composites from renewable resources*, pp, 241-286. John Wiley and Sons, New York, US.

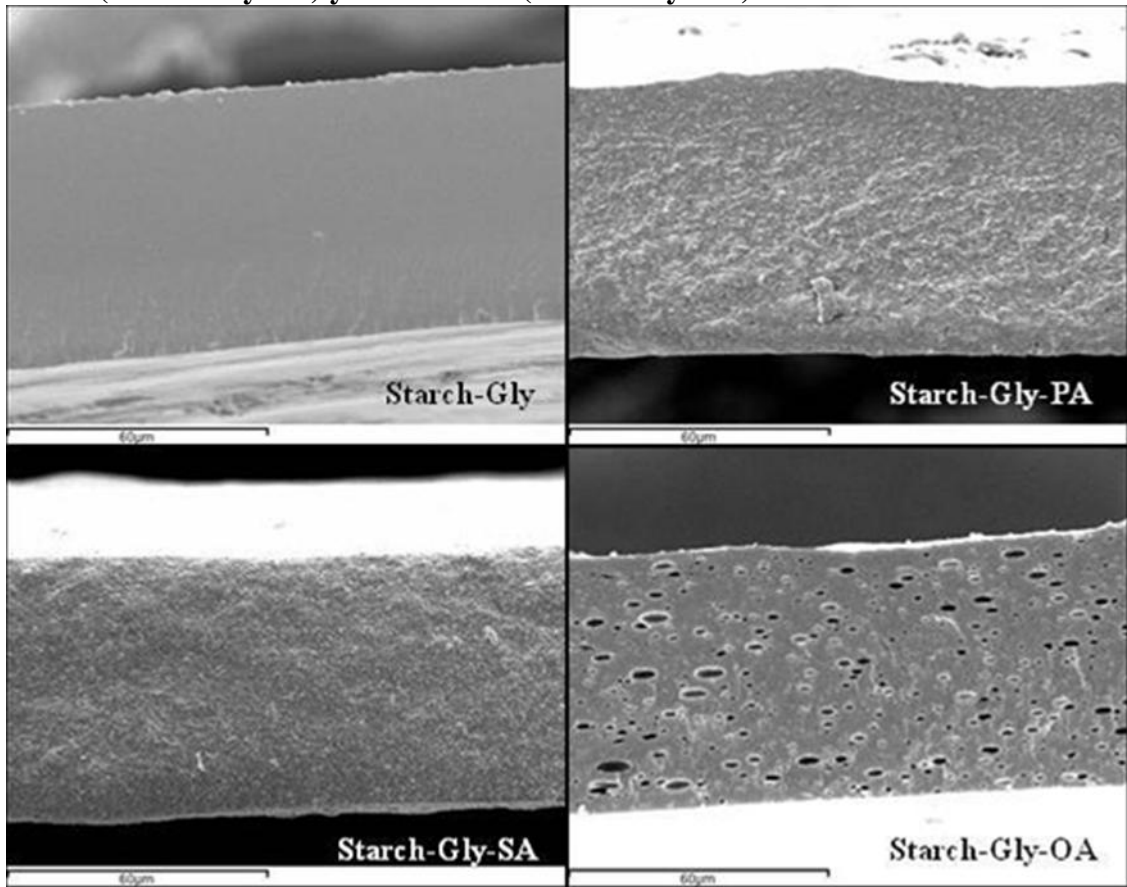
Tabla 1. Propiedades mecánicas (ME: módulo de elasticidad, TF: tensión de fractura y %E: elongación en la fractura) y de barrera al vapor de agua (PVA) y al oxígeno (PO) de films de almidón de maíz-glicerol con diferentes lípidos (ésteres de sorbitan: Span 40, Span 60 y Span 80), en proporción 0,15 respecto al almidón, a 1 y 5 semanas de almacenamiento a 53% de humedad relativa y 25 °C (Rodrigo Toro et al. 2014a).

Film	ME (MPa)	TS (MPa)	% E	PVA (g.mm.kPa ⁻¹ ·h ⁻¹ ·m ⁻²)	POx10 ³ (cm ³ m ⁻¹ s ⁻¹ Pa ⁻¹)
A 1 semana de almacenamiento					
Sin lípido	2100	24	2,5	4,4	0,65
Con Span 40	990	10	2,2	3,1	1,59
Con Span 60	900	8	1,3	4,0	1,4
Con Span 80	1400	12	1,2	5,4	1,09
A 5 semanas de almacenamiento					
Sin lípido	2500	28	2,5	5,4	0,46
Con Span 40	1400	10	0,8	3,5	1,55
Con Span 60	1300	10	0,9	3,7	1,39
Con Span 80	1400	12	1,0	6,2	1,29



**Figura 1. Polímeros biodegradables utilizados en la obtención de materiales de envase.
Fuente: Asociación Europea de Bioplásticos.**

Figura 2. Micrografías obtenidas por SEM de la sección transversal de films de almidón-glicerol sin (Starch-Gly) y con lípidos: ácido palmítico (Starch-Gly-PA), ácido esteárico (Starch-Gly-SA) y ácido oleico (Starch-Gly-OA)



UNDERSTANDING THE RELATIONSHIP BETWEEN METABOLIC MODIFICATIONS AND QUALITY RETENTION IN MINIMALLY PROCESSED KIWIFRUIT

Marco Dalla Rosa^{ab}, Pietro Rocculi^{ab}, Urszula Tylewicz^a, Valentina Panarese^b, Santina Romani^{ab}, Silvia Tappi^b

^a Interdepartmental Centre for Agri-Food Industrial Research - Alma Mater Studiorum - Università di Bologna

^b Department of Agri-Food Science and Technology – Università di Bologna
Campus of Food Science, Piazza Goidanich 60, 47521 Cesena (ITA)

ABSTRACT

Minimally processed fruit and vegetables (MPFV) consumption has been a fast increase in the European market in the last decade, matching some needs of the consumers asking for nutritional, functional and convenient foods. In fact the recommendation to consume more fresh fruit and vegetables by all the nutrition societies and public institutions can find in the MPFV consumption an efficient compromise between a healthy diet, and a high added value food production.

These products have to maintain their attributes and quality as similar as possible to the fresh ones even though, being composed by metabolically active tissues, they show physiological reactions to mechanical stress. The loss of cellular compartmentalisation is the main phenomenon responsible of the quality decay of MPFV, mainly due to processing steps like peeling and cutting, causing the reaction between enzymes and substrates and inducing a general increase of metabolic activity. Therefore, quality maintenance of MPFV is very crucial.

Despite several researches recently carried out on MPFV quality, few studies regarding fresh tissue metabolic response to processing stress are present in literature.

The objective of this paper was to evaluate MPFV metabolic tissue behaviour and its relationship with product quality modification after traditional and innovative operation, taking MP kiwifruit as a case study.

During storage, quality indexes as soluble solid contents, titratable acidity, colour and texture were monitored. Moreover metabolic assessment was carried out both evaluating the endogenous metabolic heat using isothermal calorimetry, and monitoring O₂ consumption and CO₂ production.

1. INTRODUCTION

Fresh-cut fruits are minimally processed products (MPFV) that keep quality characteristics similar to those of the fresh ones (Alzamora *et al.*, 2000).

The minimal processing operations, such as peeling and cutting, lead to a physiological reaction, known as wounding response, aimed to repair the damaged tissues, that lead to an overall increase of the respiration rate and of the produced metabolic heat (Wadsö *et al.*, 2004). Furthermore, the tissue disruption causes the loss of cellular structures and the consequent contact between enzymes and their substrates that promotes a series of deleterious reactions (Alzamora *et al.*, 2000).

As reported by Gomez *et al.* (2004), after wounding, the energy released by the cell is due to the sum of the “normal” metabolic activity and that originating from wounding stress produced by the cells near the cut surface.

Isothermal calorimetry, the measurement of thermal power and heat at constant temperature, is a general measurement technique as nearly all processes (physical, chemical, biological, etc.) produce heat. A calorimeter measures the sum of all the heat produced in the sample, permitting the overall study of a biological system without going into detail (Gomez *et al.*, 2004).

Kiwifruit is commercially important as MPF and it has been the subject of several studies addressed to the increase of its shelf-life through the application of different pre-treatments and modified atmosphere packaging (Mao *et al.*, 2007; Villas-Boas and Kader., 2007; Beirão-da-Costa *et al.*, 2006). In kiwifruit, MP operations are known to lead to excessive tissue softening to increased CO₂ and ethylene production, to larger mass loss and to decreased flavour intensity although loss of firmness has been indicated as the most noticeable change in kiwifruit even at low storage temperatures (Gil *et al.*, 2006).

The aim of this work is to present some applications of isothermal calorimetry on MP kiwifruit, in order to show the potentiality of this technique to evaluate fresh tissue metabolism response to traditional and innovative MP operations.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1 Raw material

Kiwifruits (*Actinidia deliciosa* var *deliciosa* cv Hayward) were bought at a local market. Fruits were sorted to eliminate damaged or defective fruit, and refrigerated at 90-95% of relative humidity (RH) until processing.

2.2 Influence of ripening stage at cutting

Fruits were partially ripened at 4 ± 1 °C and 90-95% of relative humidity in air; three different ripening stages were selected, corresponding to refractometric index values of 11.6 ± 0.9 (LB-Low Brix); 13.5 ± 0.8 (MB-Medium Brix) and 14.9 ± 0.6 (HB-High Brix). At each ripening stage the fruits were hand peeled and cut into 10 mm thick slices with a sharp knife and stored in climatic chambers at 10 °C, 90% RH, for 4 days.

2.3 Effect of osmotic dehydration

Osmotic dehydration treatment (OD) was carried out by immersing the samples in baskets containing 61.5% (w/w) sucrose solution (4:1 solution:fruit) for different times: 0, 10, 20, 30 60 and 120 minutes at 25 °C. The baskets were continuously stirred with a propeller at the speed of 88 rpm. At the end of the treatment, samples were removed from the solution, rinsed in distilled water and blotted with absorbent paper to remove excess solution.

2.4 Effect of atmospheric plasma treatment

Plasma treatment was obtained through a Dielectric Barrier Discharge (DBD) generator already described by Tappi *et al.* (2013a). Atmospheric gas was used to generate the plasma gas and with three fans mounted over the electrodes it was directed to the kiwifruit surface.

2.5 Metabolic heat by isothermal calorimetry

From the outer pericarp tissue of each fruit slice, six cylinders were sampled using a core borer. The cylinders were subjected to the treatments, then placed and sealed in 20 ml glass ampoule. Four replicates for each sample were performed. The rate of metabolic heat production was assessed through a TAM-Air isothermal calorimeter (Thermometric AB, Järfälla, Sweden). This instrument is characterised by a sensitivity (precision) of ± 10 μ W (Wadsö and Gómez Galindo, 2009) and contains eight twin calorimeters in which eight sample ampoules can be inserted, each one with its own reference. The reference is a sample with thermal properties similar to the sample, except that it does not produce any heat; water was chosen as the reference material.

2.6 Respiration rate

Respiration rate was evaluated using a static method. Six cylinders were sampled from the outer pericarp tissue of the slice and sealed in 20 ml glass ampoule. O₂ and CO₂ percentage of triplicate specimens were measured in the ampoule headspace by a gas analyzer mod. MFA III S/L (Witt-Gasetechnik, Germany) after selected intervals from the sampling.

Respiration rate was calculated as mg of consumed O₂ (RRO₂) or produced CO₂

($RRCO_2$) $h^{-1} kg fw^{-1}$ according to the following equations:

$$RRO_2 = \frac{mm_{O_2} \cdot V_{head} \cdot \frac{(20.8 - \%O_{2,head})}{100} \cdot 101.325}{t \cdot m \cdot R \cdot 283}$$

$$RRCO_2 = \frac{mm_{CO_2} \cdot V_{head} \cdot \frac{\%CO_{2,head}}{100} \cdot 101.325}{t \cdot m \cdot R \cdot 283}$$

where $mmCO_2$ is the oxygen molar mass (g/mol), V_{head} is the ampoule headspace volume (L), $\%CO_{2,head}$ is the carbon dioxide percentage in the ampoule headspace at time t (h); m is the sample mass (kg); R is the gas constant (L kPa $K^{-1} mol^{-1}$).

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1 Influence of ripening stage at cutting

Minimal processing operations as peeling, slicing, dicing, shredding or chopping lead to physiological reactions in metabolically active tissues. Part of these reactions is designed to membrane restoration and strengthening of cell walls by cells close to the site of injury (*Satoh et al., 1992*).

According to many studies the susceptibility to wounds is increased during ripening (*Gorny et al., 2000*; *Soliva-Fortuny and Martín-Belloso, 2003*). Under ripe fruits generally show a better preservation of the initial qualitative characteristics compared to riper fruits (*Soliva-Fortuny et al., 2004*; *Hodges and Toivonen, 2008*). *Tappi et al. (2013b)* evaluated kiwifruit quality parameters, such as colour and texture, during accelerated storage and found that mature fruits undergo faster softening and browning processes compared to unripe fruits.

Heat production profiles of kiwifruit samples at three ripening degrees were obtained through a Tam-AIR calorimeter, during 12 hours at 10°C and are shown in figure 1. As the ripeness level increases, a progressive decrease of the specific thermal power P (mW per gram of sample) occurs, showing a lower metabolic response after wounding of riper fruits that is probably due to the loss of the ability to repair the damage caused by mechanical stress. These results confirm the existence of a strict connection between the physiological state of the tissue and the entity of its wounding response in terms of heat production.

3.2 Effect of osmotic dehydration

Osmotic dehydration (OD) is a treatment that, exploiting the concentration gradient between the intracellular fluid and a hypertonic dipping solution, leads to tissue partial dewatering. Although water removal is the main objective of OD, a simultaneous

impregnation of the tissues also occurs (Tylewicz *et al.*, 2011). Many studies have focused on the impact of OD on MP kiwifruit (Tylewicz *et al.*, 2010; Castro-Giráldez *et al.*, 2011; Tylewicz *et al.*, 2011; Panarese *et al.*, 2012a) as a treatment for extending its shelf-life. It was observed that OD allows to better preserve colour promoted by the water activity reduction that in turn causes an increase in the time necessary for the degradation of chlorophyll in pheophytins. Tylewicz *et al.* (2010) observed this effect in different kiwifruit varieties.

Furthermore, OD treatments promote several structural changes that affect the texture, which is one of the most important parameters describing the evolution of fruit structure quality. Tissue subjected to OD can undergo to several structural changes, such as intracellular space formation, shrinkage of the vacuole compartment and changes in size and structure of the cell walls of outer pericarp tissue (Panarese *et al.*, 2012a). Figure 2 shows the firmness changes during OD treatment. It is possible to observe a texture decrease in both kiwifruit samples. This phenomenon was more pronounced for unripe kiwifruit recalling the changes which kiwifruit undergo during the ripening process.

As far as metabolic heat production is concerned, measured by TAM-Air isothermal calorimeter, figure 3 shows as it decreased progressively with the increase of treatment time. Osmotic stress causes a progressive tissue damage that can lead to the death of the cells at the surface of kiwifruit slices (Panarese *et al.*, 2012b; Rocculi *et al.*, 2012). The progressive decrease of the specific thermal power confirms the loss of viability of cells as a consequence of OD treatment.

Panarese *et al.* (2012b) studied the use of osmotic dehydration (OD) on kiwifruit at different ripening stages, finding a higher sensibility of fully ripened fruits to osmotic stress. The specific heat production (J/g) of under-ripe fruit showed a linear decrease as the treatment time increased, while metabolic heat produced by riper fruits had a high reduction after 60 minutes of treatment and then remained almost unchanged. The sharp decrease of metabolic heat production in the ripe fruit was attributed to the loss of membrane integrity and the consequent increase of membrane permeability during ripening. The thermal power values have been integrated and expressed as heat of respiration ($\text{g O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ kg}^{-1}$). Respiration rate calculated by gas measurements and by calorimetric analysis were strictly and positively correlated ($R^2 > 0,98$) as reported in fig. 4.

3.3 Effect of gas plasma treatment

Cold gas plasma is an ionised gas characterized by active particles such as electrons, ions, free radicals and atoms that is produced by applying energy to a gas mixture. Very recently, applications for food products have been proposed for microbial decontamination and enzymatic inhibition. Its effects on fruit tissue metabolism are still largely unknown.

Fig. 5 depicts an example of heat production profiles of kiwifruit slices subjected to plasma treatment for 10+10 min for each side, compared to control ones. During the first 10-11 hours, plasma treatment caused a decrease in the tissue metabolic heat, as if the high oxidative stress had inhibited tissue metabolism in terms of heat production. The effect seems to be temporary as, after the first half of the experiment, the metabolic heat produced by the tissue becomes very similar to the control one.

From the results obtained from the respiration rate analysis (data not reported), it was possible to observe an increased CO₂ production and a decreased O₂ consumption. The metabolic response to the treatment seems to suggest a partial conversion of the tissue respiratory metabolism from aerobic to anaerobic. It seems therefore a complex behaviour, which mechanism is at the moment not fully understood and need further investigations.

4 CONCLUSIONS

Isothermal calorimetry confirmed to be a versatile tool able to provide useful information insight to the metabolic response of fruit tissue metabolism to different processing operations, in particular when coupled with respiration rate assessment. This technique allowed preliminary evaluations of metabolic effects of different raw material/processing parameters on MP kiwifruit, giving a general overview of its “potential shelf-life”.

5 ACKNOWLEDGMENTS

The authors acknowledge the financial support of the Italian Ministry for Education, Universities and Research (FIRB, Project RBFR100CEJ: *Innovative approach for the study of fresh-cut fruit: qualitative, metabolic and functional aspects*)

6 REFERENCES

Alzamora SM; Castro MA; Vidales SL; Nieto AB et al. (2000). Minimally Processed Fruits and Vegetables, Aspen Publisher Inc, USA, Gaithersburg, Maryland.

- Beirão-da-Costa S; Steiner A; Correia L; Empis J; and Moldão-Martins M (2006). Effects of maturity stage and mild heat treatments on quality of minimally processed kiwifruit. *J. Food Eng.*, 76, 616–625.
- Castro-Giráldez M; Tylewicz U; Fito PJ; Dalla Rosa M; Fito P (2011). Analysis of chemical and structural changes in kiwifruit (*Actinidia deliciosa* cv Hayward) through the osmotic dehydration. *J. Food Eng.*, 105, 599-608.
- Gil MI; Aguayo E; Kader AA (2006). Quality changes and nutrient retention in fresh cut versus whole fruits during storage. *J. Agric. Food Chem.*, 54, 4284-4296.
- Gómez F, Toledo, RT, Wadsö L, Gekas V, Sjöholm I (2004). Isothermal calorimetry approach to evaluate tissue damage in carrot slices upon thermal processing. *J. Food Eng.*, 65, 165-173.
- Gorny JR, Cifuentes RA, Hess-Pierce B, Kader AA (2000). Quality changes in fresh cut pear slices as affected by cultivar, ripeness stage, fruit size, and storage regime. *J. Food Sci.* 65(3), 541–544.
- Hodges DM; Toivonen PMA (2008) Quality of fresh-cut fruits and vegetable as affected by exposure to abiotic stress. *Post. Biol. Technol.*, 48, 155-162
- Mao L; Wang G; Que F (2007). Application of 1-methylcyclopropene prior to cutting reduces wound responses and maintains quality in cut kiwifruit. *J. Food Eng.*, 78, 361–365.
- Panarese V; Laghi L; Pisi A; Tylewicz U; Dalla Rosa M; Rocculi P; (2012a). Effect of Osmotic Dehydration on *Actinidia Deliciosa* Kiwifruit: A Combined NMR and Ultrastructural Study. *Food Chem.*, 132, (4), 1706-1712.
- Panarese V; Tylewicz U; Santagapita P; Rocculi P; Dalla Rosa M (2012b). Isothermal and differential scanning calorimetries to evaluate structural and metabolic alterations of osmo-dehydrated kiwifruit as a function of ripening stage. *Inn. Food Sci. Emer. Technol.*, 15, 66-71.
- Rocculi P; Panarese V; Tylewicz U; Santagapita P; Cocci E; Gómez Galindo F; Romani S; Dalla Rosa M (2012). Isothermal calorimetry studies on the stability of fresh-cut fruit. *LWT – Food Sci. Technol.*, 49 (2), 320-323
- Satoh S; Strurm A; Fujii T; Chrispeels MJ (1992). cDNA cloning of an extracellular dermal glycoprotein of carrot and its expression in response to wounding. *Planta*, 188, 432–438.
- Soliva-Fortuny RC; Alos-Saiz N; Espachs-Barroso A; Martín-Belloso O (2004). Influence of maturity at processing on quality attributes of fresh-cut conference pears. *J. Food Sci.*, 69, 290-294.
- Soliva-Fortuny RC; Martín-Belloso O (2003). New advances in extending the shelf-life of fresh-cut fruits: a review. *Trends Food Sci. Technol.*, 14, 341–353.
- Tappi S; Berardinelli A; Ragni L; Dalla Rosa M; Guarnieri A; Rocculi P (2013a). Atmospheric gas plasma treatment of fresh-cut apples. *Inn. Food Sci. Emer. Technol.*, in press.
- Tappi S; Tylewicz U; Cocci E; Romani S; Dalla Rosa M; Rocculi P (2013b). Influence of ripening stage on quality parameters and metabolic behaviour of fresh-cut kiwifruit slices during accelerated storage. *J. Proces. En. Agric.*, in press.
- Tylewicz U; Fito PJ; Castro-Giráldez M; Fito P; Dalla Rosa M (2011) Analysis of kiwifruit osmodehydration process by systematic approach systems. *J. Food Eng.*, 104 (3), 438-444.

Tylewicz U; Rzaça M; Rocculi P; Romani S; Dalla Rosa M (2010). Evolution of quality characteristics of Hayward and Hort 16A kiwifruit during osmotic dehydration. *Fruit Proc.*, 4, 150-153.

Villas-Boas EVB; Kader AA. Effect of 1-methylcyclopropene (1-MCP) on softening of fresh-cut kiwifruit, mango and persimmon slices. *Post. Biol. Technol.*, 43, 238-244.

Wadsö L; Gómez F; Sjöholm I; Rocculi P (2004). Effect of tissue wounding on the results from calorimetric measurements of vegetable respiration. *Thermochimica Acta*, 422, 89-93.

Wadsö L; Gómez Galindo F (2009). Isothermal calorimetry for biological application in food science and technology. *Food Cont.*, 20, 956–961.

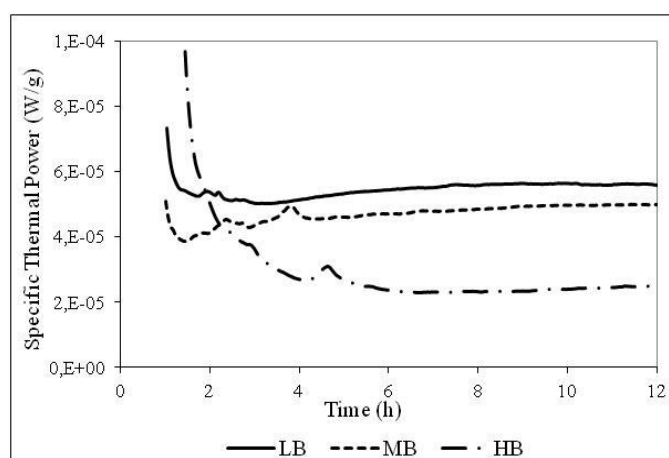


Figure 1. Specific thermal power profiles of pericarp tissue cylinders of kiwifruit characterized by low, medium and high soluble solids content (LB, MB and HB) during 12 h at 10°C (modified from Tappi et al., 2013)

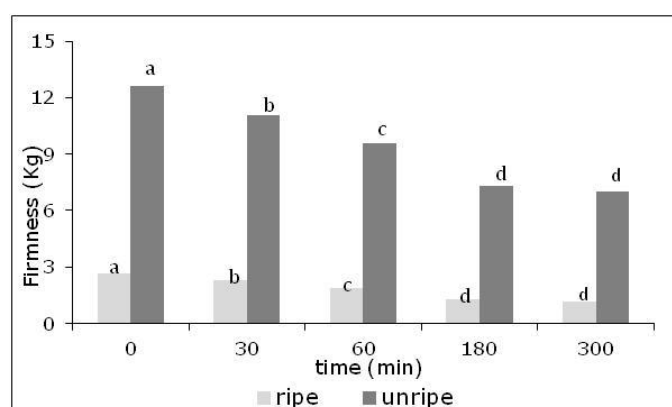


Figure 2. Firmness of ripe and unripe kiwifruit slices during osmotic dehydration (modified from Panarese et al., 2012b)

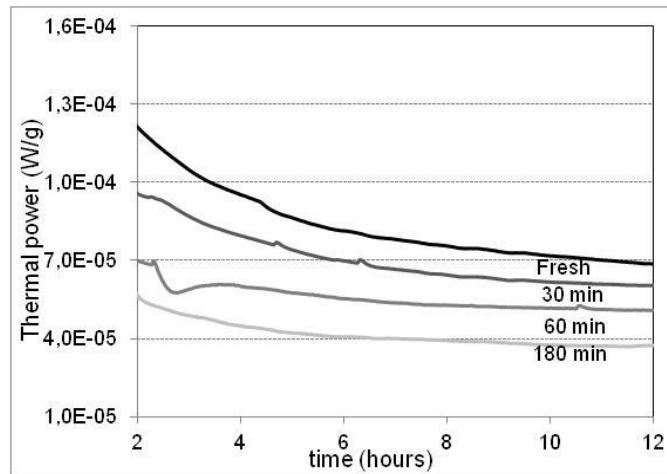


Figure 3. Metabolic heat production of kiwifruit tissue submitted to osmotic dehydration for 0, 30, 60 and 180 min in 61.5 % sucrose solution (modified from Rocculi et al., 2012).

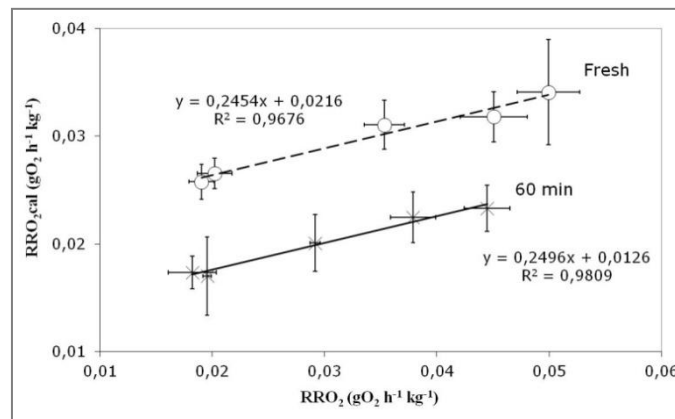


Figure 4. Linear correlation between respiration rates obtained by O₂ measurement (RRO₂) or calculated from specific thermal power curves (RRO_{2cal}) for raw and 60 min treated HB samples (modified from Panarese et al. 2012b)

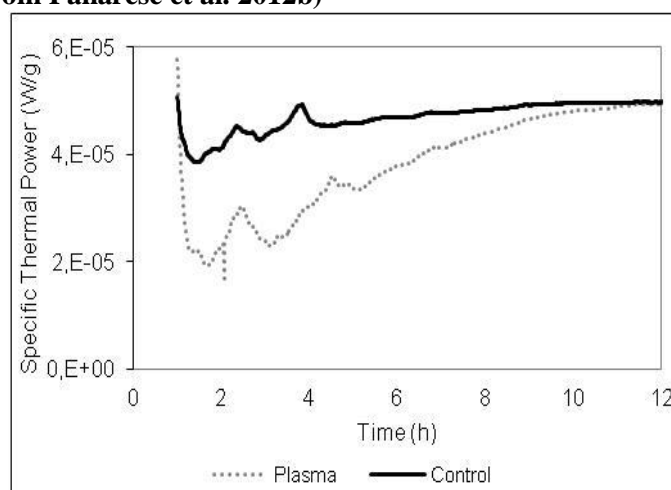


Figure 5. Specific thermal power profiles of pericarp tissue cylinders of kiwifruit subjected to cold plasma treatment compared to control ones.

NUEVAS TENDENCIAS EN ENVASES DE ALIMENTOS

Galotto, Maria José; Guarda, Abel

LABEN-CHILE. Laboratorio de Envases. Facultad Tecnológica. Centro para el desarrollo de la Nanociencia y Nanotecnología. Universidad de Santiago de Chile

Tradicionalmente los envases para alimentos han sido concebidos como sistemas cuyo principal objetivo ha sido contener y proteger al alimento de los daños físicos inherentes al proceso de transporte y comercialización de los mismos. Sin embargo, esto desde hace un tiempo ha cambiado y actualmente el envase se concibe como un sistema alternativo de conservación de alimentos. Ya no se le pide al envase que actúe como un simple contenedor, sino que se busca que el envase, durante el tiempo en que está en contacto con el alimento, ejerza un efecto positivo y beneficioso sobre él. Ello da origen al concepto de *envase activo*.

El desarrollo de un envase activo, para un alimento específico, requiere de un conocimiento preciso de los principales mecanismos de deterioro que determinan la calidad y vida útil del alimento a envasar. No basta con conocer los principales mecanismos de deterioro, sino se ha de conocer la cinética de dichas reacciones de deterioro, para de este modo diseñar el envase más adecuado.

Uno de los factores que determina la vida útil de muchos alimentos envasados es el crecimiento microbiológico, ya que es el desarrollo microbiano la causa principal de su deterioro, y es uno de los factores críticos a resolver a la hora de buscar sistemas de envasado que permitan alargar la vida útil de los alimentos. Indudablemente hasta la fecha se han desarrollado sistemas de conservación que, junto con sistemas compatibles de envasado (tratamientos térmicos, envasado aséptico, atmósfera modificada, envasado al vacío, incorporación de aditivos en los alimentos, etc.), permiten la conservación de los alimentos durante un período significativo de tiempo. Sin embargo, los consumidores actuales buscan cada vez alimentos menos procesados y con menos aditivos químicos, lo que indudablemente incrementa los riesgos asociados. El principal riesgo radica en el posible desarrollo de microorganismos que reducen la vida útil y la seguridad (inocuidad) alimentaria del producto envasado.

Por otra parte, en el caso de productos semiprocesados, la industria de alimentos se ha apoyado crecientemente en los sistemas de envasado al vacío. Sin embargo, estos sistemas implican el riesgo del crecimiento de microorganismos anaeróbicos. Por lo tanto, la

posibilidad de complementar la tecnología de envasado al vacío con el uso de materiales de envase con actividad antimicrobiana, incrementa la seguridad de los alimentos.

Para disminuir el riesgo de deterioro microbiológico se ha trabajado principalmente sobre el propio alimento y sobre el sistema de envasado, tratando al sistema y al material de envase como estructuras inertes que protegen al alimento, pero si se considera que el deterioro microbiológico en los alimentos se produce mayoritariamente en su superficie, se puede aprovechar como soporte el material de envase para generar un efecto activo, incorporando agentes antimicrobianos de amplio espectro que ejerzan su función sobre la superficie del alimento, incrementando su seguridad y vida útil, sin necesidad de usar aditivos químicos en el producto mismo.

Envases Activos

El enfoque tradicional del envasado de alimentos está orientado al uso de materiales capaces de protegerlo, buscando ante todo la máxima inercia alimento-envase, este tipo de envase es denominado pasivo. El desarrollo de un nuevo enfoque ha permitido la incorporación de nuevos materiales y sistemas capaces de ejercer una interacción positiva entre el envase y el alimento, surgiendo los denominados envases activos, los que permiten extender la vida útil del producto envasado y mantener su inocuidad (Suppakul y col., 2003), junto con presentar un rol activo en su calidad. En la actualidad existen diferentes tipos de envases activos, entre estos destacan aquellos que modifican el espacio de cabeza por ejemplo en bebidas alcohólicas y cervezas, ya que permiten remover el oxígeno residual evitando el crecimiento de bacterias aerobias; por otra parte, existen envases activos basados en la incorporación de absorbentes de O₂, etileno y CO₂, utilizados en productos tales como: quesos, embutidos, vegetales mínimamente procesados, productos cárnicos, marinos especias y maní; cabe destacar que dichos absorbentes pueden ser incorporados en diferentes tipos de envasados tales como al y en atmósfera modificada o controlada.

Finalmente un gran desarrollo están teniendo los envases activos que poseen capacidad antimicrobiana, aplicados en alimentos susceptibles a sufrir daño provocado por microorganismos patógenos, por ejemplo los productos cárnicos y sus derivados, caracterizados por ser altamente susceptibles a sufrir daños por microorganismos tales como *Brochotrix thermosphacta*, *Salmonella Typhimurium*, *Bacillus subtilis*, *Shigella flexneri* y *Escherichia coli* O157:H7.

Envases Activos con Actividad Antimicrobiana

El envase activo con actividad antimicrobiana tiene por objetivo controlar la cantidad de microorganismos presentes en la superficie del alimento mediante la incorporación de agentes antimicrobianos naturales o sintéticos en el envase; donde se debe considerar ciertos aspectos relevantes, tales como: poseer un amplio espectro de acción (Quintero y col, 2012 y 2013), encontrarse en bajas cantidades, no alterar las características sensoriales del alimento (Guarda, 2011), ser GRAS y además presentar un bajo costo, sin embargo se debe tener en cuenta ciertas limitaciones como, su durabilidad y toxicidad ejercida sobre el ser humano (De Muynck y col., 2009).

Se ha estudiado el uso de diferentes agentes antimicrobianos (AM) tales como; ácidos naturales, péptidos, enzimas, metales y bacteriocinas, con el objetivo de reducir la carga microbiana del alimento envasado, este fenómeno se debe a la acción ejercida por el antimicrobiano, donde su incorporación en el envase permite extender la fase de adaptación del microorganismo (Fase lag) al medio, lo que tiene como consecuencia la reducción del rango de crecimiento o bien la desactivación del microorganismo (Suppakul y col., 2003), esta reacción es debida a la interacción del agente antimicrobiano con la membrana celular, lo que afecta a la permeabilidad de la célula microbiana provocando su muerte (Tejeda y col., 2009); a pesar del efecto ejercido por los agentes antimicrobianos, estudios han reportado que algunos microorganismos son capaces de generar resistencia frente a diferentes agentes AM (Cabrera y col., 2007), debido a una adaptación genética, capaz de modificar la permeabilidad de la membrana plasmática (Hu y col., 2005).

La capacidad antimicrobiana de diferentes agentes, tanto en alimentos como en matrices poliméricas ha sido estudiada por Ibrahim y col., (2008) en donde la incorporación de agentes antimicrobianos como ácido láctico y cobre en el jugo de zanahoria, permite la inhibición del crecimiento de bacterias patógenas como *E. coli* O157:H7 y *Salmonella*, provocando la muerte de las células microbianas, mientras que para la purificación y el control de aguas, algunas investigaciones destacan el uso de membranas con incorporación de quitosano-plata o bien cobre-plata, lográndose en ambos casos un 99% de pureza (Vimala y col., 2009) y un control efectivo sobre *Legionella pneumophila* (Del Nobile, 2004). Así mismo se ha analizado el efecto de diferentes agentes antimicrobianos sobre matrices poliméricas, destacándose el uso de nisina en PE, la que permite reducir entre seis y nueve veces las UFC (en base logaritmo de diez) de *L. monocytogenes* en Tofu (Joerger, 2007), mientras que la adición de anhídrido benzoico y sorbato de potasio en LDPE, permitió el

control de *R. stolonifer* y *Penicillium spp* en quesos y levaduras, cuando su adición fue de un 1% en la matriz polimérica (Vartiainen y col., 2003), cabe destacar que la interacción entre el polímero y el agente antimicrobiano está dada por su incorporación en la matriz polimérica (Brody y col., 2008) pudiendo ser realizada de cuatro formas: una de ellas consiste en incorporar el agente activo antimicrobiano en forma de recubrimiento en la parte interna del film, lo que permite un contacto directo entre el agente y el alimento envasado, o bien la incorporación se realiza en forma de recubrimiento en la cara exterior del film, por tanto el agente antimicrobiano debe atravesar mediante difusión todo el espesor de la matriz para ejercer su acción antimicrobiana. Otros sistemas incorporan el AM en la misma matriz y la difusión del compuesto activo se realiza a través de las zonas amorfas y de los espacios libres del polímero, siguiendo el modelo de Nielsen (Choudalakis), o bien el AM puede inmovilizarse en la superficie interna del film, en contacto directo con el alimento.

En cuanto a la naturaleza de los agentes antimicrobianos incorporados en los materiales de envase, la Tabla 1 ilustra los más utilizados. Dentro de ellos destacan sustancias tanto de origen natural como sintético. Sin embargo, las demandas de inocuidad alimentaria y el generar procesos sustentables han orientado el desarrollo y aplicación de aditivos de origen natural. Basado en esto es que diversos trabajos científicos han apuntado a la incorporación de aditivos naturales con capacidad antimicrobiana en diversas matrices poliméricas (Appendini & Hotchkiss, 2002; Suppakul *et al.*, 2003; Ramos *et al.*, 2012).

Tabla 1: Potenciales agentes antimicrobianos para ser utilizados en el envasado de alimentos.

Clasificación	Agentes Antimicrobianos
Ácidos Orgánicos	acético, benzoico, láctico, cítrico, málico, propiónico, succínico, sórbico, tartárico, mezcla de ácidos orgánicos.
Alcohol	Etanol
Bacteriocinas	Nisina, pediocina, lacticina, subtilina
Enzimas	Lisozima, glucosa oxidasa, lactoperoxidasa
Metales	Plata, cobre, zirconio
Antioxidantes	BHA, BHT, TBHQ, sales de hierro
Antibiótico	Natamicina
Fungicida	Benomil, imazalil, dióxido de sulfuro
Gas sanitizante	Ozono, dióxido clorado, monóxido de carbono, dióxido de carbono
Sanitizantes	NaCl acidificado, triclosan, cetil piridinium clorado
Polisacárido	Quitosano
Fenólicos	Catequina, Cresol, Hidroquinona
Extractos de plantas	Timol, carvacrol, terpinol, linalol, cinnamaldehído, pineno
Extractos de especies	Extractos de pepa de uva, aceite de rosemary, Aceite de orégano y basil
Probióticos	Bacteria ácido láctica

Fuente: Adaptación de (Han, 2000; Suppakul *et al.*, 2003)

Agentes antimicrobianos de origen natural

Dentro de los compuestos naturales con actividad antimicrobiana ha sido reconocida la efectividad que presentan los aceites esenciales (Lambert *et al.*, 2001). Con respecto a estos compuestos la Asociación Francesa de Normalización (AFNOR) los define como “aquellos productos obtenidos a partir de una materia prima vegetal por destilación mediante arrastre con vapor, por procedimientos mecánicos, entre otros, con el fin de separar la fase acuosa” (Bermúdez, 2009). Los aceites esenciales son aceites orgánicos aromáticos obtenidos en su mayoría de extractos de plantas. Dentro de las principales propiedades que destacan a estos compuestos es posible mencionar sus propiedades antivirales, antibacterianas, antifúngicas antiparasitarias e insecticidas. Además, su uso como aditivos alimentarios se encuentran permitido por los organismos reguladores (Vukovic *et al.*, 2007). Cabe destacar que los aceites esenciales se caracterizan por ser una mezcla compleja de diferentes compuestos orgánicos tales como, hidrocarburos, alcoholes, aldehídos, cetonas, esterres, éteres y fenoles (Vidal *et al.*, 2013), que imparten tanto el aroma como la actividad a este tipo de esencias. Ahora bien, la capacidad antimicrobiana de los aceites esenciales esta dada por componentes específicos de estos aceites esenciales. En este sentido, se han identificado

diversos componentes de aceites esenciales de naturaleza fenólicas y terpenoides, tales como: timol, carvacrol y eugenol, como los responsables de la actividad antimicrobiana (Ultee *et al.*, 2000). Así, se ha reportado que los derivados de aceites esenciales poseen actividad antimicrobiana frente una variedad de microorganismos, incluyendo bacterias gram positivas y negativas (Marino *et al.*, 2001; Smith-Palmer *et al.*, 2001). En este sentido, se ha comprobado que las bacterias gram positivas muestran una mayor sensibilidad a la acción antimicrobiana de los derivados de aceites esenciales que las gram negativas. Esta diferencia puede ser atribuida a la complejidad estructural de la membrana celular de las gram negativas, lo cual impide la difusión de los agentes activos a través de la membrana celular. En general, el mecanismo de acción de los derivados de aceites esenciales se basa en la interacción generada entre la bicapa lipídica y el agente antimicrobiano producto de la naturaleza hidrofóbica del derivado de aceite esencial. Dicha interacción induce el colapso parcial de la integridad de la membrana citoplasmática, dando lugar a la fuga masiva de metabolitos y enzimas, llevando a la muerte celular.

El desarrollo de envases activos con capacidad antimicrobiana se inicia con el conocimiento e identificación previa de los microorganismos responsables del deterioro del producto específico a envasar. Una vez conocidos cuales son los microorganismos diana, se ha de identificar el compuesto que presente una capacidad antimicrobiana frente a dichos microorganismos. Además, se precisa determinar la concentración mínima de dicho compuesto antimicrobiano que debe estar presente en la cara interna del envase, en contacto directo con el alimento. Si la cinética de liberación desde la matriz plástica hacia la superficie del alimento, es muy lenta supondría que el microorganismo que genera el deterioro del producto crecería antes que se alcanzase la concentración mínima del agente antimicrobiano requerida para que este ejerza su efecto, y si la liberación del plástico es muy rápida se agotaría demasiado pronto el agente antimicrobiano, lo que no generaría un incremento significativo en la vida útil del producto envasado (Galotto y col, 2012). Por lo tanto, el desarrollo de envases activos con capacidad antimicrobiana requiere de un conocimiento y control de la velocidad de liberación del agente activo antimicrobiano desde el envase plástico. Es en este campo donde la nanotecnología aparece como una herramienta eficaz tanto para la incorporación de agentes activos con capacidad antimicrobiana, como de control de la cinética de liberación de los compuestos activos en el interior de los envases.

Es por esto que la aplicación de la nanotecnología con mayor impacto en el área de innovación en envases plásticos, ha sido el desarrollo de los nanocompositos. Estos se definen como una nueva clase de materiales compuestos, en los cuales una de las

dimensiones de las partículas de carga o relleno (nanopartículas) se encuentra en el rango nanométrico (1-100 nm) (Duncan, 2011). Estos sistemas híbridos son, en esencia, polímeros reforzados con nanopartículas, las cuales pueden consistir de estructuras esféricas o cúbicas (cuando las tres de sus dimensiones están en el rango nanométrico), tubulares (dos dimensiones) y laminares (una dimensión), siendo esta última la forma más adecuada para obtener un máximo rendimiento (Franco & MasPOCH, 2009).

REFERENCIAS

- Appendini, P. y Hotchkiss, J. H. (2002). Review of antimicrobial food packaging. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* (2002), 113-126.
- Bermúdez, M., 2009. Uso industrial de plantas aromáticas medicinales. . Trabajo de Tesis para optar al Título de Ingeniero de Montes. Universidad Politécnica de Madrid
- Choudalakis G. y Gotsis A. (2009). Permeability of polymer/clay nanocomposites: A review. *European Polymer Journal*, 45: 967-984.
- Guarda, A.; Rubilar, J.; Miltz, J.; Galotto, M.J. (2011). The antimicrobial activity of microencapsulate thymol and carvacrol, 146: 144-150.
- Han, J., 2000. Antimicrobial food packaging. *Food Technology*, 54: 56 - 65.
- Duncan, T. V. (2011). Applications of nanotechnology in food packaging and food safety: Barrier materials, antimicrobials and sensors. *Journal of Colloid and Interface Science* (1), 1-24
- Franco, E., MasPOCH, M., 2009. Estructura general de las arcillas utilizadas en la preparación de nanocompuestos poliméricos. Vol. XII, No. 44.
- Galotto, M.J.; Valenzuela, X.; Rodriguez, F.J.; Bruna, J.; Guarda, A. (2012) Evaluation of the effectiveness of a new antimicrobial active packaging for fresh atlantic salmon (*Salmo Salar* L.) shelf life. *Packaging Technology and Science*, 25: 363-372.
- Lambert, R., Skandamis, P., Coate, P., Nychas, G., 2001. A study of minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal Appl. Microbiology*, 91: 453-462.
- Marino, M., Bersani, C., Comi, G., 2001. Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from Lamiacea and Compositae. *International Journal of Food Microbiology*, 67: 187– 195.
- Quintero, R. I., Rodriguez, F., Bruna, J., Guarda, A. y Galotto, M. J. (2012). Cellulose Acetate Butyrate Nanocomposites with Antimicrobial Properties for Food Packaging. *Packaging Technology and Science*, DOI 10.1002/pts. 1981
- Quintero, R.; Rodriguez, F.; Guarda, A.; Galotto, M.J. (2013). Characterization of antimicrobial cellulose acetate butyrate/organoclay nanocomposites produced by extrusion process. *Packaging Technology and Science* DOI 10.1002/pts.2043
- Ramos, M., Jimenez, A., Peltzer, M., Garrigos, M.C. Characterization and antimicrobial activity studies of polypropylene films with carvacrol and thymol for active packaging. *Journal of Food Engineering* (2012), 109: 513-519

Smith-Palmer, A., Stewart, J., Fyfe, L., 2001. The application of plant essential oils as natural food essential oils as natural food preservatives in soft cheese. *Food Microbiology*, 18: 463-470.

Suppakul, P., J.Miltz, K.Sonneveld y Bigger, S. W. (2003). Active Packaging Technologies with an Emphasis on Antimicrobial Packaging and its Applications. *Journal of Food Science*, 68(2), 408-420.

Ultee, A., Kets, E., Alberda, M., Hoekstra, F., Smid, E., 2000. Adaptation of the food-borne pathogen *Bacillus cereus* to carvacrol. *Archives Microbiology*, 174: 233–238.

Vidal L., Avello, M.; Loyola, C.; Campos J.; Aqueveque, P.; Dungan, S.; Galotto, M.J., Guarda, A. (2013). Microencapsulation of maqui (*Aristotelia chilensis* Molina Stuntz) leaf extracts to preserve and control antioxidant properties. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 73 (1): 17-23

Vukovic, N., Milosevic, T., Sukdolak, S., Solujic, S., 2007. Antimicrobial activities of essential oil and methanol extract of *Teucrium montanum*. *CAM* 4, 17-20.

MODELIZACIÓN DE LOS TRATAMIENTOS FOTOQUÍMICOS EN ALIMENTOS FLUIDOS

Albert Ibarz, Alfonso Garvín y Raquel Ibarz

Departament Tecnologia Aliments, UTPV-XaRTA, Agrotecnio Center, Universitat de Lleida (España). e-mail: aibarz@tecal.udl.cat.

INTRODUCCIÓN

Los tratamientos con radiación UV han sido utilizados ampliamente en la desinfección de superficies, en el tratamiento de aire y en los tratamientos terciarios de aguas residuales, como alternativa a la desinfección por cloración. En la industria alimentaria también se ha utilizado en la desinfección de envases, así como en la inactivación de microorganismos, tanto patógenos como de deterioro, y en la inactivación de enzimas (Falguera *et al.*, 2011a).

En la destrucción de microorganismos, tanto patógenos como de deterioro, normalmente se utilizan procesos convencionales de pasteurización y tratamientos térmicos de esterilización. Sin embargo, este tipo de tratamientos pueden producir reacciones indeseables en el alimento que pueden provocar cambios en el gusto y sabor, o que incluso pueden tener un impacto en los contenidos nutricionales y diversas propiedades sensoriales, que afectan negativamente la calidad de los alimentos tratados. Para evitar estos problemas se están utilizando las denominadas tecnologías emergentes, entre las que se incluye el uso de la radiación UV. La luz UV posee capacidad germicida, ya que reduce la carga microbiana presente en los alimentos, aunque también puede tener un impacto sobre la actividad enzimática y otros componentes del alimento.

Los alimentos pueden contener ciertos compuestos tóxicos, tales como toxinas y pesticidas. Los tratamientos térmicos convencionales no logran destruir estos compuestos; sin embargo, la irradiación UV se ha mostrado efectiva en la degradación de este tipo de compuestos (Dong *et al.*, 2010; Assatarakul *et al.*, 2012, Tikekar *et al.*, 2013).

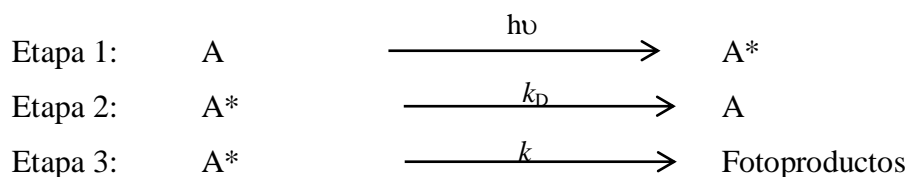
Uno de los aspectos importantes de los tratamientos fotoquímicos es la modelización de los mismos. Para ello, se debe adoptar un modelo de radiación de la lámpara, siendo el modelo lineal esférico el más utilizado, y el que describe mejor la realidad con un modelo matemático relativamente sencillo. Además, se debe proponer un mecanismo de reacción de los compuestos sobre los que está incidiendo la radiación UV, con lo que se obtiene una expresión de la velocidad intensiva de reacción. Esta velocidad de reacción debe introducirse en el término de reacción del balance de materias que, una vez resuelto, permite obtener una

expresión que describe la variación del contenido del componente estudiado con el tiempo de irradiación. Los datos experimentales se ajustan a esta expresión, y se obtienen los parámetros que definen el proceso de tratamiento fotoquímico del compuesto sobre el que se está estudiando el efecto de la radiación UV.

En el presente trabajo se presenta la modelización matemática de procesos de degradación de compuestos tóxicos en solución acuosa. Para ello, se toman como compuestos modelo la ocratoxina A (OTA) y los pesticidas benomilo y tiabendazol. Se mostrará con detalle los cálculos para la fotodegradación OTA y, para el caso de los pesticidas, únicamente se presentarán las tablas de resultados que muestran los valores de las constantes cinéticas de fotodegradación.

CINÉTICA DE DEGRADACIÓN FOTOQUÍMICA

Con el fin de evaluar la degradación fotoquímica de los compuestos tóxicos se supone una cinética de degradación en tres etapas, de modo que se puede escribir:



En una primera etapa la molécula del compuesto tóxico (A) absorbe la radiación y pasa a un estado excitado (A*). La molécula en estado excitado puede decaer a su estado fundamental (etapa 2), o bien formar fotoproductos (etapa 3).

Asumiendo estado pseudoestacionario para el intermedio activado A*, se obtiene que la velocidad intensiva de reacción se puede expresar como:

$$r_A = -\sum_{\lambda} \varepsilon_{\lambda} I_{\lambda} K_A C_A \quad (1)$$

donde C_A es la concentración del producto tóxico, I_{λ} es la intensidad de radiación a la longitud de onda λ , ε_{λ} es el coeficiente de extinción molar a la longitud de onda λ y K_A es una constante que depende de k_D y k , según la siguiente ecuación:

$$K_A = \frac{k}{k + k_D} = \frac{1}{1 + \frac{k_D}{k}} \quad (2)$$

Es importante resaltar que la radiación que produce esta reacción es policromática, debiendo tener en cuenta que la expresión final de la velocidad de reacción es un sumatorio para todas las longitudes de onda involucradas en el proceso.

El proceso de irradiación se lleva a cabo en un reactor perfectamente agitado de volumen V , trabajando en discontinuo. Al aplicar un balance de componente, y teniendo en cuenta la expresión de la velocidad de reacción (ecuación 1), se obtiene:

$$\frac{dC_A}{dt} = -\frac{1}{V} \int \sum \varepsilon_{\lambda} I_{\lambda} K_A C_A dV \quad (3)$$

El flujo de radiación absorbido por el compuesto se puede obtener a partir de la expresión:

$$W_{\text{Abs,A}} = \int \sum \varepsilon_{A\lambda} I_{\lambda} C_A dV \quad (4)$$

Este flujo de radiación es función de la concentración de la solución que se está irradiando. Por ello, se puede definir una función de radiación (k_R) como la relación entre la radiación absorbida por el compuesto y su concentración en la solución reactante:

$$k_R = \frac{W_{\text{Abs,A}}}{C_A} \quad (5)$$

A medida que avanza el proceso de radiación, la concentración del componente A disminuye, lo que significa que la radiación absorbida también decrece. Por consiguiente, si se supone que la relación entre ambos valores permanece constante, la ecuación 3 se puede integrar, obteniendo:

$$C_A = C_A^0 \exp(-m_A t) \quad (6)$$

donde:

$$m_A = \frac{k_R K_A}{V} \quad (7)$$

Se observa que, a partir del mecanismo cinético propuesto, se obtiene que la degradación del compuesto A se puede ajustar a un modelo cinético de primer orden, con una constante global de fotodegradación m_A .

CAUDAL DE RADIACIÓN

En todo proceso de tratamiento con radiación UV es necesario obtener el caudal de radiación que llega a la solución que se desea tratar. Para ello es necesario conocer la geometría del reactor, así como el espectro de absorción de la solución y el espectro de emisión de la lámpara. Los resultados mostrados en el presente trabajo se han obtenido utilizando una instalación como la descrita por Falguera *et al.* (2011b), consistente en un tanque de metacrilato perfectamente agitado de 22x15x10 cm, donde la solución a tratar alcanza una altura de 2,4 cm, con un volumen total de 800 mL. La fuente de irradiación es

una lámpara de mercurio de media presión Philips HPM-12 (Philips, Eindhoven, The Netherlands) de 400 W de potencia nominal que emite en el intervalo de 250 a 740 nm, con una potencia real de $3,88 \times 10^{-7} \text{ E} \cdot \text{min}^{-1}$.

Es importante resaltar que la solución reaccionante únicamente absorberá la radiación cuyas longitudes de onda coincidan en ambos espectros. En las Figuras 1 y 2 se muestran los espectros de emisión de la lámpara y de absorción de una solución de OTA, respectivamente. Se observa que las longitudes de onda coincidentes entre ambos espectros se hallan en el intervalo de 255 a 445 nm. En la Tabla 1 se muestran las características de absorción de una solución de OTA y el espectro de emisión de la lámpara, para las longitudes de onda coincidentes.

El flujo de radiación absorbido por el compuesto se puede obtener a partir de la ecuación 4. En el caso que se considere que la lámpara emita según un modelo lineal esférico (Falguera *et al.*, 2011b), se obtiene que la radiación absorbida se puede obtener a partir de la ecuación:

$$W_{\text{Abs,A}} = \sum_{\lambda} \int_{x=0}^{x=A} \int_{y=0}^{y=B} \int_{z=0}^{z=C} \mu_{\lambda} \frac{W_{L,\lambda}}{4\pi L} \int_{y_L=y_0}^{y_L=y_0+L} e^{-\frac{\mu_{\lambda} z}{\sin \Psi}} \frac{1}{d^2} dy_L dx dy dz \quad (8)$$

En la se debe tener en cuenta que la radiación que llega a cada punto del reactor proviene de todos los puntos de la lámpara, y que para obtener la radiación absorbida por todos los puntos debe integrarse para todo el volumen del reactor.

Las variables de la ecuación 8 son: λ que es cada una de las longitudes de onda en las que la emisión de la lámpara y de la solución coinciden, A , B and C son las dimensiones del reactor; μ_{λ} es el coeficiente de absorción ($\mu_{\lambda} = \varepsilon_{\lambda} \cdot C$); $W_{L,\lambda}$ es la energía emitida por la lámpara por unidad de longitud de la misma (para cada longitud de onda); L es la longitud de la lámpara; Ψ es el ángulo entre el punto considerado del reactor y el punto considerado de la lámpara entre las que se evalúa la integral (ver Figura 3), y d es la distancia entre estos dos puntos.

Para obtener la energía absorbida por la solución reactante en todo el volumen de reacción se debe resolver la ecuación 8. Para ello, se dispone de un programa por ordenador que permite este cálculo, utilizando el método de integración por Simpson. En el caso de soluciones de OTA cuya concentración sea de 100 $\mu\text{g/L}$, la cantidad total radiación absorbida es de 0,201 W.

Asimismo, mediante el mismo programa de ordenador es posible calcular el valor de la función de radiación, k_R , en función de la concentración de OTA (Figura 4). Como se

observa en la Figura 4 esta función apenas varía con la concentración de OTA, habiéndose obtenido que la función radiación en el intervalo de concentraciones de trabajo apenas varía en un 2%. Por ello, se puede tomar un valor medio de esta función en todo el intervalo de trabajo, siendo este valor $k_R = 2.39 \pm 0.04 \text{ einstein}\cdot\text{L}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{mol}^{-1}$.

FOTODEGRADACIÓN DE COMPUESTOS TÓXICOS

En este apartado se presenta la degradación de diferentes compuestos tóxicos (toxinas y pesticidas) con radiación UV, con el fin de obtener las constantes cinéticas del proceso de fotodegradación.

Fotodegradación de ocratoxina A

Se irradiaron soluciones de OTA a pH 7, para cuatro temperaturas de trabajo diferentes (15, 25, 25 y 45°C). En la Figura 5 se muestra la evolución de la concentración relativa de OTA con el tiempo de irradiación, para las diferentes temperaturas de trabajo. Se observa que el tratamiento con radiación UV es adecuado para degradar OTA, y que es más efectivo a medida que aumenta la temperatura. Con el fin de evaluar esta fotodegradación, los datos experimentales de la Figura 5 se han ajustado a una cinética de primer orden (ecuación 6), obteniendo que tanto el ajuste como los estimados de los parámetros son significativos a un nivel de probabilidad del 95%. En la Tabla 2 se muestra el resultado de los ajustes, pudiéndose observar que la constante cinética global (m_A) aumenta con la temperatura, lo que indica que la fotodegradación se ve favorecida por el aumento de temperatura. A partir de la ecuación 7 y de la constante global de fotodegradación (m_A), con los valores del volumen de reacción (V) y del valor medio de la función de radiación (k_R) es posible obtener el valor de una nueva constante (K_A). En la Tabla 3 se muestran los valores de esta constante para los diferentes pH y temperaturas ensayados. El valor de esta constante representa el rendimiento cuántico de la reacción; es decir, los moles de OTA degradados por cada mol de fotones absorbidos. Se observa que a medida que aumenta la temperatura, aumenta el valor del rendimiento cuántico; por lo tanto, el proceso de degradación fotoquímica de OTA será más eficiente si se aumenta la temperatura de tratamiento.

Además, a partir de la ecuación 2 y con el valor del rendimiento cuántico es posible obtener el valor de la relación entre constantes de decaimiento y de formación de productos (k_D/k). En la misma Tabla 2 se muestran los valores de esta relación de constantes, donde se puede observar que sus valores son superiores a la unidad, lo que indica que la etapa de decaimiento de OTA activada a su estado fundamental es más rápida que la etapa de

formación de fotoproductos. Sin embargo, también se observa que su valor disminuye cuando la temperatura aumenta, por lo que la velocidad de la etapa de formación de fotoproductos aumenta al aumentar la temperatura.

Fotodegradación de benomilo

Se irradiaron soluciones acuosas de benomilo a cuatro pH diferentes (1, 5, 7 y 8), habiéndose observado que su concentración disminuía con el tiempo de irradiación. Para obtener una ecuación cinética de fotodegradación se ha supuesto un mecanismo en tres etapas, como el descrito anteriormente. Sin embargo, en este caso, el benomilo en solución acuosa experimenta una etapa de hidrólisis que lo transforma en carbendazima. Si k_H es la constante de hidrólisis, la ecuación de velocidad intensiva de reacción para el benomilo se expresa como:

$$r_A = -\sum_{\lambda} \varepsilon_{\lambda} I_{\lambda} K_A C_A + k_H C_A \quad (9)$$

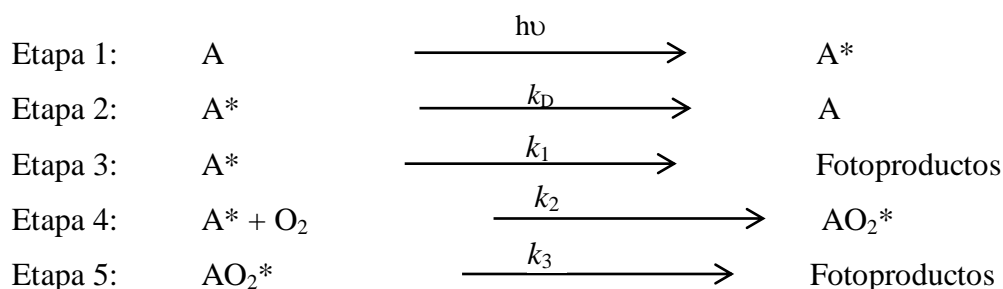
Realizando un tratamiento análogo al descrito anteriormente se obtiene una expresión similar a la ecuación 6. Sin embargo, en este caso, la constante global será:

$$m_A = \frac{k_R K_A + k_H V}{V} \quad (10)$$

Operando de forma similar a como se ha descrito para la OTA es posible obtener los datos cinéticos que se presentan en la Tabla 3. Se observa que los valores de la constante global de fotodegradación (m_A) aumentan al aumentar el pH, lo que indica que en medios más ácidos la degradación del benomilo es más lenta. Los valores del rendimiento cuántico (K_A) aumentan con el aumento del pH, por lo que el aprovechamiento de la radiación es mayor. Por otra parte, se observa que la relación entre las constantes de decaimiento y de formación de fotoproductos (k_D/k) disminuye con el aumento del pH, lo que indica que Aunque la etapa de decaimiento es mayor que la de formación de fotoproductos, esta última se hace más importante a medida que crece el pH del medio de reacción. Asimismo, la séptima columna representa la relación existente entre la etapa de fotodegradación y la de hidrólisis. Como los valores de esta relación son mayores que la unidad, la etapa de fotodegradación predomina sobre la hidrólisis. Además, esta relación va aumentando con el aumento del pH, indicando que la etapa de fotodegradación es más importante a medida que aumenta el pH del medio de reacción.

Fotodegradación de tiabendazol

Se irradiaron soluciones acuosas de tiabendazol a tres pH diferentes (5,5, 7 y 11). Además, se estudió el efecto que la presencia de oxígeno disuelto podía ejercer sobre la fotodegradación de este pesticida. A temperatura ambiente el agua suele contener alrededor de 6 ppm de oxígeno disuelto. Con el fin de eliminar el oxígeno del agua, se borboteó una corriente de nitrógeno a través de las soluciones de tiabendazol, consiguiendo rebajar el contenido de oxígeno disuelto hasta un valor de 2 ppm. En este caso, se supone que el mecanismo cinético de degradación difiere del anteriormente indicado, de modo que a las tres etapas mostradas se deben añadir dos nuevas etapas. En una etapa 4, se supone que la molécula activada interacciona con el oxígeno para dar un compuesto activado de oxígeno (AO_2^*), que en una etapa 5 puede dar lugar a nuevos fotoproductos. Así, el nuevo mecanismo de reacción será:



Con este nuevo mecanismo de reacción, para la velocidad intensiva de reacción, se obtiene una expresión análoga a la ecuación 1, en la que la constante K_A se define como:

$$K_A = 1 - \frac{1}{1 + \frac{C_{O_2} k_2}{k_D} + \frac{k_1}{k_D}} \quad (11)$$

Los datos experimentales de la degradación de tiabendazol con el tiempo de irradiación siguen una caída exponencial, pudiéndose ajustar a la ecuación 6, lo que permite obtener el valor de la constante global (m_A). Operando de modo similar al desarrollado para OTA ha sido posible obtener los diferentes parámetros cinéticos que se muestran en la Tabla 4. Se observa que para pH ácido y neutro la constante global presenta un valor similar; sin embargo para pH básico esta constante posee un valor netamente superior, lo que indica que la degradación de tiabendazol se ve favorecida a pH básicos. Asimismo, se observa que las soluciones con un mayor contenido en oxígeno disuelto presentan valores ligeramente superiores de esta constante global, por lo que la presencia de oxígeno favorece la fotodegradación. Además, se observa que la etapa de decaimiento es superior a la de

formación de fotoproductos, aunque con el aumento de pH la etapa de formación de fotoproductos va tomando mayor importancia. Asimismo, se observa que la formación de fotoproductos es mayor a través de la etapa del complejo activado tiabendazol-oxígeno (AO_2^*), lo que indica que la presencia de oxígeno favorecerá la fotodegradación de este pesticida.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean agradecer al *Ministerio de Ciencia e Innovación* del Gobierno de España por la ayuda recibida en el proyecto CTQ2011-26569, ya que parte de los resultados presentados en este trabajo han sido obtenidos en el desarrollo de este proyecto.

BIBLIOGRAFÍA

Assatarakul, K.; Churey, J.J.; Manns, D.C.; Worobo, R.W. (2012). Patulin reduction in apple juice from concentrate by UV radiation and comparison of kinetic degradation models between apple juice and apple cider. *Journal of Food Protection*, 75(4), 717-724.

Dong, Q.; Manns, D.C.; Feng, G.; Yue, T.; Churey, J.J.; Worobo, R.W. (2010). Reduction of patulin in apple cider by UV radiation. *Journal of Food Protection*, 73(1), 69-74.

Falguera, V.; Pagán, J.; Garza, S.; Garvín, A.; Ibarz, A. (2011a). Ultraviolet processing of liquid food: A review: Part 2: Effects on microorganisms and on food components and properties. *Food Research International*, 44, 1580-1588.

Falguera, V.; Esplugas, S.; Vicente, M.; Ibarz, A. (2011b). Modeling of absorbed radiation profiles in a system composed by a plane photoreactor and a single lamp. *Food Research International*, 44, 3111-3114.

Tikekar, R.V.; Anantheswaran, R.C.; LaBorde, L.F. (2013). Patulin degradation in a model apple juice system and in apple juice during ultraviolet processing. *Journal of Food Processing and Preservation*, DOI: 10.1111/jfpp.12047, URL: <http://dx.doi.org/10.1111/jfpp.12047>

TABLAS Y FIGURAS
Tabla 1.- Energía emitida por la lámpara, coeficiente de extinción molar y coeficiente de absorción (ocratoxina 50 µg/L), para longitudes de onda seleccionadas.

λ (nm)	ϵ_{λ} (L·mol ⁻¹ cm ⁻¹)	$\mu_{\lambda}=\alpha_{\lambda}$ (cm ⁻¹)	$W_{L,\lambda}$ (W)
255	16078	1,991	0,179
265	9086	1,125	0,358
275	3968	0,491	2,0580
285	2360	0,292	5,190
295	2721	0,337	12,170
305	4612	0,571	5,369
315	8022	0,993	7,158
325	11796	1,461	7,606
335	13412	1,661	2,505
345	10540	1,305	2,505
355	5339	0,661	9,843
365	3968	0,491	23,087
375	4002	0,496	20,224
385	3502	0,434	6,085
395	2334	0,289	6,443
405	1142	0,141	23,981
415	582	0,072	65,144
425	409	0,051	28,814
435	372	0,046	13,154
445	363	0,045	11,186

Tabla 2.- Parámetros de la ecuación de primer orden para la fotodegradación de OTA a pH 7 y a diferentes temperaturas de trabajo.

T (°C)	<i>Ordenada</i> <i>Origen</i>	$m_{AX} \times 10^2$ (min ⁻¹)	$K_A \times 10^4$ (mol/einstein)	k_D/k	R^2
15	1,008	17,16	9,57	1044	0,9996
25	1,002	39,78	22,19	450	0,9999
35	1,047	48,48	27,05	369	0,9996
45	1,123	81,78	45,62	218	0,9966

Tabla 3.- Parámetros de la ecuación de primer orden para la fotodegradación de benomilo a diferentes pH.

pH	k_R	$m_A \times 10^5$	$k_H \times 10^5$	$K_A \times 10^3$	k_D/k	$\frac{k K_A}{k_H V}$	R^2
	(einst·L/mol·s)	(s ⁻¹)	(s ⁻¹)	(mol/einst)			
1	0,197	6,2	2,75	0,692	1444	1,24	0,9580
5	0,330	12,2	4,76	0,897	1114	1,55	0,9441
7	0,464	10,1	4,79	1,318	757	3,21	0,9963
8	0,637	43,4	6,92	2,288	436	5,21	0,9878

Tabla 4.- Parámetros de la ecuación de primer orden para la fotodegradación de tiabendazol, a diferentes pH y concentración de oxígeno disuelto.

C _{O2} (ppm)	pH	k_R	$m_A \times 10^5$	$K_A \times 10^5$	k_D/k_2	$(k_D/k_1) \times 10^5$	k_2/k_1	R^2
		(einst·L/mol·s)	(s ⁻¹)	(mol/einst)	(mol O ₂ /L)			
2	5,5	10,54	4,8	0,456	185	2,36	1200	0,999
	7	9,55	4,4	0,456	111	2,50	2250	0,997
	11	10,48	23,0	2,208	38,5	0,50	1300	0,995
6	5,5	10,54	5,5	0,523				0,994
	7	9,55	5,4	0,569				0,996
	11	10,48	27,0	2,536				0,992

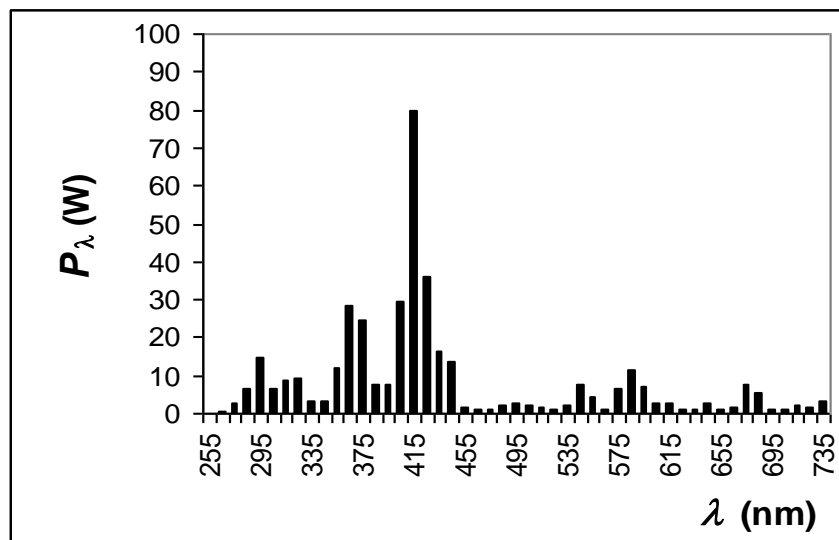


Figura 1. Espectro de emisión de la lámpara Philips HPM-12

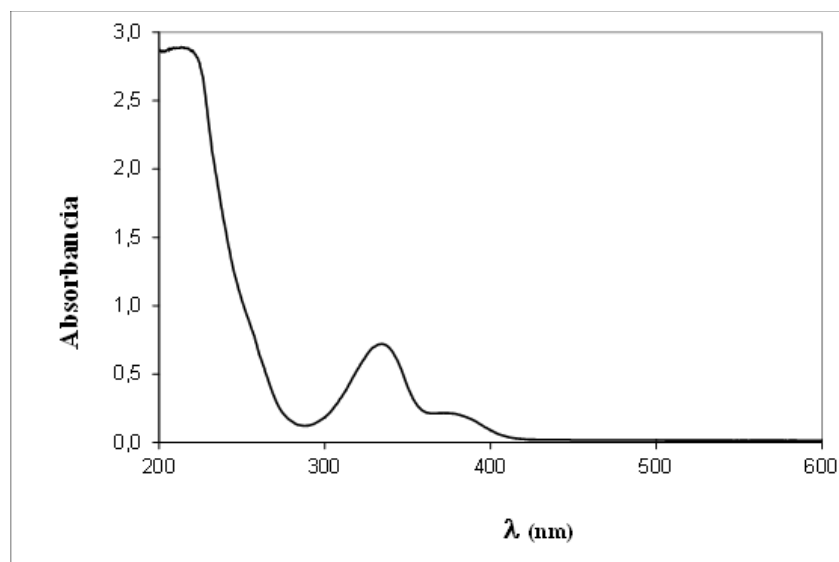


Figura 2. Espectro de absorción de una solución acuosa de OTA (50 mg/L)

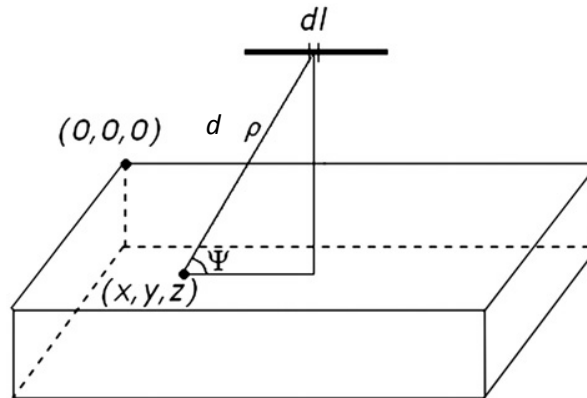


Figura 3.- Puntos de la lámpara y del reactor entre los que se realiza el balance de radiación

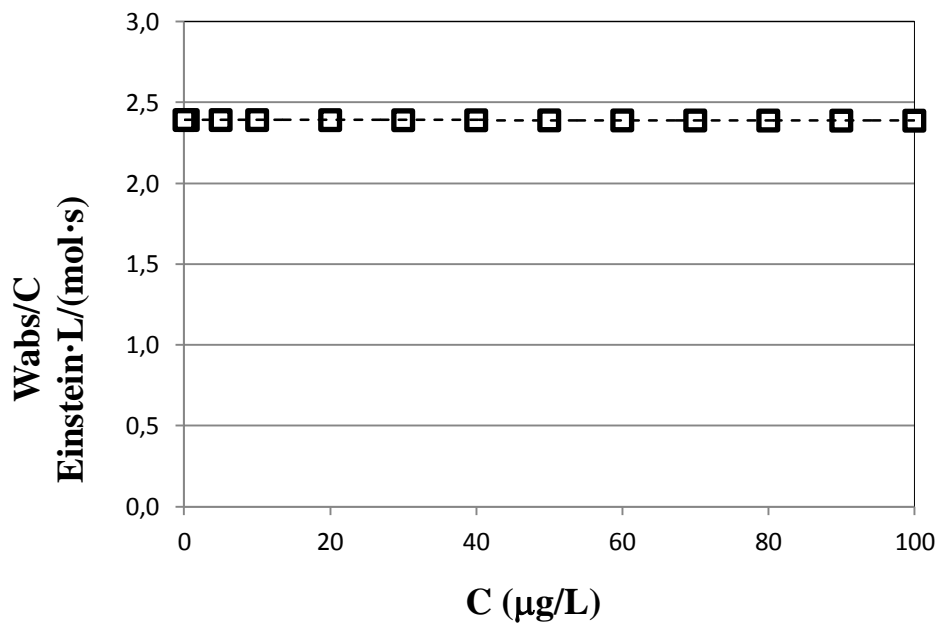


Figura 4.- Evolución de la función de radiación (k_R) con la concentración de OTA

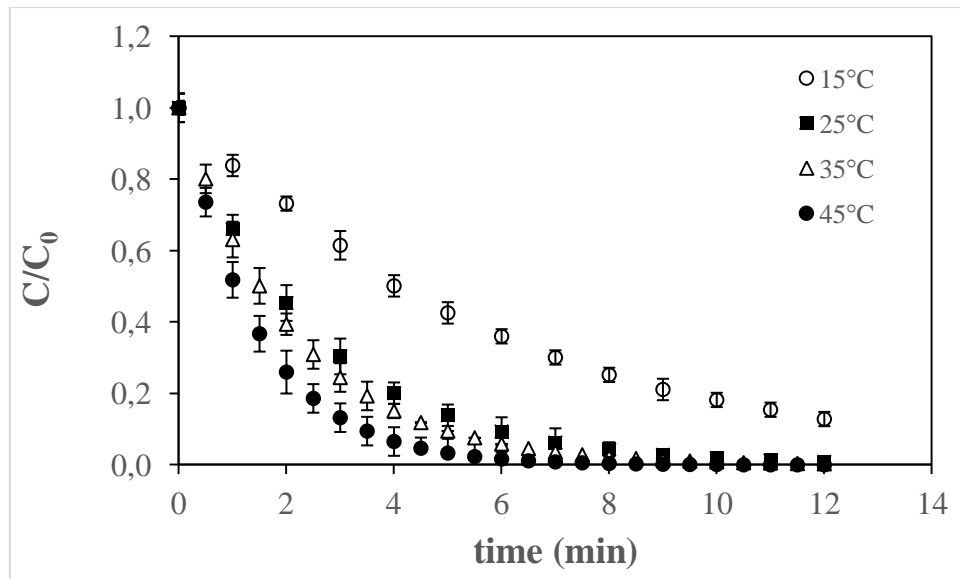


Figura 5.- Evolución de la concentración relativa de OTA con el tiempo de irradiación a pH 7 y a diferentes temperaturas de trabajo

DEVELOPMENT OF EDUCATION/RESEARCH/INDUSTRY INTERFACES TO FOSTER THE INNOVATION OF THE FOOD CHAIN

Paola Pittia

Facoltà di Bioscienze e Tecnologie Agroalimentari ed Ambientali – Università di Teramo
ISEKI_Food 4 project coordinator
Email: ppittia@unite.it

INTRODUCTION

Education in the food sector has to be aimed to foster and to improve the development of the society by transfer of knowledge and development of skills and expertise of students and trainees, meeting the expectations of the consumers and of job market.

The food technology/engineering scientific area is a rather new discipline that developed in Europe in the early 1950s (Kostaropoulos, 2012) along with education courses and degrees based on an integrated knowledge to respond to the highly specific skills and competences required by the food manufacturing sector aimed to guarantee the quality and safety of foods for the consumers. The distinctiveness of graduates in Food Science and Technology or Food Engineering, according to the country, is related to the multidisciplinary and highly specialised knowledge (comprising chemistry, biochemistry, physics, microbiology, process engineering and technology, management, logistics, market studies, informatics and science-based skills in food and in the processes needed to achieve food products with high quality and safety in agreement with legal requirements and consumers' expectations (Dumoulin, 2012). Nowadays, Food Science and Technology/Engineering degrees are included in the educational offer of many universities in all EU countries even if many factors contributed to the development of courses with a large variety of learning outcomes and branches (science vs engineering), sectors of specialisation (technology, engineering, nutrition, safety, quality, food production chain) and degree titles (Costa et al., 2014).

More than 200 1st level degrees, more than 100 2nd level degrees and more than 70 PhD programmes in food science and technology and related studies have been recently listed in a survey carried out within the ISEKI Food 4 project network (2014, *data not published*).

Currently the food sector is the single largest manufacturing sector in the European Union (FooddrinkEurope, 2012), and one of the most complex in terms of diversity of businesses with almost 99% of SMEs. The food and drink industry is the main employer in the European Union manufacturing sector (4.25 million employees, 15%). Industry of all

sizes and specialities, research institutes, government regulatory agencies and other, non-traditional enterprises, all employ food science and technology graduates and professionals. Besides the wide dissemination of food studies all over Europe a recent publication, however, highlighted that the workers of the food and drink industry are less qualified than the overall economy. A decrease of interest toward the professional career in the food science and technology sector by the young generation due to the poor public image of food production sector related to the health and safety issues, foodborne illness outbreaks, frauds and scandals.

On the other side, the food supply chain and the food production sector are facing main issues and among them, globalisation along with the development of international trade markets, increased world population that implies the needed increase of the food production to secure food for all, environmental issues and climate changes, nutritional and health aspects (malnutrition in the underdeveloped countries vs obesity in the more developed ones), the change of the consumers eating habits associated to the request of more nutritious and healthy foods as well as of tailor-made food products for specific dietetic requirements (ageing, celiac disease, intolerances, allergies).

The food and drink industry, despite being the single largest manufacturing sector in the EU, has been in the lower part of the innovation performance ranking and has been losing relative importance. Innovation is a main challenge of the food production sector that requires from one side main economic investments and applied research and on the other side the availability of experts, scientists and technologists with the appropriated technical skills and knowledge.

In this framework, education and training institutions are key stakeholder in the food sector by playing a role of utmost importance in the modernisation of the food sector and by providing the skills and technical expertise to food engineers and, more in general, food professionals to meet the incoming requirements of the modern industry and job market as well as the promotion of a knowledge-based system.

Well prepared food professionals, with the adequate skills and competencies, is a continuous challenge. Professionals in this field need to have a multidisciplinary view at European level, and good knowledge on safety, health and preference, and environmental and sustainability aspects. Moreover, actual conceptions of Lifelong Learning are focused on employability, flexible career and qualifications paths and strong connection among qualifications providers and society.

In order to meet the job market skills expectations, food studies and careers have to progressively adapt contents and disciplines, educational approaches and methodologies in order to allow the training of the food engineer of the current and future generations with innovative scientific knowledge and personal skills while keeping the peculiar multidisciplinary character of the profession.

To favour innovation of the whole food supply chain the development of a constructive academia-industry-research bridges is needed where the different stakeholders could interact and differently contribute towards the common objective and build up an integrative and transversal approach.

The European Commission has been financing several international academic networks, which the objectives are towards topics related with education/training, research, industry and governments.

Particularly in the food field, the ISEKI_Food (Integrating Safety and Environment Knowledge In Food towards European Sustainable Development - <http://www.iseki-food.eu/> and - <http://www.iseki-food4.eu/>) network was initiated eleven years ago.

ISEKI_Food was designed as a network of University and Research Institutions, Professional Associations, Industrial partners and Students Associations to foster collaboration on a variety of joint interest projects. Seven European and world wide academic networks projects received funding between 1998 and 2014 from the European Commission.

The main objectives of the network are to contribute to the European Higher Education Area (EHEA) in the field of Food Studies by internationalization and enhancement of quality.

This network has been progressively expanding, demonstrating that the interconnection between research, industry and academia on food technology and engineering is more and more important for the implementation of the whole food chain, through the setting of a modern and qualified education and training framework in an international dimension.

To support the identification of the training and career requirements of future European food professionals the ISEKI_Food network was promoter of a project under the FP7 that was positively approved. The TRACK_FAST project (<https://www.trackfast.eu/>), a KBBE support action (2009-2013), had as main objective the identification of the educational, training and career requirements of the next generation of food scientists and technologist and the implementation of a European strategy to recruit the next generation FST leaders. Some of the results of this project have been recently published (Flynn et al.,

2013a; Flynn et al., 2013b, Costa et al., 2014) and two interesting web-based tools have been set (“Foodgalaxy”, www.foodgalaxy.com; “Foodcareers”, www.foodcareers.eu).

To ensure the sustainability of the network activities the ISEKI_Food Association (<http://www.iseki-food.net/>) was founded in 2005 to be a leading network for all stakeholders in the food supply chain with regard to education, legislation and communication.

The ISEKI_Food projects and network

The ISEKI_Food network has developed a series of activities and products aimed to favour the interaction between university and research institutions, professional associations, industrial partners and students associations and develop mutual knowledge, exchange of ideas, at a European and International level to contribute to the development of all countries, locally and everywhere, to give right answers to an international changing market (Dumoulin, 2010, *History of the Food Network before ISEKI Food* - <https://www.iseki-food.eu/node/277>).

The ISEKI_Food projects started with the FoodNET project (1998-2000) and focused their activities to pool together experiences from all over Europe and to adapt teaching and training programmes to the future needs.

The main issues developed so far were aimed:

(i) to tune and align curricula in Food Studies. This activity is led to a document containing the minimum requirements of food studies that nowadays is a reference to the set-up of new curricula in Food technology or Food engineering in EU, as well as at international level. A database of curricula in Food science and technology in EU has been also developed,

(ii) to support the European and international cooperation and mobility of students, teachers and researchers: a platform to support international cooperation and mobility (PICAM_Food - <https://www.iseki-food.net/picam>), web databases for curricula, teaching materials and stakeholders (<https://www.iseki-food.net>). The aim of the latter is to maintain a worldwide network of all stakeholders in the food supply chain, who can be searched and contacted, to promote synergies between research, education/teaching and industry and to stimulate the development of joint projects or trade opportunities,

(iii) to develop innovative teaching materials and methods; including the ISEKI-Food book series published by Springer, A training platform including tailor made e-learning courses, web seminars and workshops facilitating Lifelong Learning,

(iv) to develop a quality evaluation system for Food curricula. A quality label was developed – the European Quality Accreditation System for Food Studies (EQAS-Food; https://www.iseki-food.net/EQAS_Food_Award). This label, managed by the ISEKI Food Association, aims to be a tool to award high quality food studies programmes, first and second cycle, of any higher education system, European or International meeting the learning outcomes, technical and personal skills and competences identified by the ISEKI-Food EQAS team.

(v) to favour lifelong learning through the promotion of the recognition of prior experiential learning and employability aligned curricula and supporting the Bologna reform on the change of a student-centred education, through the dissemination of good practices; and to develop efforts for the tuning of 3rd cycle studies (<https://www.iseki-food.eu/wp7>).

An important step of the ISEKI_Food network history was its internationalisation through the ISEKI_Mundus (2007-2008) and ISEKI_Mundus 2 (2008-2011) Erasmus Mundus projects, whose main objectives were to “foster the internationalization and enhance the quality of the European Higher Education Food Studies” and “Promotion of good communication and understanding between European countries and the rest of the world” (<https://www.iseki-food.eu>).

This allowed the ISEKI Food network to contribute towards the European Higher Education in a Global Context (http://www.ond.vlaanderen.be/hogeronderwijs/bologna/actionlines/global_context.htm), and today the ISEKI_Food network is one of the most successful EU networks, achieving significant impact through its internationalisation and communication with the rest of the world.

The currently ongoing ISEKI_Food-4 (2011-2014, www.iseki-food4.eu) is strongly committed to the modernization of the food studies and academic sector, to contribute to the innovation of the industry involved in the entire food chain, and to favour the internationalisation of the European Food studies. The current project involves a network of 89 partner from 27 EU eligible countries and 3 no-EU countries (Israel, Brasil and United States) as well as 50 associated partners 27 countries around the world.

The project is developing activities with the aim of supporting teachers and trainers to progressively adapt contents and disciplines, educational approaches, and methodologies in order to improve the knowledge and skills of the of the current and future generations of food scientists/technologists/engineers while keeping the peculiar multidisciplinary character of

the profession. This requires (i) the development of a constructive academia-industry-research interaction to implement the educational programmes and to meet the job market skills requirements; (ii) the qualification of the academic teaching staff; and (iii) the enhanced use of innovative educational methods and ITC training tools.

Thus, the project is highly focused at the development of activities within a framework of stakeholders to lead innovation in Food studies education & training, fitting enterprises' needs, and promoting innovation in the FS&T academic sector. In particular, the activities planned are aimed to lead to the:

- Modernisation of the education in the Food Studies by the identification of the learning outcomes fitting the current industry and research needs and the implementation of training and FS&T courses. Main output of the activities developed is a toolbox with best practices, documents and training materials to be used to implement and modernize Food Studies programs and promote their internationalization;
- Implementation of the labour market role in the 3rd level of education and promotion of the employability & entrepreneurship of the FS&T graduates and food professionals. A Virtual Platform for doctoral candidates to favor their networking and training with material useful to acquire knowledge and technology transfer skills, is currently under development.
- Lecturing qualification in particular for the teaching staff involved in the professional FS&T disciplines. Main outcome will be a qualification frame for Higher Education Teaching Staff including a Training School for teachers in Food Science and technology.

Innovative teaching materials will be also developed, including smart books for students in Food studies, e-learning training courses, an a pilot Virtual lab on food processing (fish canning in particular) will be also developed with the contribution of all the partners of the network.

Important products of the ISEKI_Food projects include also:

- The International Journal of Food Studies (IJFS - <http://www.iseki-food-ejournal.com/ojs/> - ISSN: 2182-1054), an international peer-reviewed open-access journal featuring scientific articles on the world of Food in Education, Research and Industry. This journal is published twice per year and is mainly directed to scientists, technologists, researchers, teachers and students working in the food sector. Manuscripts receive a DOI through CrossRef and IJFS is being indexed in all the major scientific databases, directories and websites specific to the publishing area and of journals in Open Access.

- The International ISEKI_Food conference (<http://www.isekiconferences.com/>) already organized in 2008 and 2011, in Porto and Milan, respectively and currently is ongoing the organization of the 3rd one (Athens, 21st-23th May 2014). The general aim of the ISEKI_Food conference series is to contribute to the creation of an "open" international forum for researchers, education scientists, technologists and industry representatives as well as food consumers, to promote constructive dialogue and collaboration on topics relevant to Food Science and Technology, Industry and Education and to present and disseminate the results of the activities developed by the ISEKI_Food network projects.

The ISEKI-Food Association (<http://www.iseki-food.net/>)

This association is an outcome of ISEKI_Food projects, founded in 2005 to guarantee the sustainability of all the results from several projects after the financial support of the European Commission. The organization includes both individual and company/university registered members from over 60 countries around the world, and focuses on promoting synergy between research, education/teaching and industry with respect to Food Science and Food Technology, promote global food quality assurance, development of a virtual community of experts in the field of food, with communication to the general public, establish a framework of agreements among partners, fostering the mobility of students and staff, and create internal bodies that promote the integration of science and engineering knowledge into the food chain and to recognize outstanding achievements in food sciences through the ISEKI Academy (<https://www.iseki-food.net/node/2891>).

Several Special Interest Groups SIGS have been developed inside IFA Association. The SIG's are offering a forum for IFA members -and non-IFA members- with similar goals, to stimulate the development of new projects and activities, and to establish a network of experts from Universities, research institutions and companies in the food chain. Objectives are both oriented to research and education fields (<https://www.iseki-food.net/sigs>). At the moment 4 SIG's have been set: 1) Food Structure and Physical Properties; 2) Bionanotechnology; 3) Networking (Promotion of Information and Networking on Research and Education Programs; and 4) Bioactive compounds. Examples of the outcomes are projects (<http://www.foodstructuredesign.net/>), workshops, and webinars (<https://www.iseki-food.net/List-of-Webinars>).

IFA is also open to subsections outside Europe. The first one, the IFA-Indonesia subsection (<https://www.iseki-food.net/Indonesia>), began in 2011 when a group of Food

Technologist met at Universitas Pelita Harapan in Tangerang, Indonesia to discuss the formation of a professional Indonesian association under the main Iseki-Food Association Europe. The Association was established as a networking association to become an organization that provides information about Food technology and its associated industries in Indonesia and/or in Asia. The association also aims to promote and encourage research and interest in the food technology fields, and also to introduce the food science and technology in Indonesia to the world.

REFERENCES

- Chryssolouris, G., Mavrikios, D., Mourtzis, D. (2013). Manufacturing Systems: Skills & Competencies for the Future. Forty Sixth CIRP Conference on Manufacturing Systems 2013, Procedia CIRP 7, 17 – 24, doi: 10.1016/j.procir.2013.05.004.
- Costa R., Smole Mozina S., Pittia P. 2014. Regulation of Food Science and Technology Professions in Europe. *International Journal of Food Studies*, 3, 125-135.
- Dumoulin, E. (2012). Changes and perspectives in Food Studies. *International Journal of Food Studies*, 1, 211-221.
- Flynn K., Wahnström E., Popa M., Ruiz-Bejarano B., Quintas M.A.C. 2013. Ideal skills for European food scientists and technologists: Identifying the most desired knowledge, skills and competencies. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 18, 246–255.
- Flynn K., Ruiz-Bejarano B., Wahnström E., Echim C., Quintas M.A.C. 2013. Profile of currently employed European food scientists and technologists: Education, experience and skills. *International Journal of Food Studies*, 2, 137-149.
- Kostaropoulos, A.E. (2012). Food Engineering within Food Sciences. *International Journal of Food Studies*, 2, 109-113.

APLICACIÓN DE DESINFECTANTES ORGÁNICOS PARA LA DESTRUCCIÓN DE MICROORGANISMOS PATÓGENOS AISLADOS DEL PROCESO PRODUCTIVO DE TUNTA (ILAVE, PUNO)

Velezmoro Carmen^a, Santos Ricardo^b, Ramos Elena^b, Martínez Patricia^a, Valdez Jenny^a, Zúñiga Doris^b

^aDepartamento de Ingeniería de Alimentos, Facultad de Industrias Alimentarias.

^bLaboratorio de Ecología microbiana y Biotecnología “Marino Tabusso”, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias.

Universidad Nacional Agraria La Molina. Av. La Molina s/n La Molina, Lima, Perú.

e-mail: cevs@lamolina.edu.pe

La tunta es un producto de papa liofilizada naturalmente en la región andina y ha sido consumida desde hace cientos de años dentro de la misma región. Por ser un producto que se elabora en forma totalmente natural podría ser considerado como un producto orgánico con potencial de exportación. No obstante, investigaciones previas determinaron la presencia de hongos y bacterias en el producto que se vende en mercados locales, lo cual constituye un problema para la salud debido a la posible formación de micotoxinas. Así también, para cumplir con la Norma Técnica Peruana, algunos productores de tunta han optado por la aplicación de hipoclorito de sodio como desinfectante en la concentración 1,5 mL/L. Como es sabido, el cloro representa un riesgo para la salud, pues se generan productos orgánicos dañinos durante la cloración. Actualmente, existen en el mercado, desinfectantes no clorados que son inocuos para la salud, como los derivados de extractos de cítricos, que son orgánicos y biodegradables. Al ser biodegradables, elimina cualquier riesgo de contaminación ambiental y acumulación en el organismo, es por eso pueden ser usados sin restricción y no tienen efectos colaterales en las personas, animales, alimentos, equipos y locales. El objetivo de esta investigación fue evaluar el empleo de dos desinfectantes comerciales, uno a base de compuestos orgánicos naturales y otro de dióxido de cloro, para lograr la eliminación de microorganismos patógenos aislados de la cadena productiva de tunta del distrito de Ilave (Puno).

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestras

Los desinfectantes evaluados fueron: CitroBio®, Citrokill 5%, Biocitro, Dioxil Plus e hipoclorito de sodio.

La optimización de la aplicación de los desinfectantes para el control de los microorganismos aislados, se realizó considerando las siguientes etapas: (1) establecimiento de la

concentración o carga microbiana para la aplicación de la metodología del halo de inhibición y (2) evaluación de la sensibilidad a los desinfectantes.

Métodos

La evaluación de los desinfectantes se realizó en primer lugar en el laboratorio, donde se empleó el método del disco sobre placas de agar nutritivo para sembrar las bacterias aisladas de la Tunta. Posteriormente se realizó una prueba de validación en campo, usando hipoclorito de sodio como referencia. Se sumergieron las papas peladas, antes de la deshidratación, en las soluciones desinfectantes preparadas a diferentes concentraciones de 5 a 10 ppm. Posteriormente fueron colocadas en bolsas estériles y almacenadas por debajo de 10 °C con gel pack hasta su envío al laboratorio para el respectivo procesamiento.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Evaluación de la sensibilidad a los desinfectantes

Los desinfectantes aplicados son basados en ácidos orgánicos como el ácido cítrico principalmente, el hipoclorito de sodio se empleó como referencia. En la tabla 1 se muestran los resultados de la incubación de las cepas de *Hafnia* sp, *Buttiauxella* sp y *Acinetobacter* sp., y se observa que el desinfectante comercial, CitroBio presentó halos de inhibición mayores a los obtenidos con los demás desinfectantes. El mayor efecto inhibitor se presentó en *Acinetobacter* sp comparado con los otros dos microorganismos ensayados.

Aplicación de desinfectantes en campo

Para la realización de este ensayo se tomaron muestras de Tunta provenientes del proceso de producción, después del descascarado. La carga microbiana no fue inoculada, sino que se tomó como carga inicial los microorganismos aerobios viables presentes en la Tunta. A continuación se reportan los resultados obtenidos en las muestras de agua (1), papa sin pelar sumergida y oreada (2) y papa descascarada (3).

1. Análisis microbiológico del agua de río y remanente de desinfectantes

Para la preparación de la solución de desinfectantes se empleó agua de río, la única disponible en la zona; por lo que fue necesario evaluar la calidad microbiológica de la misma. Además, se tuvo en cuenta que el descascarado de la papa se realiza dentro del río en una zona cercana de la orilla. Posterior a la exposición de las papas descascaradas con el desinfectante se evaluó la carga microbiana de los remanentes.

Los resultados de la Tabla 2, muestran que en la mayor concentración de los remanentes de desinfectantes (C2) existe una diferencia significativa respecto a la menor (C1), en general, en los tres remanentes de desinfectantes se encontraron bajas cargas

microbianas con respecto a la del agua de río (menos en el caso de hipoclorito de sodio a 4 ppm). Se puede concluir que existe un buen efecto inhibidor en los tres desinfectantes, siendo el CitroBio el de mayor significancia.

2. Análisis microbiológico de papa

Se evaluó tres tipos de cargas microbianas: bacterias, mohos y levaduras. Los resultados muestran que sólo el nivel de carga bacteriana aumentó en un ciclo logarítmico después del descascarado de la papa, mientras que el de mohos y levaduras se mantuvo igual (Tabla 3). Esto confirma la necesidad de aplicar desinfección en esta etapa después del descascarado de la papa y antes de proceder al deshidratado para obtener la Tunta. Se observa que el recuento de mohos en la papa descascarada fue relativamente bajo comparado con el recuento de bacterias y levadura.

3. Análisis microbiológico de la papa sometida a la desinfección en campo.

A nivel de campo, los desinfectantes naturales tuvieron efecto inhibidor sobre los microorganismos viables presentes, con disminución hasta de 3 ciclos logarítmicos en el recuento de bacterias a concentración de 10 ppm durante 10 min. Los resultados indican (Tablas 4, 5 y 6) que el desinfectante CitroBio tuvo mejor efecto en la inhibición de bacterias y levaduras. En cuanto al Dioxill Plus sólo presentó inhibición en la carga microbiana de levaduras. Mientras que, el hipoclorito de sodio tuvo mejor efecto inhibidor sobre los mohos. De hecho, el efecto que producen los componentes de los desinfectantes sobre el microorganismo es distinto, pues los mecanismos de destrucción de la pared celular o inhibición del transporte de electrones se presentan también en diferente forma según el tipo de microorganismo.

CONCLUSIONES

Existen bacterias patógenas del género *Enterobacteriaceae* aisladas de la cadena productiva de elaboración de Tunta: *Hafnia* sp. y *Buttiauxella* sp. Dentro de los tres desinfectantes derivados de cítricos evaluados en el presente trabajo, el CitroBio® fue el que presentó mayor efecto inhibidor en bacterias y levaduras presentes en la cadena productiva de Tunta. Se determinó que el tiempo entre 5 y 10 minutos de exposición de una bacteria patógena, como *Hafnia* sp., el desinfectante CitroBio no tuvo efecto inhibidor diferente; sin embargo la concentración de 10 ppm tuvo el mejor efecto. En los ensayos de campo se obtuvo el mejor efecto inhibidor en bacterias y levaduras con 10 ppm de CitroBio y 10 minutos de exposición al desinfectante. Existen bacterias de los géneros *Bacillus*, *Pseudomonas* y *Enterobacteriaceae* en la cadena productiva de Tunta, que presentan

resistencia al desinfectante hipoclorito de sodio en dosis recomendadas para productos orgánicos.

AGRADECIMIENTO

Esta investigación fue financiada por el proyecto PROCOM 273-2009-CONCYTEC-OAJ., así como el proyecto Biol-111/FDA-UNALM.

REFERENCIAS

Codex Alimentarius y Seguridad Alimentaria 2003. En busca de una buena salud. Sistemas Gráficos Color. AIS, CODEDCO, IBFAN, FUNAVI, Bolivia, WEMOS HOLANDA & OPS/OMS Bolivia Primera Edición. La Paz, Bolivia., pp. 147.

Canahua A & Aguilar P.1992. Agroecología de las papas amargas en Puno. En: Rea y Vacher, pp.57-61.

Ccama, F. 1991. Desarrollo Rural, Posibilidades y limitaciones en Puno. Ed INIA- PISA, Puno, Perú.

Conte A., Scrocco C., Sinigaglia M., Del Nobile M.A. 2009. Lemon extract as natural preservative in fruit salad. Journal of Food Safety. Vol 29: 601-616.

Estrela C., Estrela CRA., Barbin E., Spanó J., Marchesan M. & Pécora J. Mechanism of Action of Sodium Hypochlorite [en línea]. Enero de 2002 [citado julio 30 de2003]. Disponible en [http://www.forp.usp.br/bdj/bdj13\(2\)/v13n2a07/v13n2a07.html](http://www.forp.usp.br/bdj/bdj13(2)/v13n2a07/v13n2a07.html)

Fuster N. 2006. Importancia del control higiénico de las superficies alimentarias mediante técnicas rápidas y tradicionales para evitar y/o minimizar las contaminaciones cruzadas. Memoria de la tesis de Doctorado en Ciencia de los Alimentos. Universidad Autónoma de Barcelona.

Herruzo R. 2000. Desinfectantes españoles para el Siglo XXI. Anales de la real Academia Nacional de Medicina, 791-806.

Hijmans R. J. 1999. Estimating frost risk in potato production on the Altiplano using interpolated climate data. Impact on a changing world. Program Report 1997-1998. International Potato Center, Lima. pp. 373-380.

Huanco V. 1992. Potencial de las Papas Amargas en el Altiplano de Puno, Perú. En: Mesa Redonda Perú -Bolivia sobre Papa Amarga. Edit. ORSTOM La Paz, Bolivia.

ICMSF. 1983. Microorganismos de los alimentos 1. Técnicas de análisis microbiológico. Editorial Acribia. Zaragoza. España.

Ita P. y Hutkins R.W. 1991. Intracellular pH and survival of *Listeria monocytogenes* Scott A in tryptic soy broth containing acetic, lactic, citric and hydrochloric acids. J. of Food protection. Vol 54: 15-19.

Kirck & Othmer. 1966. Encyclopedia of Chemical Technology; Volumen 2, Hexanes to Ion Exchange; Interscience Publishers; Jhon Wiley & Sons, Inc.; New York, U.S.A.

Ölmez H. & Kretzschmar U. 2009. Potential alternative disinfection methods for organic fresh-cut industry for minimizing water consumption and environmental impact. *Food Science and Technology*. 42 (3): 686-693.

OrganicSa. 2009. Oportunidad de ingresos económicos en Perú por Alimentos Orgánicos. En: <http://www.organicsa.net/oportunidad-de-ingresos-economicos-en-peru-por-alimentos-organicos.html>. Última accesión: 20.04.2010.

Pellicer K., Del Hoyo G., Brocardo M.S., Aliverti V. Aliverti F. y Copes J. 2009. Efecto del Ácido Clorhídrico y Ácido Láctico sobre el desarrollo de treinta cepas de *Listeria* spp. aisladas de alimentos. *Rev. Fac. Cienc. Vet.*, Vol.50, no.1, p.19-22.

Raybaudi R. Mosqueda J. Sobrino A. Soliva R y Martin O. 2009. Use of malic acid and other quality stabilizing compounds to assure the safety of fresh-cut “fuji” apples by inactivation of *listeria monocytogenes*, *salmonella enteritidis* and *escherichia coli* o157:h7. *Journal of Food Safety*. Vol 29:236-252.

Rea J. 1992. Vigencia de las papas nativas en Bolivia. En: Rea and Vacher. p. 15-23.

Suslow T. 2006. Making sense of rules governing chlorine contact in postharvest handling of organic produce. Publication 8198. University of California. Division of Agriculture and Natural Resources. In: <http://anrcatalog.ucdavis.edu>. Último acceso: 04.05.2010.

Velezmoro C., Ramos E., Santos R. y Zuñiga D. 2010. “Caracterización microbiológica y físico química de la tunta elaborada en el distrito de Ilave, Puno” PROCOM 255 – 2008 – CONCYTEC – OAJ.

Versalovic J., Koeuth T. & Lupski J. 1991. Distribution of repetitive DNA sequences in eubacteria and application to fingerprinting of bacterial genome. *Nucleic Acids Research* 19: 6823-6831.

Tabla 1. Recuentos estándar en placa y halos de inhibición empleando los desinfectantes
A. CitriBio

Microorganismo	C. Inicial Inóculo (UFC/mL)	UFC/placa	Halo de Inhibición (mm)		
			5.0 ppm	2.5 ppm	1.0 ppm
<i>Acinetobacter sp.</i>	11×10^4	11×10^3	13.75	12.00	11.50
<i>Buttiauxella sp.</i>	42×10^5	42×10^4	7.75	7.25	6.75
<i>Hafnia sp.</i>	88×10^5	88×10^4	6.75	6.25	-

B. Citrokill

Microorganismo	C. Inicial Inóculo (UFC/mL)	UFC/placa	Halo de Inhibición (mm)		
			10.0 ppm	5.0 ppm	2.5 ppm
<i>Acinetobacter sp.</i>	11×10^4	11×10^3	13.75	12.00	11.50
<i>Buttiauxella sp.</i>	42×10^5	42×10^4	7.75	7.25	6.75
<i>Hafnia sp.</i>	88×10^5	88×10^4	6.75	6.25	-

C. Biocitro

Microorganismo	C. Inicial Inóculo (UFC/mL)	UFC/placa	Halo de Inhibición (mm)		
			2.0 ppm	1.5 ppm	1.0 ppm
<i>Acinetobacter sp.</i>	11×10^4	11×10^3	13.75	12.00	11.50
<i>Buttiauxella sp.</i>	42×10^5	42×10^4	7.75	7.25	6.75
<i>Hafnia sp.</i>	88×10^5	88×10^4	6.75	6.25	-

D. Hipoclorito de sodio

Microorganismo	C. Inicial Inóculo (UFC/mL)	UFC/placa	Halo de Inhibición (mm)		
			8.0 ppm	4.0 ppm	2.0 ppm
<i>Acinetobacter sp.</i>	11×10^4	11×10^3	13.75	12.00	11.50
<i>Buttiauxella sp.</i>	42×10^5	42×10^4	7.75	7.25	6.75
<i>Hafnia sp.</i>	88×10^5	88×10^4	6.75	6.25	-

Diámetro del disco = 6 mm

- = No hubo halo de inhibición

Tabla 2. Recuento en placa de muestras de agua de río, pozas de río y remanentes de desinfectantes

Fuente	Concentración	Carga microbiana*
Agua de Río	---	17×10^3
Remanente CitroBio	C1: 5 ppm	< 10
	C2: 10 ppm	< 10
Remanente Dioxill Plus	C1: 5 ppm	11×10^2
	C2: 10 ppm	21×10
Remanente Hipoclorito de sodio	C1: 4 ppm	11×10^3
	C2: 12 ppm	64×10

---, No hubo concentración, *promedio de 2 repeticiones

Tabla 3. Recuento en placa de muestras de de tubérculos de papa amarga y tunta

Fuente	Carga por tipo de Microorganismo		
	Bacterias*	Mohos*	Levaduras*
Papa sumergida en poza	17×10^3	< 3	77×10^3
Papa sin pelar congelada	42×10^3	15×10	23×10^2
Tunta Descascarado en río	13×10^4	10×10	13×10^2

*promedio de 2 repeticiones

Tabla 4. Recuento¹ en placa de bacterias después de la aplicación del desinfectante en la tunta

Concentración	Tiempo (min)	CitroBio	Dioxill Plus	Lejía*
C1: 5 ppm	5	46×10^2	12×10^3	80×10^3
	10	53×10^2	20×10^4	< 10
Segundo uso de C1	10	33×10^2	56×10^2	16×10^3
	10	12×10^3	38×10^4	16×10^4
C2: 10 ppm	5	20×10^3	44×10^3	28×10^3
	10	94×10	94×10^3	16×10^3
Segundo uso de C2	10	10×10^2	55×10^5	18×10^4
	10	12×10^3	77×10^5	59×10^3

*C1: 4ppm *C2:12ppm 1promedio de 2 repeticiones

Tabla 5. Recuento¹ en placa de mohos después de la aplicación del desinfectante en la tunta

Concentración	Tiempo (min)	CitroBio	Dioxill Plus	Lejia*
C1: 5 ppm	5	40	17 X 10	< 10
	10	60	95	5
	Segundo uso de C1	10	30	50
Tercer uso de C1	10	67 x 10	16 X 10	95
C2: 10 ppm	5	18 x 10	70 X 10	< 10
	10	18 x 10	42 X 10	50 x 10
	Segundo uso de C2	10	20 x 10	28 X 10
Tercer uso de C2	10	55	75	30 x 10

*C1: 4ppm *C2:12ppm 1promedio de 2 repeticiones

Tabla 6. Recuento¹ en placa de levaduras después de la aplicación del desinfectante en la tunta

Concentración	Tiempo (min)	CitroBio	Dioxill Plus	Lejia*
C1: 5 ppm	5	65	70	50 x 10 ²
	10	70	5	32 x 10
	Segundo uso de C1	10	10	20
Tercer uso de C1	10	13 x 10	10 X 10	63 x 10 ²
C2: 10 ppm	5	10	13 X 10	19 x 10 ²
	10	35	15	22 x 10 ²
	Segundo uso de C2	10	55 x 10	15
Tercer uso de C2	10	20	10	33 x 10 ²

*C1: 4ppm *C2:12ppm 1promedio de 2 repeticiones

Actas Comunicaciones

EFFECTO DE LA LUZ UV-C EN FACTORES DE CALIDAD DE LECHE DE COCO (*COCOS NUCIFERA* L.) ALMACENADA EN REFRIGERACIÓN

Mercedes Cruz-González¹, Lorena Luna-Guevara¹, Paola Hernández-Carranza¹, Juan J. Luna-Guevara¹, José Á. Guerrero-Beltrán² y Carlos E. Ochoa-Velasco¹

¹Facultad de Ingeniería Química. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. 4 sur 104 Col. Centro, Puebla, Puebla 72000, México.

²Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental, Universidad de las Américas Puebla. Sta. Catarina Mártir, Cholula, Puebla 72810, México.

INTRODUCCIÓN

El coco (*Cocos nucifera* L.) es una palmera de la familia Arecaceae, del cual se obtienen diferentes productos, siendo la leche de coco uno de los más importantes. La leche de coco es una emulsión (aceite en agua) obtenida a partir del extracto acuoso del endospermo de coco (Tangsuphoom y Coupland, 2009). La leche de coco contiene aproximadamente 54% de humedad, 35% de grasa y 11% de sólidos no grasos (Tansakul y Chaisawang, 2006). El consumo de aceite de coco puede tener grandes beneficios a la salud de las personas debido a los ácidos grasos de cadena media que posee, siendo el mayoritario el ácido láurico (45-53%) (Raghavendra y Raghavarao, 2010). En México, la leche de coco se utiliza para obtener bebidas refrescantes que son ampliamente consumidos por las personas. El tratamiento con luz UV-C es un proceso físico que no genera residuos químicos en los alimentos, es utilizado comúnmente para la desinfección de agua y superficies (Quek y Hu, 2008). La luz UV-C tiene sus máximos efectos letales a 254nm. El efecto letal de la luz UV-C en los microorganismos es a nivel del ADN. La absorción de la luz UV-C genera cambios en los electrones causando ruptura de los enlaces del ADN. Recientemente, la luz UV-C está siendo utilizada para la pasteurización de alimentos líquidos tales como zumos y néctares, para inactivar microorganismos tales como *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Zygosaccharomyces bailii*, *Saccharomyces cerevisiae* (López-Malo et al., 2005) y para evaluar el efecto de compuestos bioactivos como: compuestos fenólicos y actividad antioxidante (Caminiti et al, 2012). Por lo anterior, el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de diferentes dosis de irradiación con luz UV-C sobre las características de calidad de leche de coco durante el almacenamiento a 4°C.

MATERIALES Y MÉTODOS

Leche de coco. El endospermo (carne) de coco fresco fue adquirido del municipio de Tepeaca, Puebla, México. El endospermo se mezcló (1 min) con agua destilada a 70 ° C (2:1 p/p) en un procesador de alimentos domésticos. La suspensión se filtró a través de un filtro de manta cielo.

Equipo de luz UV-C. La leche de coco se procesó con un equipo de luz UV-C fabricado en la UDLAP. La lámpara de luz UV-C posee una longitud de 303 mm, diámetro de 15 mm y 57 W/cm². El equipo tiene una capacidad de 500 mL. La leche de coco fue recirculada en el equipo de luz UV-C utilizando una bomba peristáltica. Se irradió la leche de coco a una velocidad de flujo (30.33 mL/s) durante 10, 20 y 30 min. Durante el proceso de leche de coco en el equipo de luz UV-C se usó un vaso de doble pared para mantener la leche de coco a 4 °C usando un sistema de refrigeración.

Tratamiento térmico. La leche de coco se pasteurizó con calor. Se colocaron 500 mL de leche de coco en diferentes tubos de ensayo y se sometieron en agua a una temperatura controlada 90°C. Los tubos se mantuvieron en agitación durante 18 segundos una vez alcanzada la temperatura de 72°C.

Almacenamiento de la leche de coco. La leche de coco procesada con luz UV-C y térmicamente fue colocada en botellas de plástico estériles con una capacidad de 250 mL. Las botellas se almacenaron en refrigeración (4°C); cada 3 días se tomaron 2 botellas para evaluar las características fisicoquímicas, antioxidantes y microbiológicas.

Características fisicoquímicas. Los sólidos solubles totales, pH y acidez titulable se evaluaron utilizando los métodos 932.12, 981.12, 942.15 de la AOAC (2000), respectivamente.

Color. 10 mL de leche de coco se colocaron en cajas petri para la medición de los parámetros de color *L*, *a* y *b*, en la escala de Hunter, con un colorímetro Gardner Colorgard System05 en el modo de reflectancia.

Compuestos fenólicos. 2 mL de agua destilada se mezclaron con 200 µL del reactivo de Folin Ciocalteu y 100 µL de leche de coco. 1 ml de Na₂CO₃ (20%) se añadió a la mezcla después de 3 minutos. La mezcla se incubó a temperatura ambiente y en oscuridad durante 1 hora. La absorbancia se midió a 765 nm utilizando un espectrofotómetro de UV-visible. Los CFT se cuantificaron como mg de ácido gálico/100 ml de muestra.

Actividad antioxidante. 5 mL de agua destilada se mezcló con 3.3 mg de persulfato de potasio y 19.4 mg de reactivo de ABTS. La mezcla se incubó durante 16 horas en oscuridad a temperatura ambiente. Se mezcló el radical ABTS⁺ con etanol absoluto hasta obtener un

valor de absorbancia de 0.70 ± 0.02 a 754 nm. Se mezclaron 3.92 mL de la solución de ABTS⁺ con 0.08 mL de leche de coco, la absorbancia inicial se registró y después de 7 minutos de reacción, se midió la absorbancia final. La actividad antioxidante se cuantificó como mg de Trolox/100 ml de muestra.

Atributos sensoriales. La evaluación sensorial se realizó al inicio del almacenamiento, utilizando una escala hedónica de 7 puntos. Donde 1 significa “me disgusta muchísimo y 7 “me gusta muchísimo”. La evaluación sensorial se realizó sirviendo 10 mL de leche de coco a 80 jueces para que evaluará los parámetros de color, aroma, textura, sabor y aceptabilidad general.

Carga microbiana. Se realizó el recuento microbiano de bacterias mesófilas aerobias (BMA), mohos y levaduras (M y L) por medio de vertido en placa, utilizando agar nutritivo y papa dextrosa acidificado (10%). Las cajas petri de BMA se incubaron a 37 ± 2 °C durante 24-48 horas, mientras que los M y L se incubaron a 27 ± 2 °C durante 3-5 días.

Análisis estadístico. El análisis de varianza (ANOVA) se realizó utilizando el programa Minitab 15 (Minitab Inc. PA, USA, 2008). El análisis se realizó con un α de 5%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Características fisicoquímicas. En la Tabla 1 se presentan los sólidos solubles totales, pH y acidez titulable de leche de coco tratada con luz UV-C y térmicamente durante el almacenamiento. El tratamiento con luz UV-C no afectó significativamente ($p > 0.05$) los sólidos solubles totales, pH y acidez titulable de leche de coco. Durante el almacenamiento los sólidos solubles totales no cambiaron de manera significativa ($p > 0.05$), probablemente debido al bajo contenido de sólidos en la leche de coco. El pH y la acidez titulable de la leche de coco disminuyó e incrementó, respectivamente, durante el almacenamiento.

Color. En la Figura 1 se presenta el cambio en los parámetros de color de leche de coco tratada con luz UV-C y térmicamente, durante el almacenamiento. Al incrementar el tiempo de tratamiento con luz UV-C disminuye de manera significativa ($p < 0.05$) el parámetro L , lo que indica un oscurecimiento de la leche de coco. El parámetro a se incrementó los primeros 6 días de almacenamiento y posteriormente se observó una disminución de dicho parámetro; sin embargo, esta tendencia fue diferente en la leche de coco tratada con luz UV-C durante 30 min. El parámetro b se mantuvo sin cambios significativos en la leche de coco tratada con luz UV-C (10 y 20 min). Sin embargo, a los 30 min de tratamiento existió un incremento en dicho parámetro. Existe información encontrada

acerca del efecto de la luz UV-C en productos de frutas; diferentes autores indican que la luz UV-C no afecta de manera significativa los parámetros de color, mientras que otros indican que la luz UV-C afecta los parámetros de color (Ochoa-Velasco y Guerrero-Beltrán., 2012). Durante el almacenamiento los cambios en los parámetros de color de los productos de frutas pueden deberse a diferentes factores, tales como el oxígeno, la temperatura, tipo de empaque, incidencia de la luz, etcétera (Ayhan et al., 2001).

Compuestos bioactivos. En la Figura 2 se presenta el contenido de compuestos fenólicos en leche de coco tratada con luz UV-C y térmicamente, durante el almacenamiento. Se observa que los tratamientos disminuyen de manera significativa ($p < 0.05$) el contenido de compuestos fenólicos; sin embargo, estos valores son similares a lo reportado por Seneviratne et al. (2009). En leche de coco, los principales compuestos fenólicos son las catequina, ácido gálico, ácido hidroxibenzoico, epicatequinas, ácido cafeíco, ácido ferulico y ácido-p cumarico, etc. Por otra parte, durante el almacenamiento se observó que el contenido de compuestos fenólicos disminuyó en todos los tratamientos, alcanzándose una reducción de 28.9, 19.0, 20.2, 34.7 y 5.1 % en la leche de coco control, tratada por 10, 20 y 30 minutos con luz UV-C y térmicamente, respectivamente. En la Figura 3 se presenta la actividad antioxidante en leche de coco tratada con luz UV-C y térmicamente, durante el almacenamiento. Se observa una disminución importante en la actividad antioxidante los primeros 3 días de almacenamiento; posteriormente la actividad antioxidante se mantuvo constante durante el almacenamiento; esta misma tendencia se presentó en todos los tratamientos aplicados a la leche de coco.

Recuento microbiológico. En la tabla 2 se presenta el recuento microbiológico de leche de coco tratado con luz UV-C y térmicamente durante el almacenamiento. Se observa que el tratamiento con luz UV-C disminuyó en 1.0, 1.6 y 2.0 ciclos logarítmicos de BMA después de 10, 20 y 30 min de procesamiento con luz UV-C, respectivamente; para los M y L las reducciones fueron de 0.7, 0.94 y 1.29 ciclos en los mismos tiempos, respectivamente. El tratamiento térmico disminuyó en 2.0 y 1.9 ciclos logarítmicos en BMA y M y L, respectivamente. Durante el almacenamiento existe una tendencia a incrementarse a partir del tercer día, las BMA y los M y L; sin embargo, se observó que la reducción microbiana debido a la intensidad del tratamiento (30 min) se mantuvo en 3 días para BMA y 6 días para M y L. Resultados similares fueron informados por Oteiza et al. (2010) en jugo de naranja.

Evaluación sensorial. En la tabla 3 se presentan los resultados del análisis sensorial en leche de coco tratada con luz UV-C y térmicamente. Se observa que al incrementar el tiempo de tratamiento con luz UV-C se incrementó la aceptación por parte de los jueces;

obteniéndose valores similares en la leche de coco tratada con luz UV-C (30 min) a la leche de coco control. Sin embargo, la leche de coco tratada con calor presentó la mejor aceptación sensorial, probablemente debido al típico sabor a cocido que tiene la leche de vaca.

CONCLUSIONES

La luz UV-C es una tecnología que se puede aplicar a la leche de coco sin que se observe cambio significativos en la gran mayoría de las características de calidad evaluadas. Sin embargo, durante el almacenamiento se observa que los cambios en los parámetros de calidad estudiados empezaron a partir del tercer día de almacenamiento, siendo el crecimiento microbiano el más importante. Aún queda mucho por estudiar pero todo parece indicar que la aplicación de luz UV-C en leche de coco es una tecnología con mucho potencial.

BIBLIOGRAFÍA

- AOAC. (2000). Official methods of analysis. (14th ed.). Washington D.C.
- Ayhan, Z., Yeom, H.W., Zhang, H., Min, D.B., 2001. Flavor, color, and vitamin C retention of pulsed electric field processed orange juice in different packaging materials. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49 (2), 669–674.
- Caminiti, I., Palgan, I., Muñoz, A., Noci, F., Whyte, P., Morgan, D., Cronin, D., y Lyng, J. (2012). The effect of ultraviolet light on microbial inactivation and quality attributes of apple juice. *Food Bioprocess Technology*, 5 (2), 680–686.
- López-Malo, A., Guerrero, S.N., Santiesteban, A., y Alzamora, S.M. (2005). Inactivation kinetics of *Saccharomyces cerevisiae* and *Listeria monocytogenes* in apple juice processed by novel technologies. Proceedings of 2nd Mercosur Congress on Chemical Engineering, Río de Janeiro, Brasil, August 14th to August 18th.
- Ochoa-Velasco, C.E., y Guerrero-Beltrán, J.A. (2012). Ultraviolet-C light effect on pitaya (*Stenocereus griseus*) juice. *Journal of Food Research*, 1(2), 60–70.
- Raghavendra, S.N., y Raghavarao, K.S.M.S. (2010). Effect of different treatments for the destabilization of coconut milk emulsion. *Journal of Food Engineering*, 97, 341–347.
- Seneviratne, K., Hapuarachchi, C.D., y Ekanayake, S. (2009). Comparison of the phenolic dependent antioxidant properties of coconut oil extracted under cold and hot conditions. *Food Chemistry*, 114, 1444-1449.
- Tangsuphoom, N., y Coupland J.N. (2009). Effect of thermal treatments on the properties of coconut milk emulsions prepared with surface stabilizers. *Food Hydrocolloids*, 23, 1792–1800.
- Tansakul, A., y Chaisawang, P. (2006). Thermophysical properties of coconut milk. *Journal of Food Engineering*, 73, 276-280.

TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1. Características fisicoquímicas de leche de coco durante el almacenamiento a 4°C.

Tratamiento	SST (%)		pH		Acidez titulable (mg de ácido cítrico)	
	0 (d)	15	0 (d)	15	0 (d)	15
0 (min)	1.9±0.1a	2.0±0.0a	6.4±0a	4.2±0b	0.05±0.0a	0.24±0.0b
10 (min)	1.8±0.1a	1.9±0.1a	6.5±0a	4.3±0b	0.05±0.0a	0.22±0.0b
20 (min)	1.8±0.1a	2.0±0.1a	6.6±0a	4.3±0b	0.05±0.0a	0.25±0.0b
30 (min)	2.0±0.1a	2.1±0.1a	6.5±0a	4.7±0b	0.05±0.0a	0.10±0.0b
72°C (18 s)	1.9±0.1a	1.9±0.1a	6.5±0a	4.6±0b	0.05±0.0a	0.17±0.0b

Tabla 2. Recuento microbiano de leche de coco durante el almacenamiento.

Tiempo (d)	Bacterias mesófilas aerobias					Mohos y Levaduras				
	0 (min)	10 (min)	20 (min)	30 (min)	72°C (18 s)	0 (min)	10 (min)	20 (min)	30 (min)	72°C (18 s)
0	3.5x10 ⁴	2.5x10 ³	3.6x10 ²	3.3x10 ²	3.7x10 ²	2.0x10 ³	2.4x10 ²	9.5x10 ¹	7.1x10 ¹	1.5x10 ²
3	3.7x10 ⁷	5.3x10 ⁵	1.9x10 ⁵	1.1x10 ⁴	4.8x10 ³	7.8x10 ³	8.3x10 ²	9.1x10 ²	4.3x10 ²	2.8x10 ²
6	5.0x10 ⁷	7.8x10 ⁶	6.1x10 ⁶	2.0x10 ⁵	1.4x10 ⁶	2.0x10 ⁴	1.0x10 ³	1.0x10 ³	3.9x10 ²	1.3x10 ²
9	7.7x10 ⁸	4.0x10 ⁷	3.8x10 ⁷	3.1x10 ⁷	5.3x10 ⁷	1.0x10 ⁶	1.0x10 ⁵	1.0x10 ⁵	2.5x10 ⁴	3.2x10 ⁴
12	1.2x10 ⁹	4.5x10 ⁸	6.6x10 ⁷	1.0x10 ⁸	9.8x10 ⁷	1.2x10 ⁷	2.5x10 ⁶	1.2x10 ⁶	5.0x10 ⁴	7.0x10 ⁴
15	4.5x10 ¹⁰	1.2x10 ⁹	9.5x10 ⁷	1.5x10 ⁸	2.6x10 ⁸	4.2x10 ⁷	3.7x10 ⁷	1.1x10 ⁷	6.1x10 ⁶	3.1x10 ⁶

Tabla 3. Evaluación sensorial de leche de coco tratada con luz UV-C y térmicamente.

Tratamiento	Olor	Color	Textura	Sabor	Aceptación general	Promedio
0 (min)	4.3±1.5a	4.2±1.7a	4.3±1.7a	4.3±1.7a	4.1±1.9a	4.2±0.1a
10 (min)	3.4±1.5a	4.0±1.5a	3.4±1.4a	3.3±1.4a	3.4±1.6a	3.5±0.3b
20 (min)	3.9±1.7a	4.6±1.5a	3.9±1.3a	3.9±1.6a	3.7±1.5a	4.0±0.3a
30 (min)	4.3±1.6a	4.3±1.6a	4.3±1.5a	4.1±1.8a	4.3±1.6a	4.3±0.1a
72°C (18 s)	5.3±1.2a	5.1±1.1a	5.1±1.4a	5.0±1.5a	5.2±1.2a	5.1±0.1c

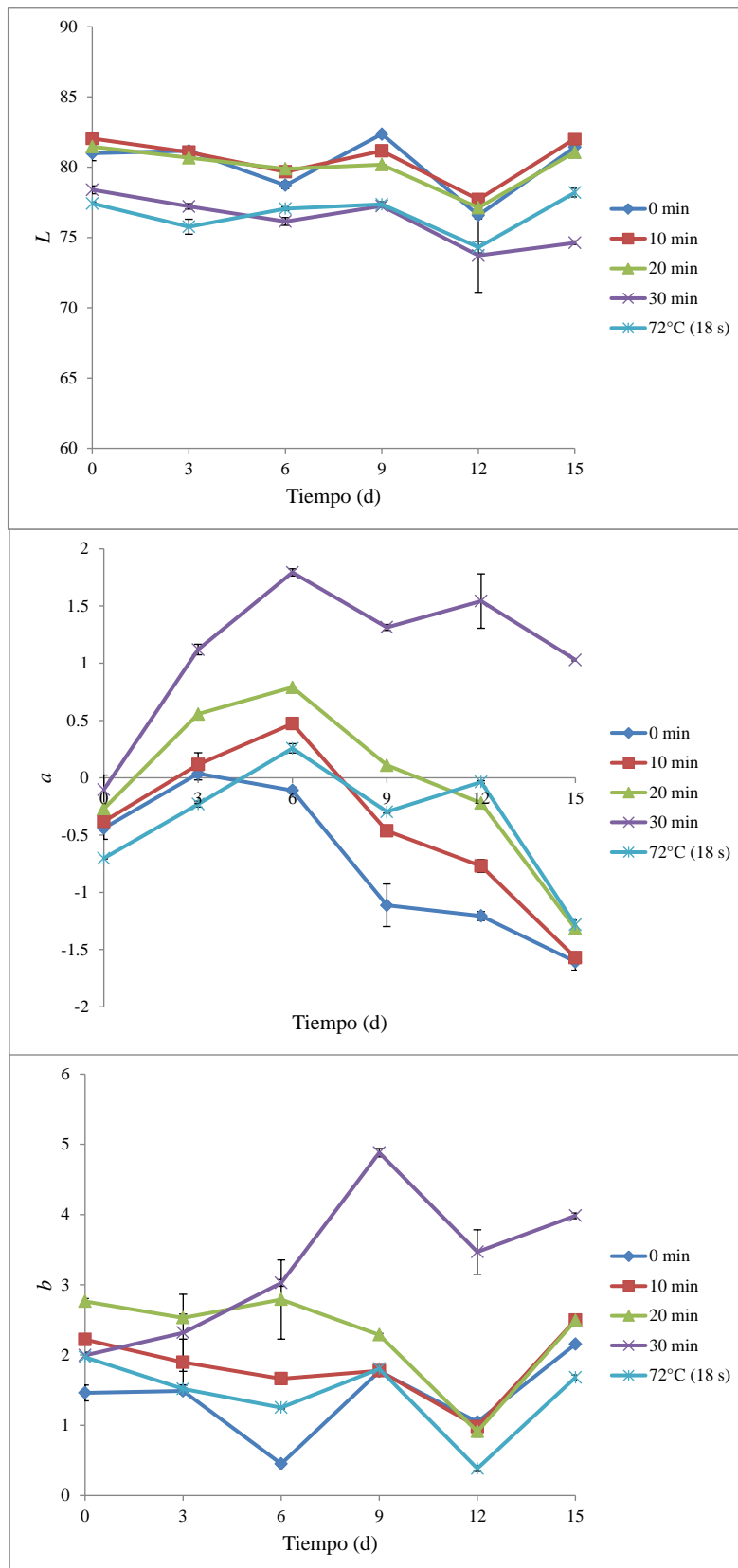


Figura 1. Cambio de color durante de leche de coco durante el almacenamiento a 4°C.

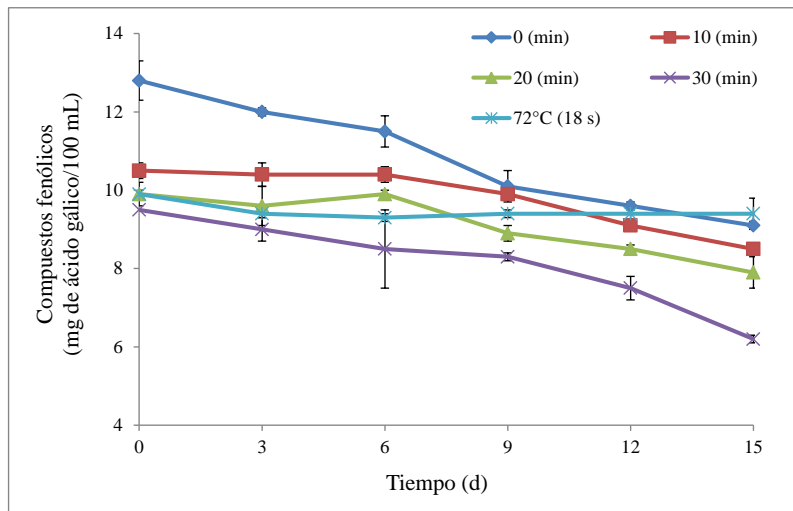


Figura 2. Compuestos fenólicos en leche de coco tratada con luz UV-C almacenada a 4°C.

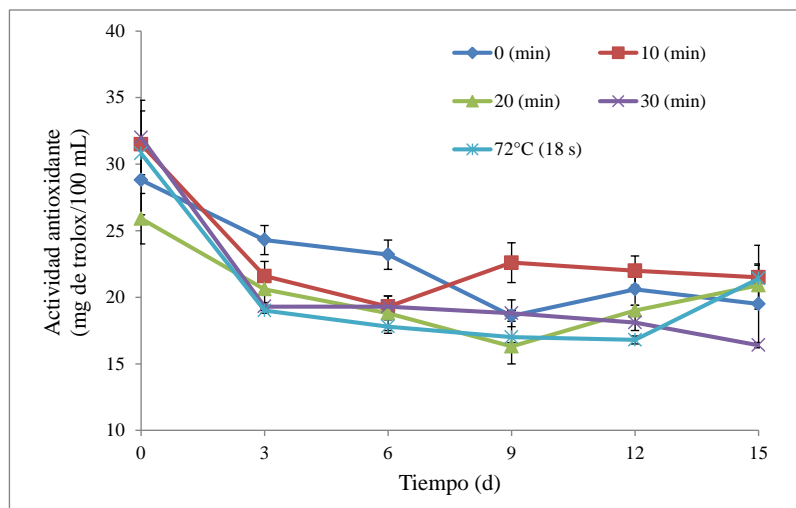


Figura 3. Actividad antioxidante en leche de coco tratada con luz UV-C almacenada a 4°C.

ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE EXTRACTOS DE PRODUCTOS APÍCOLAS CHILENOS PARA USO EN PELICULAS COMESTIBLES

Velásquez Patricia 2,3, Valenzuela Loreto 2, Montenegro Gloria ¹

¹ Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal, Departamento de Ciencias Vegetales, Pontificia Universidad Católica de Chile.

² Facultad de Ingeniería, Departamento de Ingeniería Química y Bioprocesos, Pontificia Universidad Católica de Chile.

³ Alumna Doctorado en Ciencias de la Ingeniería, Pontificia Universidad Católica de Chile. Becaria CONICYT, Doctorado Nacional.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad y a futuro serán necesarias nuevas fuentes naturales de compuestos bioactivos que puedan suplir la demanda de los consumidores y de la industria. Sus propiedades no solo se relacionan con la disminución de la probabilidad de contraer ciertas enfermedades, sino que además no presentan los problemas que pueden producir los agentes antimicrobianos artificiales. Las propiedades bioactivas de los productos apícolas endémicos de Chile son comúnmente desconocidos, el estudio y divulgación de sus propiedades permitiría aumentar su valor y potenciar la industria apícola chilena. El uso de extractos con capacidades bioactivas también se podría aplicar para el envasado de alimentos.

La presente investigación tiene como objetivos obtener extractos etanólicos a partir de dos tipos de mieles y de un polen, endémicos de Chile, y evaluar su actividad antimicrobiana por el método de difusión en agar (método de sensibilidad de Kirby-Bauer), y mínima concentración inhibitoria (MIC).

MATERIALES Y MÉTODOS

Extractos etanólicos de mieles. Obtención a partir de las mieles se realizó basado en los procedimientos de Montenegro (2011) y Ferreres *et al.* (1994). Extractos etanólicos de polen. Obtención a partir de polen basado en el método reportado por LeBlanc *et al.* (2009), con modificaciones. Diseño simplex centroide para mezclas. Se consideran los vértices de un símplice como las concentraciones puras de los extractos, y el centro como una proporción relativa de un tercio de cada tipo de extracto formando una mezcla (Fig 1). Asimismo, se realizan otras mezclas de extractos puros con distintas concentraciones relativas indicadas en la Tabla 1. Para la evaluación del modelo se utilizó el software JMP9. Actividad antimicrobiana. Se estudió mediante la medición del halo de inhibición y la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CIM) sobre: *Escherichia coli* ATCC-25922,

Staphylococcus aureus ATCC-25923, and *Salmonella* spp. Determinación del halo de inhibición. Las mezclas se depositan en un agujero de 6 mm de diámetro en placas Petri con agar Müller Hinton (BAM, 2010-2013). Se incuban y se mide el diámetro de los halos formados alrededor. Se incluyen dos controles de antimicrobianos comerciales (para Gram (+) y Gram (-)), además de un blanco que no contiene extracto. Los resultados se reportan en mm de diámetro (ISP, 2009). Determinación de la concentración mínima inhibitoria (MIC). Método turbidimétrico de evaluación de concentraciones de antimicrobiano (extractos) que van de menor a mayor (Pontino *et al.*, 2006).

Resultados y Discusión

La tabla 1 muestra los resultados de la prueba del diámetro de inhibición para las mezclas de extractos etanólicos sobre *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella* spp. En estos resultados se observa que el mayor diámetro de inhibición lo presenta *E. coli*, seguido de *S. aureus* y finalmente, *Salmonella*. Resultados similares se obtuvieron en la prueba de determinación de la concentración mínima inhibitoria (datos no incluidos). Varias muestras tienen actividad inhibitoria similar a antibióticos sintéticos contra algunos de estos microorganismos.

La figura 2 muestra los resultados expresados en superficies de respuesta de las mezclas para la prueba de determinación de la zona de inhibición. Las mezclas binarias parecen mostrar actividad antimicrobiana de efecto sinérgico en algunas zonas de los gráficos. La miel 2 (M2) en conjunto con el polen (P) presentan las mayores zonas de inhibición para los tres microorganismos ensayados.

CONCLUSIONES

Los extractos etanólicos de mieles y polen endémicos de Chile tienen actividad antimicrobiana contra *E. coli*, *S. aureus* and *Salmonella* spp. Se observaron efectos sinérgicos entre mezclas binarias

La selección de extractos y las proporciones relativas de mieles y polen pueden ser seleccionados de acuerdo a las condiciones específicas de aplicación como microorganismos patógenos o alterantes, temperatura de uso, costos, entre otros factores.

Se deben realizar estudios más acabados sobre la composición química de las mezclas de extractos etanólicos con la finalidad de entender qué compuestos fenólicos, flavonoides y/o carotenoides estarían implicados en este comportamiento.

AGRADECIMIENTOS

Al proyecto Fondecyt 111808 (Gloria Montenegro); al proyecto Anillo ACT 1105/2012 (Loreto Valenzuela); a CONICYT por Beca Doctorado Nacional (Patricia Velásquez).

BIBLIOGRAFÍA

Cornell JA. Experiments with mixtures. Design, models, and the analysis of mixture data. 1981, John Wiley and Sons. NY.

Ferreres F., Tomas-Barberan FA., Soler C, Garcia-Viguera C., Ortiz A., Tomas-Lorente F. (1994) A simple extractive technique for honey flavonoid HPLC analysis. *Apidologie* 25:21-30.

LeBlanc BW, Davis OK, Boue S, DeLucca A, Deeby T. (2009) Antioxidant activity of Sonoran Desert bee pollen. *Food Chemistry* 115:1299–1305

Montenegro Rizzardini G., “Natural antioxidant composition for meat products produced from phenolic extracts of monofloral honeys, and methods for obtaining the same”, U.S. Patent 0076376 A1, Mar 31, 2011.

Pontino, M.V., B. Di Giulio, C. Fernández, B. Imperiale, A. Bodon y N. Morcillo (2006). Evaluación de un micrométodo colorimétrico para determinar la concentración inhibitoria mínima de drogas antituberculosas frente a *Mycobacterium tuberculosis*. *Rev. Argent. Microbiol.* 38: 145-151.

SAS Institute Inc., 2010. JMP® 9 Design of Experiments Guide. Cary, NC:SAS institute Inc.

TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1. Diámetro de inhibición para los extractos evaluados (P: polen, M1: miel1, M2: miel2)

Nº	Proporciones relativas	Diámetro de inhibición (mm)		
		<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>	<i>Salmonella spp</i>
E1	P(1)	6,0±0,3	13,0±0,2	10,5±1.0
E2	P:M1(2/3:1/3)	7,0±0,4	14,0±0,3	15,5±0.2
E3	P:M2(2/3:1/3)	7,0±0,8	13,0±0,3	15,0±0.6
E4	P:M1(1/3:2/3)	6,0±0,0	12,0±1,0	17,0±0.7
E5	P:M1:M2(1/3:1/3:1/3)	7,0±0,3	12,0±0,2	15,0±0.1
E6	P:M2(1/3:2/3)	7,0±0,4	10,0±0,9	11,0±0.4
E7	M1(1)	8,0±0,5	14,0±0,7	15,0±0.0
E8	M1:M2(2/3:1/3)	8,0±0,6	13,2±0,6	17,0±0.8
E9	M1:M2(1/3:2/3)	6,0±0,4	10,0±0,9	13,5±0.1
E10	M2(1)	9,0±0,3	11,0±0,6	13,0±0.3
E11	P:M1:M2(2/3:1/6:1/6)	6,0±0,0	10,0±0,3	6,0±1.1
E12	P:M1:M2(1/6:2/3:1/6)	6,0±0,2	12,1±0,9	6,0±0.2
E13	P:M1:M2(1/6:1/6:2/3)	8,0±0,5	11,0±0,2	8,0±0.2
	Tetraciclina	12,0±0,6	16,0±0,1	6,0±0.6
	Clorampfenicol	8,0±0,2	6,0±0,6	12,0±0.1

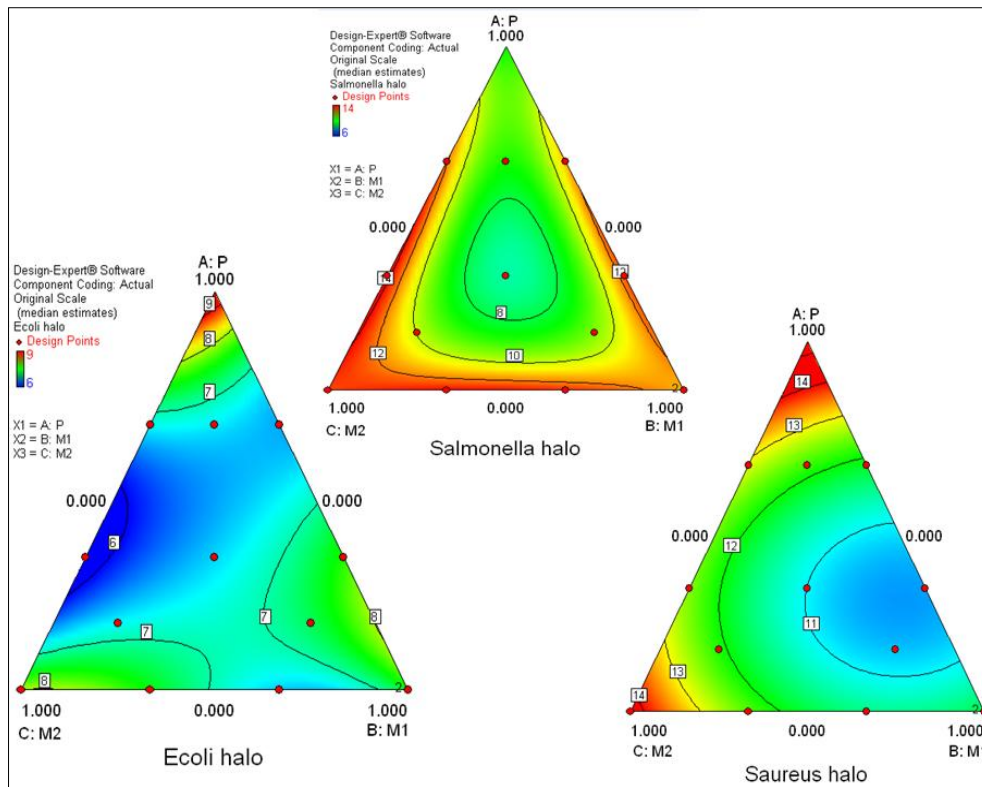


Figura 1. Superficie de respuesta de las mezclas.

ESTUDIO SOBRE LA UTILIZACIÓN DE UN CULTIVO LÁCTEO PRODUCTOR DE EXOPOLISACÁRIDOS SOBRE EL RENDIMIENTO, SABOR Y TEXTURA DEL QUESO CREMA

Perla Lizeth Morales Hernández, Néstor Gutiérrez Méndez

Universidad Autónoma de Chihuahua, Facultad de Ciencias Químicas, Chihuahua, Chih., México. *ngutierrez@uach.mx

INTRODUCCIÓN

El queso crema según lo establecido por el CODEX alimentarius (CODEX STAN 275-1973) es un queso blando, untable, no madurado y sin corteza. El queso crema presenta una coloración que va de casi blanco a amarillo claro. Su textura es suave o ligeramente escamosa y sin agujeros, se puede untar y mezclar fácilmente con otros alimentos. El queso crema es obtenido por acidificación con cultivos lácticos mesófilos hasta alcanzar un pH (4,3 – 4,8). Es fresco, blando con alto contenido de humedad (no especificada) y grasa (26%), elaborado con leche entera homogenizada y pasteurizada, crema de leche y sal. Además de que presenta un alto aporte calórico, es bajo en sodio, rico en proteínas y minerales como el calcio, fósforo y vitaminas A, D y B₂ (OMS, 2011). El rendimiento quesero es un tema de constante preocupación entre la industria quesera, ya que se puede definir como la cantidad de queso que se obtendrá a partir de un volumen determinado de leche y refleja la ganancia económica que se obtendrá a partir de dicho volumen de materia prima (Walstra et al., 2006). Otra problemática asociada con la elaboración de queso crema es la sinéresis (separación de suero) que presenta el queso después de elaborado; lo que modifica de manera importante la textura del queso y es uno de los mayores defectos que afecta la calidad de los productos lácteos fermentados, ya que se observa líquido sobrenadante en la superficie, causando el rechazo por el consumidor. Las bacterias ácido lácteas son capaces de desviar una pequeña proporción de azúcares fermentables hacia la biosíntesis de exopolisacáridos (EPS), dependiendo de las condiciones de cultivo y la composición del medio. Los EPS son polisacáridos de cadena larga consistentes de ramificaciones de unidades repetidas de azúcares. Estas unidades de azúcar son principalmente, glucosa, galactosa y ramnosa en diferentes proporciones. La estructura, la composición, y la viscosidad del EPS dependen de varios factores, tales como el estrés, la composición del medio de cultivo (sales minerales, oligoelementos) y las condiciones de la fermentación (v.g. pH y temperatura) (Palomba et al., 2012).

Los EPS producidos por microorganismos considerados GRAS (Generalmente Reconocido como Seguros; por sus siglas en Inglés) son una importante alternativa natural a los aditivos comerciales de origen vegetal o animal. La mayoría de los aditivos utilizados se modifican químicamente para mejorar las propiedades reológicas del producto. El uso de BAL productoras de EPS podría dar lugar a un producto final seguro, natural y saludable con textura y una estabilidad mejorada que puede tener un impacto importante en el desarrollo de nuevos productos (Lin & Chang-Chieng., 2007).

MATERIALES Y MÉTODOS

Cultivos lácteos

Cultivo lácteo congelado marca Danisco con bacterias no productoras de exopolisacáridos (*Lactococcus lactis* spp. *lactis*, *Leuconostoc*, *Lactococcus lactis* spp. *lactis* biovar *diacetylactis*, *Lactococcus lactis* spp. *cremoris*); y cultivo lácteo liofilizado marca Sacco con bacterias productoras de exopolisacáridos (*Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbruekii* spp. *bulgaricus*).

Análisis de la leche fermentada con y sin un cultivo productor de EPS

Se utilizó leche UHT comercial con 3% de grasa. Se tomaron porciones de 300 mL de leche y se depositaron en nueve frascos de vidrio (Pyrex) de 500 mL, con boca ancha (69 mm), Se utilizaron tres diferentes tratamientos (cepa productora de EPS, cepa no productora de EPS y la combinación de ambas cepas). Se inoculó la leche, posteriormente ésta se incubó a 37 °C por 36 horas. Se tomaron muestras en intervalos de 12 horas y se realizaron pruebas de acidez mediante el método de AOAC 939.05, medición del pH, azúcares totales corresponde a una adaptación de los métodos reportados por Gancel y Novel, (1994) y Dubois et al, (1956), azúcares reductores mediante la metodología descrita por Miller (1959), al igual que un análisis reológico en un reómetro de platos paralelos (TA, AR2000). Cada tratamiento se realizó por triplicado, teniendo en total nueve frascos de leche inoculados.

Elaboración del queso crema en pequeña escala

Se elaboraron tres tipos diferentes de queso crema. El primer tratamiento consistió de inocular al 0.1 % (p/v) un cultivo congelado conformado por *Lactococcus lactis* spp. *lactis*, *Leuconostoc*, *Lactococcus lactis* spp. *lactis* biovar *diacetylactis*, *Lactococcus lactis* spp. *cremoris* (Tratamiento XQ3); el segundo tratamiento se inoculó al 0.1% (p/v) con la cepa conformada por *Streptococcus thermophilus* y *Lb. delbruekii* spp. *bulgaricus* (tratamiento EPS-SACCO); el tercer tratamiento se inoculó al 0.05% (p/v) con ambos cultivos

(tratamiento XQ3+EPS-SACCO). Se utilizó leche de vaca con un porcentaje de 3% de grasa para la elaboración del queso crema. Posteriormente ésta se pasteurizó a 63° C por 30 minutos, se inoculó con los tres tratamientos y se le agregó 120 µL de cloruro de calcio al 50% (6.6 M), y 6.6 µL de una solución de quimosina diluida CHY-MAX (Chr Hansen, Alemania) en 66 µL de agua destilada (40% de lo comúnmente adicionado). La leche se dejó reposar hasta obtener una cuajada con un pH de 4.8. Una vez que la leche coaguló, se cortó la cuajada en cuadros de aproximadamente 4 cm². Posteriormente se pasteurizó a 63 °C por 30 minutos. La cuajada se centrifugó y se le agregó el 1% de sal. El queso crema fue almacenado a 4 °C y etiquetado para los posteriores análisis.

Análisis composicional de las muestras de queso crema

Diferentes muestras de queso crema comercial, además de las muestras de queso crema elaborados en la investigación fueron evaluadas mediante un análisis proximal por métodos de la AOAC, incluyendo grasa (AOAC 933.05), proteína (AOAC 960.52), humedad (AOAC 969.19), y cenizas (AOAC 935.42). La composición de la leche fue determinada mediante un analizador de leche ultrasonico (Mitech Ultra Analyzer, Agrilac, Miami, EUA).

Determinación de la textura del queso crema

Las muestras de queso crema permanecieron en refrigeración a 4°C para su análisis. Las propiedades de textura fueron evaluadas mediante un análisis de textura y untabilidad, el cual se llevó a cabo utilizando un texturómetro TA.XT PLUS (Texture Analyzer; Texture Technologies Corp; NY, E.U.A.).

Determinación de las propiedades reológicas del queso crema

Las propiedades reológicas del queso crema se analizaron mediante reología dinámica oscilatoria de baja amplitud utilizando un reómetro de esfuerzo controlado con un plato paralelo de 40 mm. El reómetro se programó en intervalos de calentamiento (5° C a 80 °C) y posteriormente de enfriamiento (80 ° C a 5 °C) como ocurre cuando este es utilizado como ingrediente de productos horneados. Los parámetros a medir fueron el módulo elástico o de almacenamiento (G'), la tangente de delta (Tanδ), el módulo de pérdida (G'') (Brighenti et al., 2008).

Determinación del rendimiento actual (Ya)

Se determinó mediante la siguiente ecuación:

$$Ya = 100 \frac{\text{peso del queso}}{\text{peso de la leche} + \text{peso del cultivo} + \text{peso de la sal}}$$

Determinación de la sinéresis

Las muestras de queso crema se almacenaron en refrigeración a 4 °C durante una semana antes de su análisis. Una vez transcurrido este tiempo se centrifugó y se decantó el suero separado. El porcentaje de sinéresis representa la proporción de suero que se separa por cada 100 g de queso (Vercet et al., 2002).

Análisis sensorial

El análisis sensorial se efectuó mediante pruebas hedónica (Martin N & De River 1999) en el Laboratorio de Análisis Sensorial de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Chihuahua. Los jueces evaluaron tres tipos de queso crema y éstos fueron del tipo no entrenados.

RESULTADOS

Análisis de la leche fermentada con y sin un cultivo productor de EPS

En base al análisis estadístico se obtuvo un crecimiento mayor en el cultivo de las bacterias productoras de EPS. Los datos obtenidos en las pruebas de reología fueron ajustados a la ecuación de la potencia, donde se midió el flujo bajo un incremento de velocidad de corte. Esta prueba consistió en determinar la Región Lineal Visco-elástica (LVR por sus siglas en inglés), mediante un barrido escalonado de esfuerzo, donde se tiene que en las 0 horas de incubación se obtuvieron valores más altos de G'' que de G' para los tres tratamientos (XQ3, EPS-SACCO, XQ3+EPS-SACCO) por lo que el material se comporta más como un líquido. Lo contrario a las 12, 24 y 36 horas de incubación donde se obtuvieron valores más altos de G' que de G'' , lo cual indica que el material se comporta como un sólido. Sin embargo, el rango de $\tan \delta$, arrojado por los tratamientos evaluados, se encuentra entre el rango de los límites de $0^\circ < \delta < 90^\circ$ esto quiere decir que los tres tratamientos presentan propiedades viscoelásticas. Por otra parte para las leches fermentadas con los tratamientos de EPS-SACCO y XQ3+EPS-SACCO en el tiempo de incubación de 0 horas, se obtuvieron comportamientos newtonianos y conforme aumentó el tiempo de incubación la leche fermentada de los tres tratamientos (XQ3, EPS-SACCO, XQ3+EPS-SACCO) se fueron alejando más de un comportamiento newtoniano. La viscosidad aparente fue notablemente mayor en la leche fermentada con la cepa productora de EPS-SACCO, que en la leche fermentada con los tratamientos XQ3 y XQ3+EPS-SACCO. Sin embargo este tratamiento presentó una viscosidad mayor a las 12 horas de incubación. En base a las mediciones de azúcares reductores se obtuvo un valor máximos a las 36 horas tanto en la leche fermentada

con el cultivo EPS-SACCO, sin embargo se obtuvo una menor cantidad de azúcares reductores para el tratamiento productor de exopolisacáridos (EPS-SACCO) que para el tratamiento no productor (XQ3). Esto era de esperarse ya que los azúcares son unidos en su grupo reductor durante el proceso de polimerización en la producción de exopolisacáridos. Por lo tanto, se reduce el número de grupos reductores.

Evaluación de la composición y del rendimiento del queso crema

En el análisis de composición no se obtuvo una diferencia estadística en los parámetros de porcentaje de grasa y proteína. Sin embargo, se obtuvo un valor ligeramente menor para el tratamiento EPS-SACCO en porcentaje de proteína, además de un valor mayor de humedad lo que se ve reflejado en un aumento del rendimiento (Tabla 1).

Evaluación de la reología y textura del queso crema

Se obtuvo un valor mayor de G' para el tratamiento XQ3+EPS-SACCO pero en una temperatura menor que el de los tratamientos XQ3 y EPS-SACCO. No obstante, los tres tratamientos se encuentran en un rango de 38-41 °C (Figura 1), los cuales están dentro del rango de las temperaturas de los quesos crema comerciales (34-42 °C). Por otra parte, no existió diferencia significativa, en el valor de dureza entre el queso crema elaborado con los tratamientos EPS-SACCO y XQ3+EPS-SACCO. El que más se asemejó a las marcas comerciales es el queso crema elaborado con el tratamiento XQ3. Por otro lado se obtuvieron valores más altos para la adhesividad y la firmeza en las marcas de queso crema, debido a la adición de algunos aditivos, como lo son las gomas. Además se obtuvieron resultados de untabilidad menores para el tratamiento EPS-SACCO, lo que significa que se requiere menos fuerza para untar el queso crema (Tabla 2). Adicionalmente, no se presentó sinéresis en ninguno de los tratamientos (XQ3, EPS-SACCO Y XQ3+EPS-SACCO), esto puede ser debido al corto tiempo que se dejó el queso en el refrigerador (7 días).

Análisis sensorial

Se obtuvo una buena aceptación del queso crema elaborado con el cultivo productor de EPS, ya que su preferencia fue ligeramente mayor en parámetros de sabor y textura.

CONCLUSIÓN

La leche fermentada con el cultivo productor de EPS presentó un mayor crecimiento, además de un comportamiento pseudoplástico. En el queso crema elaborado con el cultivo productor de EPS predominó el comportamiento elástico, además de que mejoró la textura

del queso, en parámetros como dureza, untabilidad y adhesividad. El análisis reológico de ciclos de calentamiento y enfriamiento para el queso crema elaborado con el cultivo productor de EPS mostró cambios de G' en intervalos de temperaturas similares a los obtenidos en las marcas de queso crema. En cuanto a rendimiento, el queso crema elaborado con el cultivo productor de EPS incrementó la retención de agua y grasa en la matriz del queso crema, lo que llevo a un aumento en el rendimiento. Además de que no se obtuvo sinéresis en el queso crema para ningún tratamiento. En el análisis sensorial se obtuvo una buena aceptación del queso crema en parámetros de textura y sabor.

BIBLIOGRAFÍA

Brighenti M., Govindasamy-Lucey S., Lim K., Nelson K., Lucey J. (2008). Characterization of the rheological, textural, and sensory properties of samples of commercial US cream cheese with different fat contents. *Journal of dairy science*, 91(12), 4501-4517.

CODEX STAN 275-1973. CODEX STANDARD FOR CREAM CHEESE (2011)

Dubois M., Gilles K., Hamilton J., Rebers P., Smith F. (1956). Colometric Method for Determination of Sugars and in milk fermented with ropy strains of lactic acid bacterias. *International Dairy Journal* 11: 709–721.

OMS (Organización Mundial de la Salud). (2011) <http://www.who.int/es/>

Gancel F & Novel G. (1994). Exopolysaccharides Production by *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* Cultures. 1. Condition of Production. *Journal Dairy Science*, 77: 685-688.

Lin T., & Chang-Chieng M. (2007). Exopolysaccharides production as affected by lactic acid bacteria and fermentation time. *Food Chemistry*, 100(4), 1419-1423.

Palomba S., Cvella S., Torrieri E., Piccolo A., Mazzei P., Blaiotta G., Ventorino V. (2012). Polyphasic screening, homopolysaccharide composition, and viscoelastic behavior of wheat sourdough from *Leuconostoc lactis* and *Lactobacillus curvatus* exopolisaccharide producing starter culture. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(8), 2737-2747.

Walstra P., Wouters J., Geurst T. (2006). *Dairy Science and Technology*. Boca Raton FL: CRC press with exopolysaccharide (EPS) producing *Bifidobacterium* strains." *Food Research International*: 15-22.

TABLAS Y FIGURAS
Tabla 1. Análisis de composición y rendimiento de los diferentes tratamientos de queso crema, así como del suero lácteo

	Tratamientos				Marcas comerciales		
	XQ3	EPS-SACCO	XQ3 + EPS-SACCO	ES	A	B	C
Grasa (%)	18.49 ^a	20.09 ^a	19.50 ^a	0.576	23.20	35.65	39.61
Proteína (%)	19.76 ^a	17.67 ^a	19.24 ^a	1.212	4.51	8.29	5.03
Cenizas (%)	1.17 ^a	1.17 ^a	1.04 ^a	0.162	0.92	2.78	1.47
Humedad (%)	37.70 ^b	43.18 ^a	37.57	1.000	29.82	46.39	46.38
BASE SECA							
Grasa (%)	60.56 ^b	76.13 ^a	60.28 ^b	2.783	51.37	66.51	73.89
Proteína (%)	31.72 ^a	31.15 ^a	30.92 ^a	2.225	9.99	15.48	9.38
Cenizas (%)	1.88 ^a	2.06 ^a	1.68 ^a	0.269	2.04	5.18	2.75
ANÁLISIS DE SUEROS							
Grasa (%)	0.344 ^a	0.225 ^{ab}	0.192 ^b	3.20x10 ⁻²			
Proteína (%)	1.003 ^b	1.093 ^{ab}	1.111 ^a	1.71x10 ⁻²			
Cenizas (%)	0.147 ^a	0.153 ^a	0.155 ^a	3.16x10 ⁻³			
Rendimiento	12.7 ^a	13.71 ^b	13.61 ^b	6.25x10 ⁻²			

Promedios obtenidos de tres repeticiones (n=3); (XQ3) = Queso crema inoculado con el cultivo iniciador congelado no productor de exopolisacáridos; (EPS-SACCO)=Queso crema inoculado con un cultivo liofilizado productor de exopolisacáridos; (XQ3+EPS-SACCO)= Queso crema inoculado con el cultivo iniciador congelado, no productor de exopolisacáridos y un cultivo liofilizado productor de exopolisacáridos. A = Queso crema marca Philadelphia; B = Queso crema marca Fiorelo; C = Queso crema marca Crystal. ES = Error estándar; ^{a,b,c} Promedios con la misma letra en una misma fila no presentaron diferencia significativa (Tukey-Kramer, alfa = 0.05).

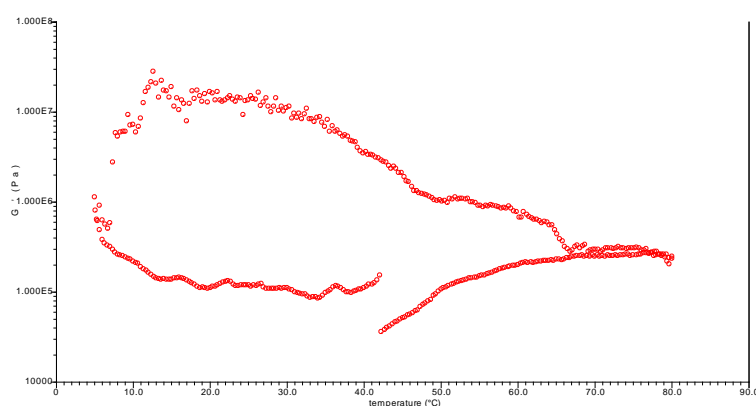


Figura 1. Cambios del valor de G' observados en un ciclo de calentamiento y enfriamiento en queso crema elaborado con un cultivo lácteo productor de exopolisacáridos (EPS-SACCO).

Tabla 2. Análisis de perfil de textura en muestras de queso crema

Tipo de Queso Crema	Adhesividad(N/s)	Dureza(N)	Untabilidad(N)
XQ3	1.432 ^a	2.852 ^a	386.10 ^a
EPS-SACCO	1.023 ^b	1.374 ^b	191.64 ^b
XQ3+EPS-SACCO	1.114 ^b	1.358 ^b	315.94 ^a
Error estándar	4.54×10^{-2}	0.166	18.07
Marcas comerciales de queso crema			
A	4.247	2.853	174.46
B	5.913	5.270	288.41
C	3.928	3.106	97.85

Promedios obtenidos de tres repeticiones ($n=3$); (XQ3) = Queso crema inoculado con el cultivo iniciador congelado no productor de exopolisacáridos; (EPS-SACCO)=Queso crema inoculado con un cultivo liofilizado productor de exopolisacáridos; (XQ3+EPS-SACCO)= Queso crema inoculado con el cultivo iniciador congelado, no productor de exopolisacáridos y un cultivo liofilizado productor de exopolisacáridos. A = Queso crema marca Philadelphia; B = Queso crema marca Fiorelo; C = Queso crema marca Crystal. ^{a,b,c} Promedios con la misma letra en una misma columna no presentaron diferencia significativa (Tukey-Kramer, $\alpha = 0.05$).

PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE BIOFILMES DO RESÍDUO DA EXTRAÇÃO DO ÓLEO DE BABAÇU

Maniglia, B. C.¹, Lucas, A. de A.², Tapia-Blácido, D.¹

¹Departamento de Química, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto-SP, Brazil. CEP: 14040-90. E-mail: biancamaniglia@gmail.com, delia@ffclrp.usp.br

²Departamento de Engenharia de Materiais, Universidade de São Carlos, São Carlos, São Paulo - Brasil CEP: 13565-905. E-mail: alucas@ufscar.br

1. INTRODUÇÃO

O crescente acúmulo de lixo não biodegradável, aliado à dificuldade de reciclagem da maioria das embalagens sintéticas na atualidade, tem lançado um desafio à comunidade científica mundial no sentido de desenvolver novos materiais biodegradáveis. Desde a década de 70, têm-se estudado diversos biopolímeros polares como polissacarídeos (celulose e derivados, carboidratos e derivados, gomas, etc.) e proteínas (gelatina, zeína, glúten, etc.) capazes de produzir matrizes contínuas (Garcia et al., 2000).

O Babaçu (*Orbignya phalerata* Mart.) é uma árvore nativa de palma que se desenvolve naturalmente no norte do Brasil, mais precisamente nos estados de Piauí, Tocantins e Maranhão, também presente entre o Cerrado e na Floresta Amazônica em um ecossistema chamado Mata dos Cocais (Albiero, 2007). A palmeira de babaçu atinge a maturidade para produção de frutos após 10-12 anos, e já que não há plantações destas palmeiras, os frutos têm de ser recolhidos a partir de florestas naturais (Albiero, 2007). A produção de coco anual de uma área com 141-160 palmas por hectare é de cerca de 2,5 ton/ano (May, 1990). Os pesos médios de cada componente do coco babaçu são 11% de exocarpo, 23% de mesocarpo, 59% de endocarpo - camada de madeira dura - e kernels 7% (Teixeira, 2008). O uso de amido de coco de babaçu como fonte de energia foi estudado por volta de 1970, mas muitos projetos foram abandonados devido à falta de interesse do governo (Baruque et al., 1998). Rosenthal e Espindola (1975) observaram que o amido de babaçu é semelhante a alguns amidos de cereais e apresenta diferença em relação a amidos de raiz e tubérculos (mandioca, amidos de batata e outros). A temperatura de gelatinização dos grânulos de amido de babaçu está dentro do intervalo 63 ± 73 ° C, sendo bem próxima a do amido de milho. Além disso, apresenta importante conteúdo de amilose (Rosenthal et al., 1978).

O trabalho realizado teve como objetivo avaliar o potencial na formação de filmes do amido e farinha extraídos a partir do resíduo triturado de mesocarpo do coco de babaçu (F1 e

F2). Para isso foram produzidos os filmes e depois caracterizados em base a suas propriedades mecânicas, permeabilidade ao vapor de água, solubilidade, umidade, DFRX e MEV.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Matéria-prima

O resíduo de mesocarpo de coco Babaçu foi fornecido pela Coopaesp, empresa cooperativa presente em Esperantinópolis - Maranhão. O glicerol utilizado foi da marca Sigma-Aldrich e todas as soluções foram elaboradas com água deionizada.

O material recebido foi peneirado a seco em peneira de aço inoxidável de abertura 37 µm de diâmetro (400 mesh). Para o isolamento de amido, 100 g de resíduo foram imersos em água destilada e essa mistura passou por moagem em uma processadora (Walita, São Paulo) durante dois minutos, a máxima potência. O material moído foi filtrado através de uma peneira de aço inoxidável de 400 mesh (37 µm de diâmetro). O material retido foi seco, moído e peneirado em peneira de aço inox de 400 mesh de abertura. Este material foi denominado F1. O líquido resultante foi centrifugado, seco, moído e peneirado em peneira de 400 mesh de abertura sendo denominada F2. Tanto F1 quanto F2 foram armazenados em frascos de cor âmbar hermeticamente fechados.

2.2. Caracterização da matéria-prima

A umidade dos farelos foi determinada de acordo com o método oficial da AOAC (1997). As amostras foram dessecadas em estufa a 105°C durante 24 horas. O teor de cinzas foi determinado segundo a técnica 923.03 da AOAC (1997). O teor de amilose foi determinado pelo método colorimétrico do iodo simplificado, de acordo com a metodologia proposta por Juliano (1971), adaptada por Martinez & Cuevas (1989). O teor de lipídeos foi determinado segundo o método de Bligh e Dyer (1959), que consiste em tratar a amostra com uma mistura de clorofórmio e metanol para a extração do lipídeo. A determinação do teor de proteínas foi obtida através da Metodologia Kjeldahl segundo a técnica 926.86 da AOAC (2005). Foi usado um fator de conversão de 6,25 para expressar os resultados em % de proteína. As análises de teor de fibras foram realizadas em triplicata. Este procedimento foi realizado seguindo o método descrito na norma TAPPI T19 om-54, porém com algumas modificações para obtenção de melhores resultados. As análises de composição centesimal foram realizadas em triplicata.

A microestrutura das frações F1 e F2 foram analisadas em Microscópio Eletrônico de Varredura marca ZEISS modelo EVO-50, sob voltagem de aceleração de 20 kV. Também foi determinado o índice de cristalinidade das frações F1 e F2 utilizando um Difrátômetro de raios-X marca Siemens (modelo D5005).

2.3. Metodologia de elaboração dos filmes

Os filmes foram elaborados por *casting* a partir de uma suspensão de 5% (p/p) em água deionizada. A suspensão foi homogeneizada por 30 minutos utilizando-se um agitador magnético (IKA[®] C-MAG HS7-Marconi), e depois foi aquecida a 81°C por 30 minutos. Finalmente, adicionou-se o plastificante (19 g glicerol/ 100 g de farelo) e aqueceu-se por mais 15 minutos. A solução filmogênica foi vertida nas placas de acrílico ou teflon mantendo a gramatura de 0,15 g/m² e foi iniciado o período de secagem durante 12 h em estufa com circulação forçada (Q314M, QUIMIS[®]) a 35°C. Os filmes secos foram cortados em moldes e acondicionados em atmosfera a 58 % UR (solução saturada de NaBr).

2.4. Caracterização dos filmes de farelo de babaçu

A espessura dos filmes pré-acondicionados (58% UR, 25 °C) foi avaliada através da espessura média resultante de 10 medições em posições aleatórias, por meio de micrômetro digital Zaas- Precision de ponta plana (com resolução de 1 µm). O teste mecânico de tração dos filmes foi realizado em um Texturômetro TA. TX Plus (TA Instrument). A tensão e a elongação na ruptura em teste de tração foram determinadas segundo a norma ASTM D 882-95 (ASTM, 1995). A tensão (T) e elongação (E) na ruptura foram obtidas da curva de tensão versus elongação e o módulo de elasticidade, ou módulo de Young (MY) foi obtido como a inclinação da curva no intervalo linear. A solubilidade foi medida segundo a metodologia proposta por Gontard et al. (1992). A permeabilidade ao vapor de água foi determinada segundo o método padrão modificada ASTM E 96-80 (ASTM, 1989). A umidade dos filmes foi determinada segundo a técnica da ASTM D644-94 (ASTM, 1994).

2.5. Análise estatística dos resultados

Foi realizado o teste de Tukey para comparar a composição das diferentes frações produzidas a partir do resíduo de mesocarpo de coco babaçu e também para a comparação entre as propriedades dos filmes feitos a partir de F1 e F2. A análise estatística foi feita utilizando o programa *Statistica 6.0: Basic Statistics and Tables*.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1. Caracterização das frações F1 e F2

Os resultados da composição centesimal da farinha e do amido de coco babaçu são mostrados na Tabela 1.

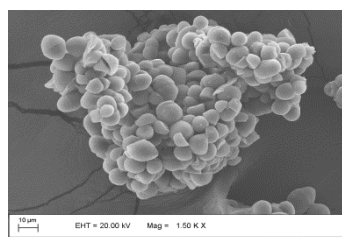
Tabela 1. Composição centesimal das frações obtidas do resíduo de coco babaçu.

A	C (%)	L (%)	A (%)	U (%) *	P (%)	F(%)
F1	0,96±0,23 ^a	0,19±0,07 ^a	48,94±2,17 ^a	9,58±0,89 ^a	2,65±0,07 ^a	3,30±0,22 ^a
F2	1,13±0,12 ^a	1,75±0,36 ^b	71,62±0,80 ^b	15,09±1,65 ^b	1,38±0,01 ^b	1,72±0,15 ^b

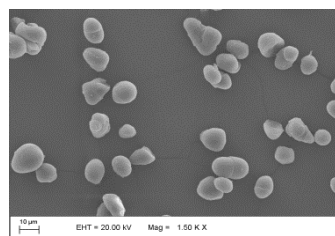
A: amostra; F1: fração retida; F2: centrifugada; C: cinzas; L: lipídeos; A: amilose; U: umidade; P: proteínas; F: fibras.

a,b: letras diferentes na mesma coluna representam diferença significativa entre F1 e F2 segundo o teste de Tukey, $p < 0,05$.

Através do teste de Tukey realizado, notou-se que não houve diferença significativa para o teor de cinzas entre as frações F1 e F2 ($p > 0,05$), para as demais propriedades houve diferença significativa ($p < 0,05$). Pela Tabela 1 nota-se que o teor de lipídeos de F2 é bem maior que F1, pois durante o processo de moagem e peneiragem, os lipídeos foram arrastados para a porção centrifugada. Em relação aos teores de proteínas e fibras, observa-se que foram maiores para F1 do que para F2, pois estas estruturas apresentam-se aglomeradas formando partículas de maior tamanho, como pode ser observada nas micrografias apresentadas na Figura 1.



(a)



(b)

Figura1. MEV dos farelos de babaçu F1 (a) e F2 (b).

Na micrografia da fração F1 pode ser observada a presença de grânulos de amido aglomerados por estruturas proteicas e lipídeos. Entretanto, na fração F2 observa-se grânulos de amido mais dispersos, livres destas estruturas apresentadas na fração F1, portanto este material apresenta-se como amido mais purificado.

Os difratogramas das frações F1 e F2 obtidos por difração de raios X estão apresentados na Figura 2. Nestes difratogramas pode ser observada a presença de cinco picos, um mais acentuado por volta de 17° e os picos menores por volta de 5° , 15° , 22° e 24° , indicando que o amido presente neste material é do tipo-B. O amido de babaçu se assemelha ao amido de inhame (Hoover, 2001; Shujun et al., 2007) e ao amido de *C. edulis* por

possuírem padrão de difração de raios-X tipo-B. O índice de cristalinidade obtidas a partir destes difratogramas foi semelhante para as duas frações F1 (33,12%) e F2 (33,51%).

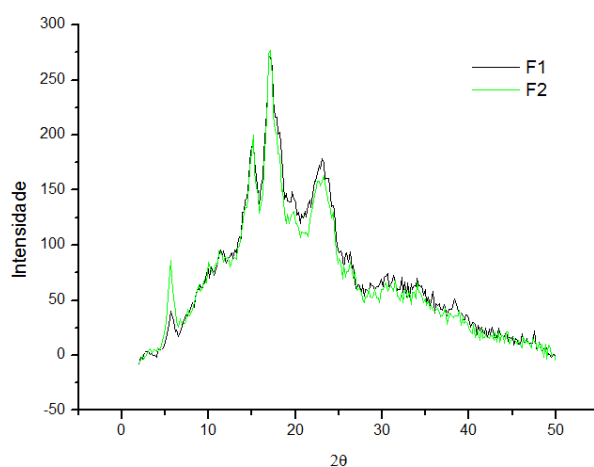


Figura 2. Difratograma de raios X das frações F1 e F2.

3.2 Filmes elaborados com as frações F1 e F2.

Os filmes elaborados a partir das frações F1 e F2 apresentaram superfície homogênea sem formação de bolhas ou fissuras. Os filmes puderam ser facilmente retirados das placas sem deformações ou rasgos. Não apresentaram característica pegajosa ou frágil. A caracterização dos filmes feitos a partir das frações F1 e F2 estão apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2. Propriedades dos filmes preparados a partir das frações F1 e F2.

A	E (mm)	T (MPa)	E (%)	MY (MPa)	S (%)	PVA	U (%)
F1	0,080±0,005	43,6±7,5 ^a	4,0±0,4 ^a	2372,3±465,0 ^a	12,7±0,4 ^a	11,6±0,8 ^a	23,4±0,6 ^a
F2	0,070±0,007	63,0±4,1 ^b	1,7±0,2 ^b	4295,9±208,8 ^b	36,6±2,1 ^b	8,5±0,2 ^b	26,9±1,1 ^a

A: amostra; E: espessura (mm); T: tensão; Elong.: elongação; MY: Módulo de Young; S: solubilidade; PVA: Permeabilidade do vapor de água ($\times 10^{-10} \text{ g.m}^{-1}.\text{s}^{-1}.\text{Pa}^{-1}$); U: umidade. a,b: letras diferentes na mesma coluna representam diferença significativa entre F1 e F2 segundo o teste de Tukey, $p < 0,05$.

Através do teste de Tukey realizado, notou-se que não houve diferença significativa entre os filmes elaborados com as frações F1 e F2 apenas para a umidade ($p > 0,05$), para as demais propriedades houve diferença significativa ($p < 0,05$). O teor de umidade do filme feito a partir de F1 é maior do que o feito a partir de F2 ($p < 0,05$, Tabela 2). Isso ocorre pelo fato de que F2 apresenta maior teor de amilose do que F1, que apresenta maior caráter hidrofílico, portanto, possui maior número de interações com moléculas de água. Porém, a umidade tanto dos filmes de F1 quanto de F2 apresentaram valores próximos, pois a presença de outros componentes como fibras e proteínas induz a formação de uma estrutura mais porosa, o que melhora a água retenção por capilaridade.

O filme de F1 obteve menores valores de tensão e módulo de Young e maior valor de alongação, em comparação com os filmes feitos a partir de F2. Isto indica que o filme F1 é mais flexível, isto é, apresenta maior alongamento na ruptura, e que os filmes F2 são mais resistentes e rígidos. Os resultados de caracterização da composição centesimal destes materiais confirmam que por F1 ter maior teor de lipídios presentes, o qual pode ter um efeito plastificante, portanto estes filmes apresentaram maior flexibilidade do que os filmes F2 (Batista et al., 2005). O maior teor de umidade nos filmes F1 exerce um efeito plastificante importante e bem conhecida, que reduz a resistência mecânica e aumenta a flexibilidade de filmes de biopolímeros. O módulo de Young indica a rigidez do filme e no caso foi obtida maior rigidez para os filmes feitos a partir de F2 do que para filmes feitos a partir de F1. Isso se deve ao maior teor de amilose desta fração. Ambos os filmes feitos de F1 e de F2 apresentaram boa força mecânica, mas pouca flexibilidade que é típico de materiais com alto teor de amilose. Os filmes feitos a partir da fração F2 apresentaram menor opacidade ($66,50 \pm 0,99\%$) e que os elaborados pela fração F1 ($80,05 \pm 0,48\%$), isso se deve a sua constituição mais pura.

3.3. Microestrutura da matéria-prima

Na Figura 3 (a) e (b) apresentam-se as micrografias dos filmes das frações F1 e F2, respectivamente.

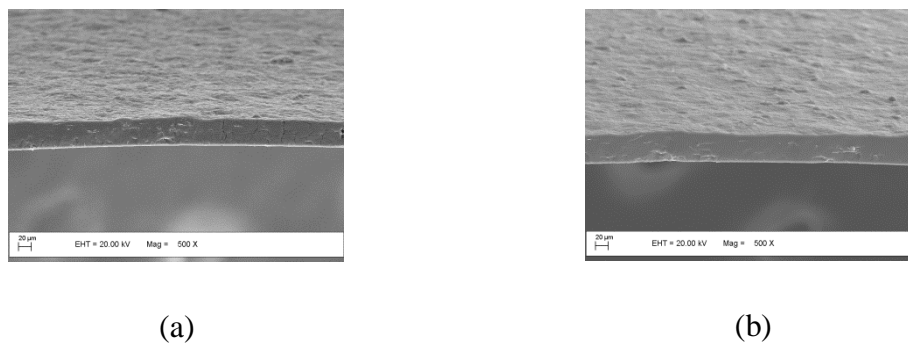


Figura 3. MEV dos filmes de farelo F1 (a) e F2 (b).

Os filmes F1 apresentaram superfície mais rugosa do que os filmes F1. Este fato pode ser devido à sua composição mais mista na fração F1 do que no F2. A fração F1 apresenta os grânulos de amido aglomerados pela presença de proteínas, lipídeos e fibras, enquanto F2 apresenta grânulos mais soltos, permitindo melhor formação da matriz filmogênica (Figura 1).

3.4. Difração de raio-X dos filmes

Os difratogramas dos filmes elaborados a partir das frações F1 e F2 estão apresentados na Figura 4.

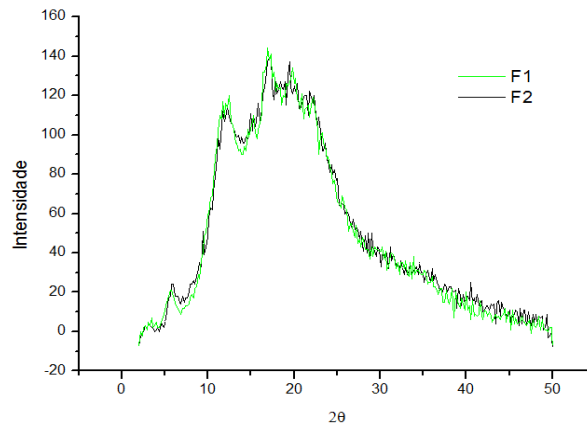


Figura 4. Difratograma de raios X dos filmes elaborados a partir das frações F1 e F2.

Nestes difratogramas podem ser observados que os filmes apresentaram os mesmo picos presentes nos farelos (17° e picos menores por volta de 5°, 1°, 22° e 24°). O índice de cristalinidade obtidas a partir destes difratogramas foi semelhante para os dois filmes elaborados a partir das frações F1 (31,78%) e F2 (36,73%).

O menor valor de índice de cristalinidade para F1 é devido a maior presença de compostos amorfos (celulose amorfa, hemicelulose e lignina). O mesmo resultado foi obtido para os filmes.

4. CONCLUSÃO

As frações F1 e F2 obtidas a partir do resíduo do mesocarpo do coco babaçu se apresentaram como materiais promissores para a formulação de filmes. Além do fato de que este material se apresenta como um resíduo, portanto é mais barato que matérias-primas comerciais. O filme preparado com F1 se apresentou mecanicamente menos resistente, mais flexível e mais opaco do que o F2. O filme elaborado com fração F1 apresentou maior permeabilidade ao vapor de água e menor solubilidade que F2. A fração apresenta uma estrutura mais complexa, pois é composta de amido, proteínas, lipídeos e fibras, enquanto F1 apresenta maior conteúdo de amido. Estes componentes influenciaram as propriedades do filme resultante.

5. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- Aoac. Williams, S. (ED.) *Official Methods of Analysis*, 14 ed.. Arlington, Virginia: Association of Official Analytical Chemists. P. 429. 1984.
- ASTM. Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting. In: *Annual book of American Standard Testing Methods*. D882-95. Philadelphia, Pa.: ASTM, 1995.
- ASTM. Standard test method of water vapor transmission of materials. In: *Annual book of American Standard Testing Methods*. E96-95. Philadelphia, Pa.: ASTM, 1995.
- ASTM. Standard test methods for moisture content of paper and paperboard by oven drying. Method D644-94. In *Annual Book of ASTM Standards*, American Society for Testing and Materials: Philadelphia, 1994.
- Batista, J. A. et al. Vigor de sementes de brócolos submetidas a coberturas biodegradáveis e micronutrientes. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v. 23, n. 3, p. 841-845, jul-set , 2005.
- Bertan, L.C.; Tanada-Palmu, P.S.; Siani, A.C.; Bertan, L.C.; Tanada-Palmu, P.S.; Siani, A.C.; Grosso, C. Effect of fatty acids and Brazilian elemi on composite films based on gelatin. *Food Hydrocolloids*, v. 19, n. 1, p. 73-82, 2005.
- Bligh, E. G; Dyer, W. J. a rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* v.37, p. 911-917, 1959.
- D. Albiero, Proposta de uma máquina para colheita mecanizada de babaçú para agricultura familiar (Solutions to a machine for mechanical harvesting of babassu for family farms), *Acta Amaz.* 37, 337–346, 2007.
- E.A. Baruque Filho, M.G.A. Baruque, D.M.G. Freire, G.L. Sant’anna Jr., Ethanol from babassu coconut starch. Technical and economical aspects, *Appl. Biochem. Biotechnol.* 70–72, 877–886, 1998.
- García, M.A; Martino, M.N.; Zaritzky, N.E. Lipid Addition to Improve Barrier Properties of Edible Starch-based Films and Coatings. *Food Chemistry and Toxicology*, v.65, n.6, p.941-947, 2000.
- Gontard, N.; Guilbert, S.; Cuq, J. L. *Journal of Food Science*, 57, 1, p. 190-195, 1992.
- Hoover, R. Composition, molecular structure, and physicochemical properties of tuber and root starches: A Review. *Carbohydrate Polymers*, v. 45, n. 3, p. 253-267, 2001.
- M.A. Teixeira, Heat and power demands in babaçu palm oil extraction industry in Brazil, *Energy Convers. Manage.* 46 (2005) 2068–2074.
- Martínez, C.; Cuevas, F. Evaluación de la calidad culinaria y molinaria del arroz. *Guia de estudo*, p. 75, 1989.
- P.H. May, *Palmeiras em chamas: transformação agrária e justiça, a social na zona do babacu (Palm Trees in Flames: Agrarian Transformation and Social Justice in the Area of Babassu)*, EMAPA/FINEP/Fundação Ford, São Luís, 1990 (in Portuguese).
- Rosenthal F., Espindola A.C., O amido do coco de babac, ú: algumas propriedades dos grânulos e das pastas (The babassu coconut starch: some properties of the granules and pastes), *Rev. Bras. Technol.* 307–315, 1975.
- Rosenthal, F. R. T. E Machado, L. N. R. *Bibliografia sobre o babaçu*. Rio de Janeiro, STI, 1978.

Shi, Y. C. et al. Molecular structure of a low-amylopectin starch and other highamylose maize starches. *Journal of Cereal Science*, v. 27, p. 289-299, 1998.

Shujun, W.; Jinglin, Y.; Wenyuan, G. Use of X-ray Diffractometry (XRD) for Identification of Fritillaria According to Geographical Origin. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, v.1, p.207-211, 2005.

Tappi Standard. –“ Method T19 o-54”, TAPPI Test Methods, 1991.

MODIFICACIÓN DE LAS PROPIEDADES REOLÓGICAS DEL QUESO CREMA MEDIANTE LA APLICACIÓN DE ULTRASONIDO DE ALTA POTENCIA

Ing. José Luis Almanza Rubio Universidad Autónoma de Chihuahua (614) 112-21-90

Ing.joal@gmail.com

Dr. Néstor Gutiérrez Méndez Universidad Autónoma de Chihuahua (614) 176-17-37

nestorgutierrez@me.com

Dr. Martha Yareli Leal Ramos Universidad Autónoma de Chihuahua

yarelyleal@hotmail.com

Dr. David Sepúlveda Ahumada Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo

(CIAD, A.C.) dsepulveda@ciad.mx

INTRODUCCIÓN

La reología y textura de un queso juegan un importante papel en la aceptación del producto por parte de los consumidores. Algunos trabajos de investigación han demostrado que la aplicación de ultrasonido de alta potencia en la leche puede aumentar el rendimiento de los quesos elaborados a partir de esta, sin embargo no se sabe qué efectos puede tener este tratamiento sobre los parámetros reológicos y de textura de los quesos. Debido al cuajado mixto (ácido-enzimático) utilizado en la elaboración del queso crema, la pasta presenta varias características distintas a las de una cuajada enzimática normal y a las de una cuajada ácida o isoelectrica (pH de 4.6-4.7). La cuajada mixta tiene un tiempo de cuajado prolongado (horas) en comparación del cuajado enzimático normal; sin embargo éste es más corto que el tiempo del cuajado ácido (por fermentación). La cuajada ácido-enzimática presenta una sinéresis ligera, una consistencia y desmineralización de gel intermedia, una alta retención de agua y un pH medio a bajo (pH 4.7-5.8). (Villegas De Gante, 2004). El ultrasonido de alta intensidad se ha utilizado en los laboratorios de investigación durante muchos años para generar emulsiones, generar rompimiento celular y dispersar materiales agregados (McClements, 1995). En el ultrasonido de alta intensidad, cuando la energía sónica pasa de la sonda al medio líquido esto resulta en movimiento continuo en forma de ondas. Las ondas longitudinales generadas resultaran en una compresión y rarefacción de las partículas del medio. La generación de calor y el aumento de presión debido a las aplicaciones del ultrasonido ocasionan la implosión de pequeñas burbujas de gas, este efecto es conocido como cavitación. La cavitación ocurre rápidamente al hallarse en el medio la temperatura y la presión adecuadas para la formación y eventual implosión de las burbujas de gas (Knorr y col., 2004). En un estudio, Ertugay y col. (2004) encontraron que el uso de ultrasonido de alta intensidad (450 W) durante 10 minutos daba una alta eficiencia de homogenización (<10%) lo que indica que la homogenización por ultrasonido promueve una buena

disminución de tamaño de los glóbulos de grasa. Bermúdez-Aguirre y col. (2008) encontraron que el uso de ultrasonido en leche bovina ayuda a romper los glóbulos de grasa, reduciendo su tamaño y proporcionando un medio más homogéneo y estable. En otro estudio, Bermúdez-Aguirre y col. (2010) utilizaron leche tratada con ultrasonido en la elaboración de queso fresco encontrando que de esta forma se obtiene un queso más luminoso con un mayor rendimiento y sin afectar la textura del producto. Por otra parte Vercet y col. (2002) encontraron que un yogurt elaborado a partir de leche tratada con ultrasonido presentaba una textura más firme que aquel elaborado de forma tradicional. Esto se debe a que las caseínas interactúan con las proteínas del suero desnaturalizadas, capturando una mayor cantidad de suero y glóbulos de grasa. El objetivo de éste trabajo es estudiar el efecto que tiene el ultrasonido de alta potencia sobre la textura y los parámetros reológicos del queso crema, lo anterior bajo la premisa de que la sonicación de la leche ocasiona una mayor retención de agua, proteínas y lípidos dentro de la matriz del queso, lo cual puede afectar considerablemente dichos parámetros. Para el estudio se utilizó un diseño central compuesto, utilizando como variables la potencia de sonicación, el tiempo de tratamiento y la temperatura de aplicación.

METODOLOGÍA

Para la elaboración de quesos crema se utilizó un protocolo de elaboración de queso crema en el laboratorio. El queso fue tapado y etiquetado para posteriormente ser almacenado en refrigeración a 4°C. Los quesos elaborados se analizaron mediante métodos de la AOAC para la determinación de humedad, grasa, cenizas y proteína. Posteriormente se evaluaron las propiedades de dureza, adhesividad y untabilidad mediante un texturometro. Las propiedades reológicas se evaluaron analizando el módulo de almacenamiento (G'), la tangente delta (Δ), y el módulo de pérdida (G'').

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El los quesos tratados con ultrasonido se logró observar un aumento significativo en la retención de agua, lo cual puede tener un efecto sobre la textura y reología de los quesos crema, además se observó un decremento en el porcentaje de proteína (Figura 1), sin embargo hubo una mayor retención de proteína debido a la desnaturalización de las proteínas del suero, las cuales suelen ser perdidas con el suero en los métodos queseros tradicionales. Analizando los efectos sobre el contenido de humedad, se observa un efecto lineal al

incrementar la potencia de sonicación y la temperatura de sonicación ya que al aumentar cualquiera de estos dos parámetros se favorece la desnaturalización de las proteínas y se mejora la capacidad de retención de agua de la matriz del queso. Sin embargo al incrementar ambos parámetros se obtiene una retención de agua mucho mayor (Figura 2). Al analizar el contenido de grasa de los quesos se observó que la mayor retención de grasa en la matriz del queso ocurre cuando la leche es tratada a bajas temperaturas y a niveles bajos de potencia de sonicación (Figura 3). Al aumentar la sonicación los glóbulos de grasa sufren un rompimiento este rompimiento genera una homogenización en el tamaño de los glóbulos, sin embargo si el tratamiento ultrasónico es muy alto los glóbulos obtienen un tamaño tan pequeño que les permite escapar de la matriz del queso, disminuyendo el contenido de grasa en el queso. La temperatura de tratamiento también tiene un efecto sobre el contenido de grasa, ya que el aumento de la temperatura promueve la incorporación de las proteínas de suero a la membrana de los glóbulos de grasa, aumentando el contenido de proteína y disminuyendo el contenido de grasa. El efecto combinado de los dos parámetros ocasiona una disminución más marcada en el contenido de lípidos del queso. Esta disminución tiene un efecto importante en las propiedades de textura del queso y debe de ser considerada. En el análisis del contenido de humedad y de grasa se encontró que a temperaturas y a potencias de sonicación altas se obtiene una mayor retención de agua y un menor contenido de grasa lo cual tiene un efecto sobre la dureza, la cual disminuye conforme se aumentan la temperatura y la potencia de sonicación (Figura 4). La disminución en la dureza se debe al alto contenido de agua y a los cambios en la matriz del queso por la reducción de grasa. La adhesividad del queso es otro factor de textura que se ve afectado por el aumento en el contenido de agua y la disminución en el contenido de grasa (figura 5). El aumento de la temperatura y de la potencia disminuye la adhesividad del queso crema. Al analizar la untabilidad de los quesos se encontró que al utilizar una potencia de sonicación alta durante tiempos de tratamiento cortos se aumentaba la untabilidad de los quesos crema, sin embargo al aumentar el tiempo de tratamiento la untabilidad disminuye (Figura 6). Esto puede ocurrir debido al rompimiento de los glóbulos de grasa los cuales presentan un mayor rompimiento al utilizar una potencia alta de sonicación durante un tiempo prolongado de tratamiento. Por otro lado, si la potencia de sonicación es muy baja y es aplicada durante un tiempo muy corto, los glóbulos de grasa no son homogenizados lo cual afecta la composición de la matriz del queso y por lo tanto a las propiedades de textura del queso dándonos un queso de baja untabilidad. Al analizar las propiedades reológicas se encontró un efecto significativo de la potencia de sonicación sobre el módulo de almacenamiento (G'), la tangente delta (Δ), y el módulo de pérdida (G''),

además de un efecto significativo por parte de la interacción del tiempo de sonicación y la temperatura de sonicación (Figura 7).

CONCLUSIONES

El uso de ultrasonido de alta intensidad aumenta el rendimiento del queso crema mediante la retención de agua y proteína dentro de la matriz del queso, sin embargo disminuye el contenido de grasa en esta. Estos cambios en la composición del queso, así como los ocurridos en la estructura de la matriz ocasionan cambios en las propiedades reológicas y de textura del queso crema. Algunos de estos cambios pueden tener un efecto favorable o desfavorable sobre la aceptación y preferencia del consumidor, por lo que es necesario realizar pruebas sensoriales para identificar los parámetros preferidos por los consumidores y en base a los resultados obtenidos optimizar el proceso de elaboración de queso crema a partir de leche sonicada obteniendo un queso de mayor rendimiento con las propiedades reológicas y de textura que más gusten al consumidor.

BIBLIOGRAFÍA

- Bermúdez-Aguirre, D. Mawson, R. Barbosa-Cánovas, G.V. (2008). Microstructure of Fat Globules in Whole Milk after Thermo-sonication Treatment. *Journal of Food Science*. Vol. 73, p. E325-E332.
- Bermúdez-Aguirre, D. Barbosa-Cánovas, G.V. (2010). Processing of Soft Hispanic Cheese (“Queso Fresco”) Using Thermo-Sonicated Milk: A Study of Physicochemical Characteristics and Storage Life. *Journal of Food Science*. Vol. 75, p. S548–S558.
- Ertugay, M.F. Şengül, M., Şengül, M. (2004). Effect of Ultrasound Treatment on Milk Homogenisation and Particle Size Distribution of Fat. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* Vol. 28, p. 303-308.
- Everett D.W., Auty M.A.E. (2008). Cheese structure and current methods of analysis: Review. *Int. Dairy J.* Vol. 18, p. 759-773.
- Knorr, D. Zenker, M. Heinz, V. Lee, D. (2004). Applications and potential of ultrasonics in food processing. *Trends in Food Science & Technology* Vol. 15, p. 261–266.
- McClements, D.J. (1995). Advances in the application of ultrasound in food analysis and processing. *Trends in Food, Science & Technology*. Vol. 6, p. 293-299.
- Trancos-Reyes, N. (2011). Estudio sobre la utilización de una fosfolipasa y un cultivo lácteo productor de exopolisacáridos sobre el rendimiento y textura del queso chihuahua. Tesis de Maestría; Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Chihuahua.
- Vercet, A. Oria, R. Marquina, P. Crelier, S. Lopez-Buesa, P. (2002). Rheological Properties of Yoghurt Made with Milk Submitted to Manothermosonication. *J. Agric. Food Chem.* Vol. 50, p. 6165-6171.
- Villegas De Gante (2004). Tecnología quesera. Editorial Trillas Sa De Cv.

FIGURAS

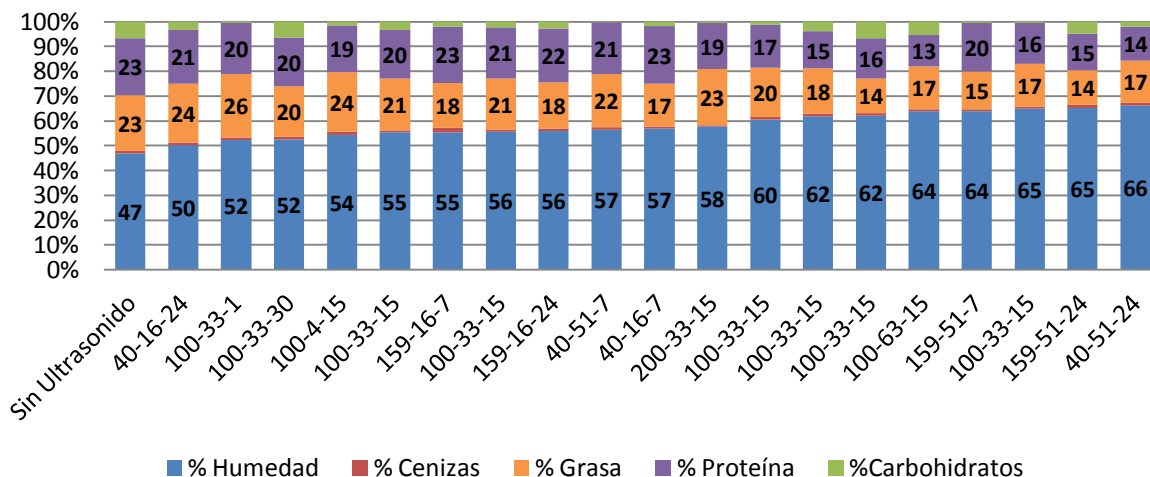


Figura 1.- Composición de los quesos crema elaborados a partir de leche tratada con diferentes niveles de potencia de sonicación (primer número del código, mW/ml), temperatura (segundo número del código, °C), y tiempo (tercer número del código, minutos).

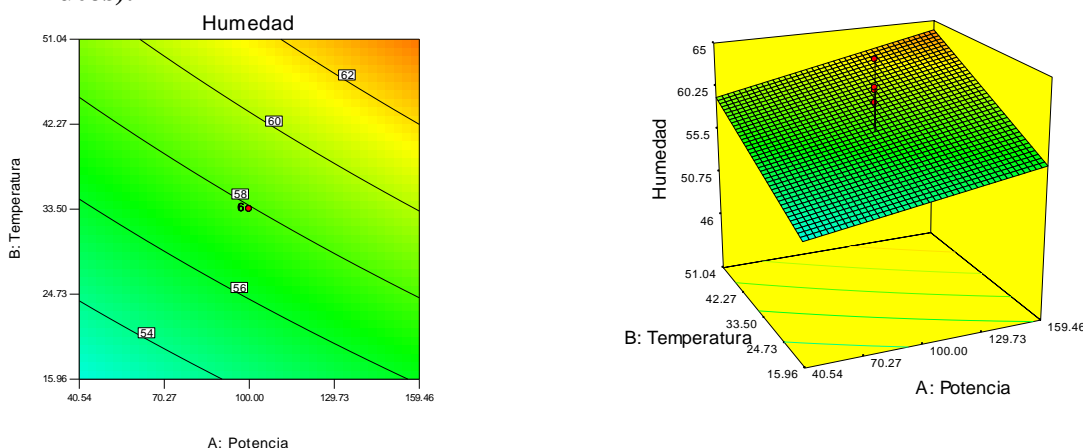


Figura 2.- Interacción entre la potencia de sonicación (mW/ml) y la temperatura de sonicación (°C) sobre el contenido de humedad del queso crema (%).

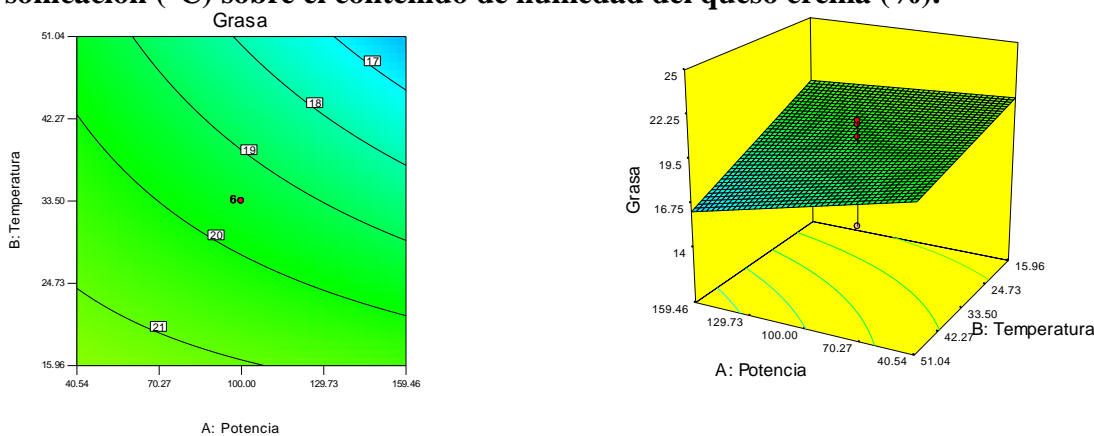


Figura 3.- Interacción entre la potencia de sonicación (mW/ml) y la temperatura de sonicación (°C) sobre el contenido de grasa del queso crema (%).

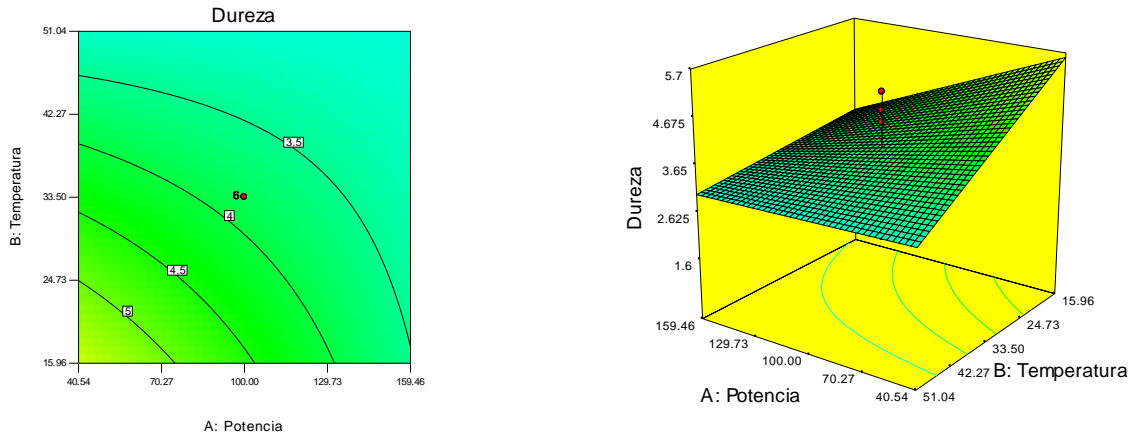


Figura 4.- Interacción entre la potencia de sonicación (mW/ml) y la temperatura de sonicación (°C) sobre la dureza del queso crema (N).

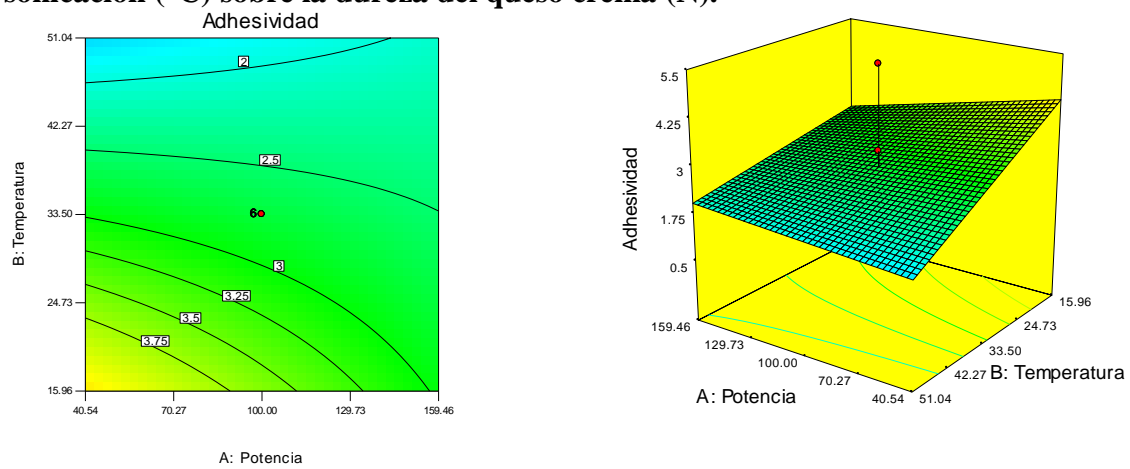


Figura 5.- Interacción entre la potencia de sonicación (mW/ml) y la temperatura de sonicación (°C) sobre la Adhesividad del queso crema (N*S).

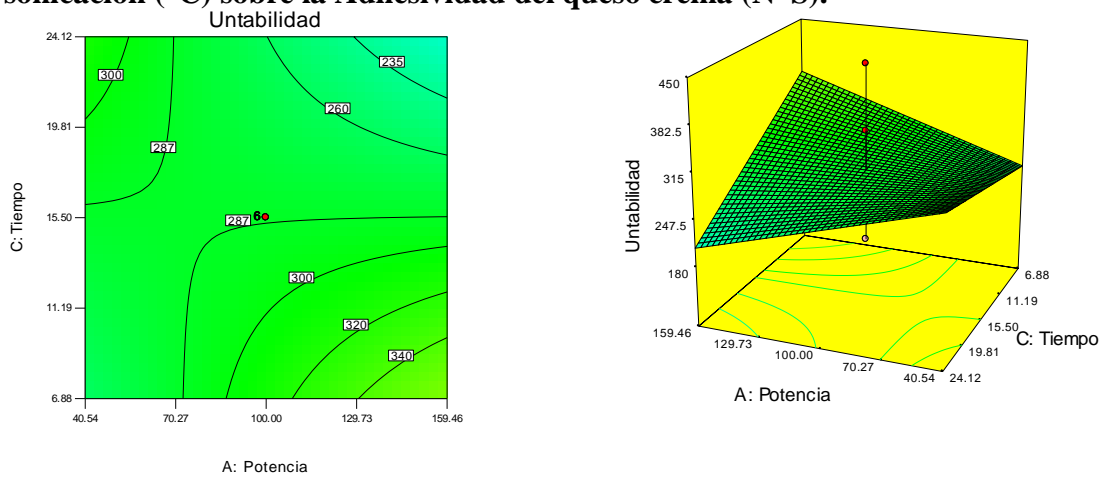


Figura 6.- Interacción entre la potencia de sonicación (mW/ml) y el tiempo de tratamiento (minutos) sobre la untabilidad del queso crema (%).

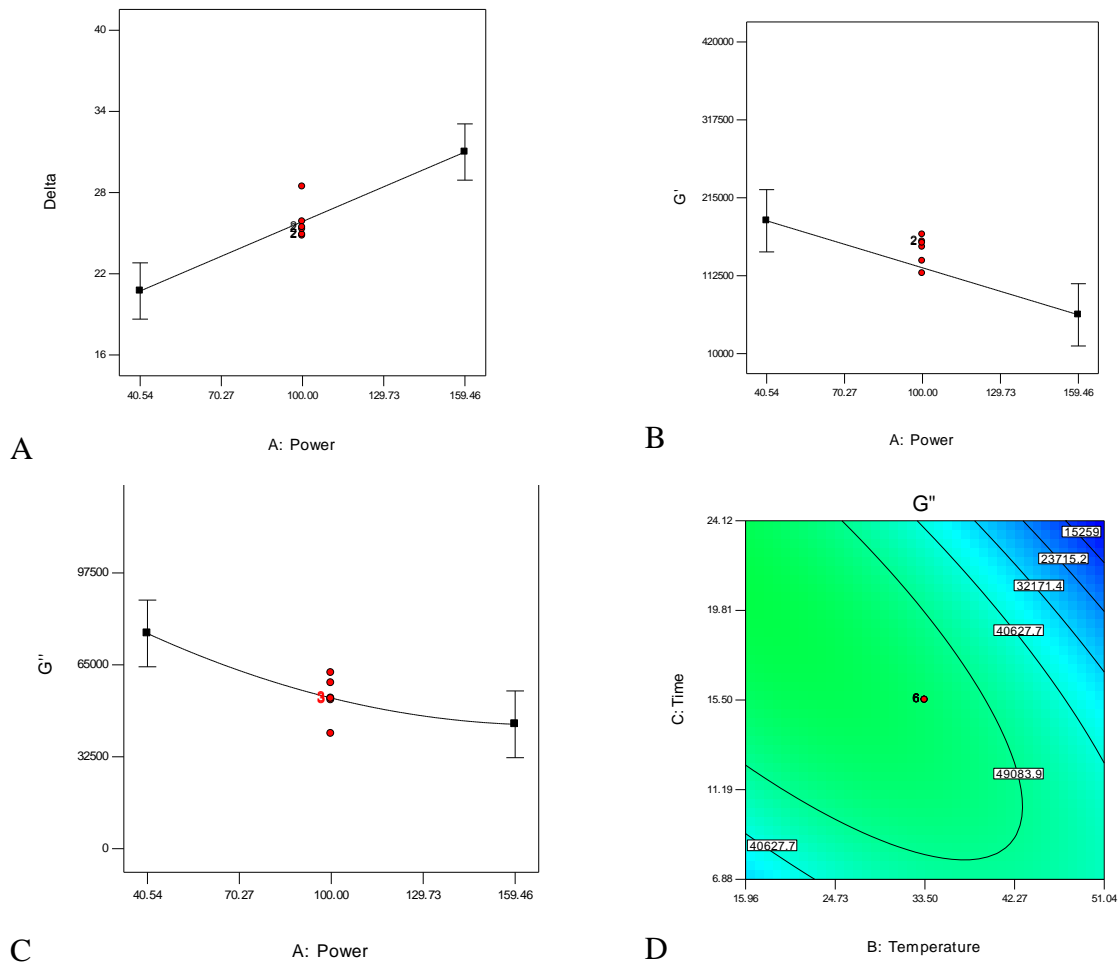


Figura 7.- Efecto significativo de la potencia sobre la Delta (A), G' (B), G'' (C) y de la interacción de la temperatura y el tiempo sobre la G'' (D).

OPTIMIZACIÓN DE LA EXTRACCIÓN DE MUCILAGO DE NOPAL (*OPUNTIA SPP.*) MEDIANTE LA APLICACIÓN DE ULTRASONIDO DE ALTA POTENCIA

Mónica Lizette Guevara Ayala, Néstor Gutiérrez Méndez*, Erika Salas Muñoz, José Carlos Rodríguez Figueroa

Universidad Autónoma de Chihuahua, Facultad de Ciencias Químicas, Chihuahua, Chih., México. *ngutierrez@uach.mx

INTRODUCCIÓN

Opuntia spp. es una planta de la familia de las cactáceas nativas del continente americano ampliamente distribuido en México que crece en las más diversas condiciones ecológicas (Medina-Torres, y col. 2011). México es el país líder en la producción y comercio mundial de nopal verdura, en el 2011 se reportó una producción en el país de más de 700 mil toneladas (777,413 Tons.) (Siap-Sagarpa 2012), exportando su producción a E.U.A., Canadá, Japón y diversos países europeos. Estudios científicos han informado de efectos positivos derivados del consumo de nopal, tales como: diurético, antiinflamatorio, analgésico antidiabético, antiulceroso, e antihipercolesterolemicos. (Contreras-Padilla y col., 2012). Algunos de estos efectos benéficos del consumo del nopal han sido atribuidos directamente al mucilago del nopal. El mucílago del nopal es un hidrato de carbono complejo con una gran capacidad para absorber el agua (Sáenz y col., 2004). Estudios de las propiedades de flujo del mucilago de nopal ha contribuido a la identificación de posibles aplicaciones, el desarrollo de nuevos productos y métodos para evaluar la calidad y estabilidad de estos polisacáridos durante su almacenamiento (García-Cruz y col., 2013). Sin embargo, a pesar de que la demanda de hidrocoloides con una funcionalidad específica ha aumentado recientemente en la industria de los alimentos, el potencial de los mucílagos no es en absoluto explotado (Stintzing y Carl 2005). Por otra parte, el ultrasonido hace uso de fenómenos físicos y químicos que son fundamentalmente diferentes en comparación con los aplicados en las técnicas convencionales de extracción, procesamiento o preservación (Chemat, y col., 2011). La introducción de nuevas tecnologías podría conducir a una reducción del tiempo de procesamiento o una mejora en las condiciones de funcionamiento. Estos aspectos están estrechamente relacionados con la búsqueda de productos de alta calidad que conservan las características naturales de los alimentos (Cárcel y col., 2012). El objetivo de este proyecto fue evaluar la utilización de ultrasonido de alta potencia como un método de acelerar la extracción del mucilago de nopal.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal. Se adquirió un lote de 30 kg de *Opuntia spp.* procedente de Calvillo, Aguascalientes, México. Los 30 kg de nopal fueron lavados y desinfectados con hipoclorito de sodio para eliminar cualquier materia indeseable. Los nopales desinfectados y secos se almacenaron en un refrigerador a 5°C hasta su procesamiento.

Extracción de mucilago asistido por ultrasonido.- Se realizaron cortes en forma de tiras (0.78 cm de ancho x 0.3 mm espesor) con un rayador de acero inoxidable para exponer la mayor superficie de mucilago y favorecer la transferencia de masa. El material en tiras se mezcló con agua destilada en una proporción 1:3 y se depositaron en un vaso de boca ancha de 500 mL (Pyrex) con tapadera. Se realizó un diseño central compuesto rotatable de 13 tratamientos variando potencia de ultrasonido y temperatura (Tabla 1), el tiempo de aplicación del ultrasonido fue en todos los tratamientos de 25 minutos. El ultrasonido se aplicó utilizando un equipo ultrasonico (Branson Sonifier, modelo 450, México) y una sonda con un área de 1.13 cm². La sonda se sumergió 7 cm en el centro del vaso.

Cálculo del rendimiento y de la transferencia de masa.- Se calculó previamente fibra soluble por medio del método 993.19 de la AOAC. Los coeficientes de difusión se obtuvieron ajustando los datos de extracción al modelo de la segunda ley de Fick (Ec. 1) considerando las tiras de nopal como placas infinitas (Álvarez- Reyes y col, 2001)

$$\log \frac{q_t}{q_0} = -0.0911 - 4.286 \frac{D}{(2l)^2} \theta \quad (1)$$

θ = Tiempo de extracción (s), de acuerdo a cada tratamiento

q_0 = Cantidad inicial de sólidos cuando al tiempo cero ($q = 0$)

q_t = Cantidad de fibra por unidad de sólidos g/g de nopal

$2l$ = Espesor del nopal sujeto a extracción (valor promedio 0.78 mm)

D = Coeficiente de difusión (m²/s)

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Al analizar los resultados de los tratamientos generados por el diseño central compuesto, se observó que la temperatura y la potencia (al cuadrado) tenían un efecto significativo sobre la difusividad del mucilago (Figura 1 y Tabla 2). En el caso de la temperatura, se observó que a medida que se incrementa la temperatura existe una mayor difusión del mucilago de nopal ($P = 0.0483$). La potencia de ultrasonido utilizada también presentó un efecto cuadrático sobre la difusión de nopal ($P = 0.0265$). Es decir, a bajas potencias

existe una baja difusión del mucilago, pero a medida que se incrementa la potencia se incrementa la difusividad del polisacárido. Esto es cierto hasta una potencia aproximada de 200 mW/g, sin embargo, al incrementar mucho más la potencia se reduce la difusividad del mucilago (Figura 1). Los datos se ajustaron significativamente al modelo seleccionado ($P = 0.02$), aunque se obtuvo un valor del coeficiente de determinación relativamente bajo ($R^2 = 0.64$). A continuación se muestra la ecuación obtenida para el efecto de la temperatura (t) y potencia ultrasónica (p) sobre los coeficientes de difusión (D):

$$D = -2.11^{-12} + 7.6^{-14}(t) + 3.49^{-14}(p) - 1.36^{-16}(p^2) \quad (2)$$

El porcentaje de sólidos recuperados fueron analizados también mediante un análisis de varianza del diseño central compuesto, observando que la temperatura, potencia, y la temperatura así como su interacción producía un efecto significativo sobre el porcentaje de sólidos recuperados (Figura 2). Se observó que al incrementar la temperatura existía una mayor extracción de sólidos ($P < 0.0001$), y a potencias de ultrasonido elevadas el porcentaje de sólidos disminuyó significativamente ($P = 0.007$). También se observó que el efecto de la temperatura presentaba un efecto cuadrático sobre el porcentaje de sólidos recuperados, en particular al combinarse con altas potencias ultrasónicas. Es decir que a temperaturas elevadas y potencias elevadas disminuyó la recuperación de sólidos. Mientras que a temperaturas y potencias intermedias (55°C y 280mW/g) se observó el mayor porcentaje de recuperación. Los datos se ajustaron significativamente al modelo seleccionado ($P < 0.0001$) y se obtuvo un coeficiente de determinación (R^2) de 0.966. La ecuación obtenida del efecto de la temperatura (t) y de la potencia ultrasónica (p) sobre el porcentaje de sólidos recuperados ($\%SR$) fue la siguiente:

$$\%SR = 0.19 - 5.8^{-3}(t) - 3.18^{-3}(p) + 1.66^{-4}(t * p) + 1.53^{-4}(t^2) - 1.67^{-6}(t^2 * p) \quad (3)$$

Se corrió una muestra control tratada sin ultrasonido a temperatura ambiente (25°C) durante 25 minutos, donde se calculó el coeficiente de difusión así como el porcentaje de sólidos recuperados para posteriormente ser comparados con los 13 tratamientos del diseño central compuesto. Se observó que la difusividad del mucilago de nopal era mucho menor cuando no se utiliza ultrasonido y se realiza la extracción solo con agua ($D = 5.68^{-16} \text{ m}^2/\text{s}$). En relación a los sólidos recuperados en el control sin ultrasonido, los valores fueron menores que en lo obtenido con ultrasonido y temperatura (Tabla 2). Adicionalmente, se realizó una extracción por el método más comúnmente utilizado como es la extracción acuosa a temperatura ambiente por 12 horas a 25°C (Figura 3) con la finalidad de observar el tiempo

que tarda en llegar a su estabilidad que fue alrededor de 8 horas con un % de sólidos recuperados alrededor de 0.5 g sólidos/100g de líquido que es aproximadamente lo que se recupera en tratamientos con potencias altas y temperaturas medias, o potencias bajas y temperaturas altas por 25 minutos.

CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos, la utilización de ultrasonido puede ser utilizada como una tecnología emergente para disminuir significativamente tiempos de procesamiento, mejorar la transferencia de masa y aumentar rendimientos. La mejora de la extracción por ultrasonidos se ha atribuido a la propagación de las ondas de presión de ultrasonido, y fenómenos de cavitación resultantes. Las altas fuerzas de cizalla que provoca la cavitación inducen un aumento de la transferencia de masa que al ser combinada con diferentes temperaturas nos proporciona un mayor rendimiento, por lo que este método de extracción, puede ser una alternativa para extracción de mucilagos que pueden ser utilizados en la elaboración de nuevos productos.

BIBLIOGRAFÍA

- Álvarez- Reyes A.R., J.A. Solís- Fuentes , C. Durán-de-Bazúa. "Coeficientes De Difusividad Aparente Durante La Extracción De Aceite De Almendras De Zapote Mamey (*Pouteria Sapota*)."
Tecnología, ciencia y educación. 16 (1) (2001): 20-27.
- Cárcel J.A , J.V. García-Pérez, J. Benedito y A. Mulet. "Food Process Innovation through New Technologies: Use of Ultrasound."
Food Engineering 110 (2012): 200–07.
- Chen W., W. Wei-Ping, Z. Hua-Shan y Q. Huang. "Optimization of Ultrasonic-Assisted Extraction of Water-Soluble Polysaccharides from *Boletus Edulis* Mycelia Using Response Surface Methodology."
Carbohydrate Polymers 87 (2012): 614-19.
- Contreras-Padilla M., E. Gutiérrez-Cortez , M.C. Valderrama-Bravo, I. Rojas-Molina , D.G. Espinosa-Arbeláez, R. Suárez-Vargas y M.E. Rodríguez-García. "Effects of Drying Process on the Physicochemical Properties of Nopal Cladodes at Different Maturity Stages."
Plant Foods for Human Nutrition 67 (2012): 44–49.
- García-Cruz E.E, J. Rodríguez-Ramírez, L.L. Méndez Lagunas y L. Medina-Torres. "Rheological and Physical Properties of Spray-Dried Mucilage Obtained from *Hylocereus Undatus* Cladodes."
Carbohydrate Polymers 91 (2013): 394– 402.
- Medina-Torres L., E.J. Vernon-Carter, J. A. Gallegos-Infante, N. E. Rocha-Guzman, E. E Herrera-Valencia, F. Calderasa y R. Jiménez-Alvarado. "Study of the Antioxidant Properties of Extracts Obtained from Nopal Cactus (*Opuntia Ficus-Indica*) Cladodes after Convective Drying."
Science of Food and Agriculture 91 (2011): 1001–05.
- Sáenz C., E. Sepúlveda y B. Matsuhira. "Opuntia Spp Mucilage 'S: A Functional Component with Industrial Perspectives."
Arid Environments 57 (2004): 275-90.

SIAP-SAGARPA.- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera 2012. www.siap.gob.mx, consultado el 23 de noviembre del 2012.

Stintzing, C.F y Carle, R. "Cactus Stems (Opuntia Spp.): A Review on Their Chemistry, Technology, and Uses." *Molecular Nutrition & Food Research* 49 (2005): 175 – 94.

TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1.- Variables independientes y sus valores designados por el diseño central compuesto.

Variables independientes	-1	1
Potencia (mW/g)	0	343
Temperatura (°C)	25	85

Tabla 2.- Coeficientes de difusión y porcentaje de sólidos recuperados al realizar la extracción de mucilago con agua por 25 minutos y asistida con ultrasonido de altapotencia y temperatura.

Tratamiento		Coefficiente de difusión (m²/s)	% Sólidos (g sólidos/100g)
Temperatura °C	Potencia mW/g		
25	0	5.68 ⁻¹⁶	0.156532
25	171.5	1.14 ⁻¹²	0.201742
85	171.5	5.11 ⁻¹²	0.598652
55	171.5	3.41 ⁻¹²	0.527092
55	171.5	3.97 ⁻¹²	0.482931
55	343	-5.68 ⁻¹²	0.669237
33.79	292.77	2.27 ⁻¹²	0.284672
55	171.5	3.97 ⁻¹²	0.506176
55	171.5	3.97 ⁻¹²	0.505786
33.79	50.23	1.14 ⁻¹²	0.151631
76.21	50.23	5.68 ⁻¹²	0.641175
76.21	292.77	5.11 ⁻¹²	0.597921
55	171.5	3.97 ⁻¹²	0.502822
55	0	2.84 ⁻¹²	0.347407

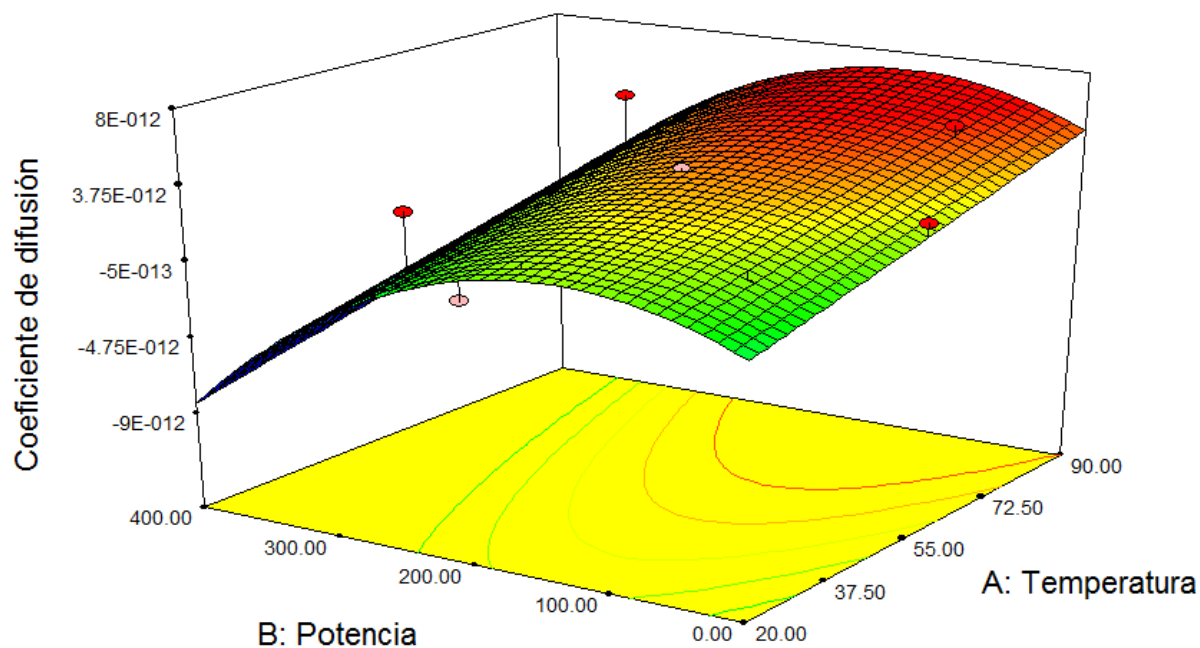


Figura 1.- Superficie de respuesta de los coeficientes de difusión del mucilago durante el proceso de extracción con agua y asistido con ultrasonido de alta potencia y temperatura

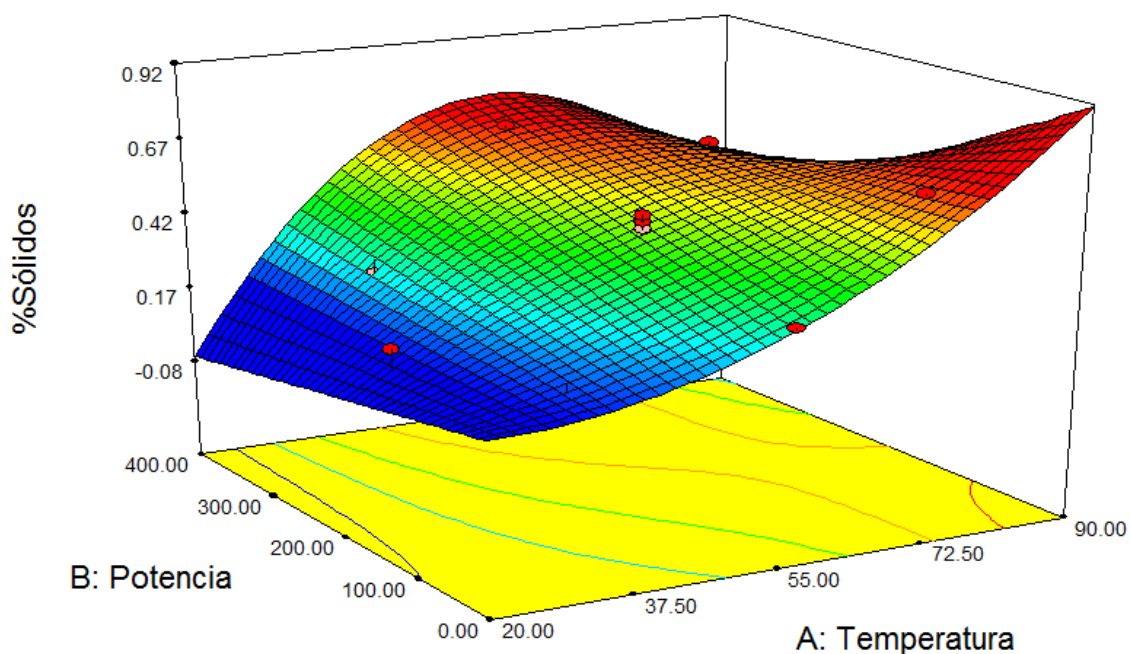


Figura 2.- Superficie de respuesta del porcentaje de sólidos recuperados durante el proceso de extracción con agua y asistido con ultrasonido de alta potencia y temperatura

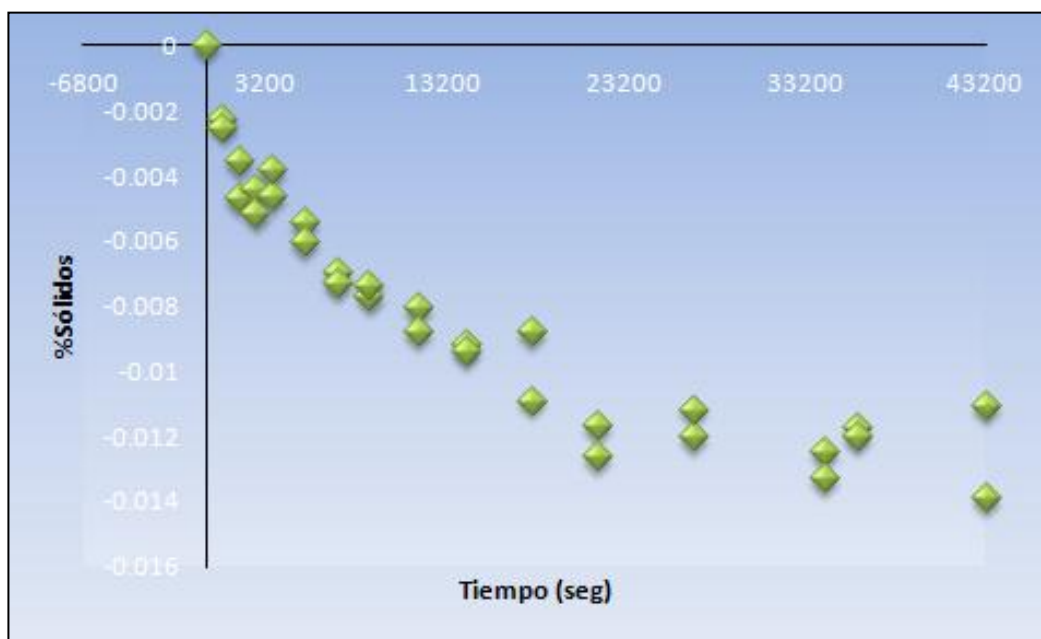


Figura 3.- Extracción acuosa a temperatura ambiente por 12hrs a 25°C.

PERFIL DESCRITIVO OTIMIZADO: QUANTOS JULGADORES SÃO NECESSÁRIOS?

Rita de Cássia dos Santos Navarro da Silva¹, Valéria Paula Rodrigues Minim¹, Alexandre Navarro da Silva², Luiz Alexandre Peternelli³, Andréa Alves Simiqueli¹, Luis Antônio Minim¹.

¹ Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa (UFV), Zip code: 36570-000, Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

² Departamento de Engenharia de Produção e Mecânica, Universidade Federal de Viçosa (UFV), Zip code: 36570-000, Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

³ Departamento de Estatística, Universidade Federal de Viçosa (UFV), Zip code: 36570-000, Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

1. INTRODUÇÃO

O custo associado com a avaliação sensorial descritiva aumenta com o número de julgadores participantes. Portanto, a determinação do número ideal de avaliadores é de extrema importância. Segundo Heymann et al. (2012), é óbvio que treinar um número menor de julgadores requer menos tempo, custos e esforços, mas isto pode acarretar em uma “falsa economia” devido a possibilidade de obtenção de dados “pobres”. Desta forma, o desafio é determinar o número ideal de julgadores necessários nas avaliações descritivas que possibilite a redução do tamanho da equipe, mas sem que ocorram perdas de informações sobre o perfil sensorial dos alimentos.

A recomendação do número ideal de julgadores para compor uma equipe não é muito clara na literatura. São encontradas diferentes recomendações em função da técnica utilizada, por exemplo, seis julgadores para o Perfil de Sabor (Cairncross & Sjostrom, 1950); dez julgadores para o Perfil de Textura (Brandt, Skinner, & Coleman, 1963); dez a doze julgadores para a Análise Descritiva Quantitativa (Stone & Sidel, 1985). Porém, os critérios para determinação dos números de julgadores necessários não são apresentados.

O cálculo do número de julgadores em testes sensoriais descritivos tem sido pouco explorado na literatura. Alguns estudos foram realizados na determinação do número ideal de julgadores considerando metodologias genéricas, tais como o “Perfil Convencional” ou a “Análise Descritiva”. Na maioria dos estudos, foi abordada a redução do tamanho da equipe de julgadores por meio de re-amostragem de dados proveniente de um painel maior (King et al., 1995; Pagès & Perinel, 2003; Gacula & Rutenbeck 2006; Heymann et al., 2013; Silva et al., 2013b).

A metodologia Perfil Descritivo Otimizado (PDO) não apresenta nenhum estudo prévio em relação à determinação de número de julgadores necessário na equipe sensorial. O PDO foi proposto como método descritivo recentemente e, portanto, são poucos os estudos que tratam desta nova técnica sensorial (Silva et al., 2012; 2013a). A técnica utiliza um protocolo de avaliação otimizado, apresentando uma avaliação comparativa entre as amostras e, posteriormente, quantitativa utilizando uma escala intervalar. Uma vez que a técnica recomenda a participação de julgadores com baixo grau de treinamento e o protocolo de avaliação dos alimentos é diferenciado, é necessário que um estudo particular deste método seja realizado para determinar o número ideal de julgadores.

Este estudo tem por objetivo determinar o número ideal de julgadores para a avaliação sensorial descritiva de alimentos utilizando a técnica Perfil Descritivo Otimizado (PDO), com o intuito de possibilitar que a técnica apresente redução de tempo, dinheiro e esforços em questão da condução da metodologia e também em relação ao número de participantes na equipe.

2.MATERIAIS E MÉTODOS

A determinação do número necessário de julgadores na técnica PDO foi realizada utilizando a técnica de re-amostragem dos dados de um painel original composto por 26 julgadores, por meio de simulação computacional. Foram re-amostrados dados do painel completo considerando 10.000 iterações com reposição. Os dados experimentais foram obtidos por meio da caracterização sensorial, utilizando a técnica descritiva PDO, de duas matrizes alimentares: iogurte sabor morango (experimento A) e chocolate (experimento B). Os critérios para a determinação do número ideal de julgadores foram: (i) obtenção de um erro experimental menor ou igual ao erro verificado para a metodologia referência (Perfil Convencional), (ii) discriminação das amostras semelhantemente à discriminação obtida pela equipe completa, e (iii) mínima perda de informação no mapa sensorial.

2.1. Estímulos sensoriais

Foram utilizados dois tipos de matriz alimentar (iogurte e chocolate) na caracterização sensorial. As formulações foram definidas com base em testes triangulares preliminares, de forma que as amostras apresentassem pequena magnitude de diferença ($p < 0,10$) nas características sensoriais.

Experimento A) Cinco formulações de iogurte sabor morango foram utilizadas. Para o preparo das formulações um iogurte de marca comercial foi utilizado. Neste foram adicionadas diferentes concentrações de leite, açúcar, leite em pó e corante rosa.

Experimento B) Quatro formulações de chocolate foram utilizadas. As formulações de chocolate foram elaboradas com três diferentes tipos de chocolate da mesma marca comercial e cada unidade apresentava 29 mm de diâmetro e 20 mm de altura. Na elaboração das formulações foram utilizadas diferentes misturas de chocolate ao leite, meio amargo e amargo.

2.2. Procedimento

A avaliação sensorial das formulações-teste (iogurte e chocolate) foi realizada por meio do protocolo de avaliação da técnica Perfil Descritivo Otimizado, PDO (Silva et al., 2012; 2013a). Assim, duas equipes de 26 julgadores participaram das avaliações da intensidade dos atributos descritores (Tabela 1). Uma equipe de 26 participantes realizou a avaliação sensorial das cinco formulações de iogurte e a outra equipe de 26 julgadores avaliou sensorialmente as quatro formulações de chocolate.

Os julgadores semi-treinados avaliaram os produtos, em três repetições, em relação aos atributos sensoriais utilizando uma escala de avaliação não-estruturada de 9 cm, conforme o protocolo do PDO.

2.3. Análise dos dados

2.3.1. Simulação computacional

O método utilizado para comparar diferentes tamanhos de painel consistiu em medir a perda de informação quando obtidos sub-grupos com k julgadores a partir do painel original constituído por 26 julgadores. Para medir a perda de informação, 10.000 sub-painéis foram simulados para cada k número de julgadores por re-amostragem com reposição, $k= 2, 4, 6, \dots, 22$. As simulações foram realizadas por meio de programações desenvolvidas no software R (R Core Team, 2012), armazenando as informações dos critérios avaliados para a determinação do número ideal de julgadores.

2.3.2. Critérios

Os critérios considerados na determinação do número ideal de julgadores no PDO foram: estimativa do erro experimental dada pela raiz do quadrado médio do erro corrigida para o tamanho da escala de avaliação, valor da significância (p-valor) da fonte de variação de tratamento por meio da ANOVA com duas fontes de variação e coeficiente RV obtido na Análise de Procrustes Generalizada (Robert & Escoufier, 1973).

I) Estimativa do erro experimental:

A variabilidade aleatória do experimento foi obtida por meio da estimativa do erro experimental na ANOVA com dois fatores. Os fatores avaliados na ANOVA foram: formulações e julgadores, além do efeito de interação entre as formulações e os julgadores, conforme recomendado por Stone e Sidel (2012) para métodos descritivos. A estimativa do erro experimental possibilita que a variação aleatória (não passível de controle) seja estimada, trazendo informações sobre a variabilidade das respostas dadas pelos julgadores nas repetições das avaliações.

A estimativa da variabilidade do erro experimental é obtida por meio do quadrado médio do erro (*Mean Square Error - MSE*) na ANOVA. O desvio padrão do erro experimental é comumente utilizado para medir o efeito aleatório do experimento, uma vez que ao contrário da variância, este apresenta uma medida padronizada. O desvio padrão é obtido por meio da raiz do quadrado médio do erro (*Root Mean Square Error - RMSE*).

Para padronizar os valores obtidos neste estudo de forma que pudessem ser realizadas comparações com outros estudos, os quais tenham utilizado escalas de avaliação de tamanhos diferentes, a raiz do quadrado médio do erro de cada medida foi dividida pelo comprimento da escala, obtendo o RMSEL (*Root Mean Square Error Length*), conforme recomendado por Hough et al. (2006). Assim, se um RMSE de 1,8 foi obtido utilizando uma escala de 9 cm, o valor do RMSEL será $1,8/9 = 0,20$. O RMSEL foi obtido para 10.000 sub-grupos dentro de cada k número de julgadores. Os valores foram armazenados e foi verificado se estes atendiam ao requisito definido para este critério.

II) Significância do efeito de tratamento

A significância do efeito de tratamento foi verificada por meio do p-valor do $F_{\text{FORMULAÇÕES}}$ na ANOVA com dois fatores. O p-valor indica a probabilidade exata de se rejeitar a hipótese de nulidade (igualdade) sendo esta verdadeira, ou seja, a probabilidade de se detectar diferença entre as amostras sendo que estas são estatisticamente semelhantes, dado o modelo assumido. Quanto menor este valor, menor é o risco de errar ao concluir que as amostras apresentam diferença, portanto, maior é a probabilidade destas serem diferentes entre si (Montgomery, 2001). Foram realizadas ANOVAs para 10.000 sub-grupos dentro de cada k número de julgadores no software R, sendo os p-valores do $F_{\text{FORMULAÇÕES}}$ armazenados e posteriormente comparados com o requisito definido neste estudo.

III) Similaridade dos mapas sensoriais

O mapa sensorial pode ser obtido por diferentes análises estatísticas multivariadas, tais como a Análise de Componentes Principais (ACP) e representam de forma gráfica o perfil sensorial dos produtos caracterizados pelo painel sensorial (Meilgaard et al., 2006). A comparação entre duas configurações espaciais pode ser realizada pela Análise de Procrustes Generalizada (APG), obtendo-se o coeficiente de correlação multivariado RV (Robert & Escoufier, 1973). Este coeficiente mede a concordância entre duas ou mais configurações espaciais e varia de 0 (discordância total entre as configurações) a 1 (concordância perfeita). A configuração espacial de cada um dos 10.000 sub-grupos formados dentro de cada k número de julgadores foi comparada com a configuração espacial do painel completo, um a um. O coeficiente RV foi calculado no software R, armazenado e comparado com a regra de decisão descrita abaixo.

2.3.3. Critérios de decisão

Para cada k número de julgadores, dez mil valores foram obtidos por critério, correspondendo a 10.000 simulações. Para cada critério, foi definida uma regra decisória para determinar o número ideal de julgadores na equipe do PDO, sendo:

(i) *Estimativa do erro experimental*: não mais que 10% dos sub-grupos com valores de RMSEL superior ao “ponto de corte” (PC = 0,1811). Este “ponto de corte” foi considerado como sendo o Percentil 90 da distribuição de RMSEL apresentada em Silva et al. (2013b). A distribuição de RMSEL considerada foi obtida por meio de uma revisão de literatura, onde foram coletados 574 valores de RMSEL de estudo prévios de descrição de alimentos utilizando a técnica tradicional “Perfil Convencional”.

(ii) *Significância do efeito de tratamento*: não mais que 10% dos sub-grupos com significância do efeito de tratamento em discordância do grupo completo. Por exemplo: sendo que para o atributo X foi verificado efeito significativo de tratamento ($p < 0,0001$) no grupo completo, então, no máximo 10% dos sub-grupos, para k julgadores, podem apresentar efeito não significativo, ao mesmo nível de probabilidade.

(iii) *Similaridades dos mapas sensoriais*: não mais que 10% dos sub-grupos com coeficiente RV abaixo de 0,90. O coeficiente RV foi calculado pela comparação realizada entre os mapas sensoriais obtidos por cada sub-grupo com k julgadores e pelo grupo completo.

3.RESULTADOS

3.1. Critério I: estimativa do erro experimental

No critério de comparação da estimativa do erro experimental obtido nos sub-grupos com o valor de referência da literatura (“ponto de corte”), foi verificado que o painel com 16 julgadores apresentou atendimento ao critério estabelecido considerando os dois produtos e os diferentes atributos (Tabela 2). Assim, para N igual a 16 avaliadores, pelo menos 90% dos sub-grupos formados apresentaram estimativa do RMSEL inferior ou igual ao erro obtido pelo método convencional “Perfil Convencional”. O valor do erro estabelecido como “ponto de corte” apresenta 90% de probabilidade de ocorrência em estudos descritivos, representando a variabilidade global de estudos prévios de descrição sensorial.

Verificou-se diferença na necessidade do número de julgadores em relação aos produtos e aos atributos avaliados. Enquanto que para o atributo “cor marrom” (Cm) do chocolate foram necessários 16 julgadores para atender ao critério estabelecido, para o atributo “cor rosa” (Cr) somente 2 julgadores foram necessários. A variação existente entre as repetições das avaliações podem apresentar amplitudes diferentes conforme o produto e o atributo, além do que o indivíduo também pode apresentar diferença nesta variabilidade (King et al., 1995; Stone & Sidel, 2012). Na técnica de avaliação do PDO, os julgadores apresentam baixo nível de treinamento, o que pode acarretar em maior variabilidade interna e, portanto, maior variância aleatória no experimento. Desta forma, como os julgadores podem apresentar níveis diferentes de variabilidade, a inclusão aleatória de um julgador com maior variabilidade residual, acarreta em aumento da variância conjunta do grupo.

3.2. Critério II: significância do efeito de tratamento

O efeito de tratamento no grupo completo apresentou significância ao nível inferior a 0,0001 de probabilidade para todos os atributos sensoriais, considerando os dois produtos em teste. Portanto, para atendimento ao critério estabelecido, pelo menos 90% dos sub-grupos, considerando um determinado tamanho de painel, também devem apresentar o efeito de formulações significativo ($p < 0,0001$). Foi verificado que, para todos os atributos, os painéis constituídos por somente quatro julgadores atenderam o critério estabelecido para a significância do efeito de tratamentos (Tabela 3).

A significância do efeito de tratamento indica que pelos menos um contraste entre médias difere estatisticamente de zero, ou seja, pelo menos um dos tratamentos difere dos demais, em termos médios. Portanto, esta comparação pode ser realizada entre as duas formulações mais distantes entre si, o que facilitaria a obtenção de efeito significativo.

Verifica-se que para 16 julgadores (recomendação obtida pelo critério I), todos os 10.000 sub-grupos simulados apresentaram concordância com o grupo completo para o critério de significância do efeito de tratamento. Isto ressalta a importância da avaliação conjunta dos critérios.

3.3. Critério III: similaridades dos mapas sensoriais

Na comparação dos mapas sensoriais obtidos por cada um dos sub-grupos compostos por k número de julgadores e pelo painel completo, verificou-se que a avaliação de somente de dois julgadores na equipe sensorial já permitiu a obtenção de uma configuração espacial muito semelhante à configuração obtida pelo painel completo, apresentando coeficiente RV superior a 0,90 (Tabela 4).

Na GPA, as configurações individuais (painel com k número de julgadores e painel completo) são submetidas a três tipos de transformações (escalamento, rotação e translação), na obtenção da configuração de consenso. Após a realização das transformações necessárias, é medida a distância entre as configurações individuais e a de consenso para o cálculo do coeficiente RV (Dijksterhuis, 1996). Neste processo, são avaliadas as configurações das amostras para verificar semelhança entre os mapas sensoriais, não sendo avaliada a magnitude dos escores atribuídos (Dijksterhuis, 1996). Mapas similares indicam que os julgadores estão avaliando as amostras de forma consensual, sendo atribuídos perfis sensoriais semelhantes a cada um dos produtos pelos diferentes julgadores. Portanto, sub-grupos com apenas dois julgadores apresentaram a mesma configuração do que a equipe completa, mostrando que os julgadores apresentaram consenso nas avaliações. Portanto, apenas grandes desvios entre estas configurações são normalmente detectados por meio deste coeficiente. Isto ressalta a importância da avaliação de mais de um critério para determinação do número ideal de julgadores, pois uma única medida pode acarretar na perda de informações importantes sobre a variação dos dados.

4. CONCLUSÃO

A recomendação do número de julgadores no PDO variou de acordo com os requisitos considerados, sendo que para o atendimento da estimativa do erro experimental similarmente ao método convencional, dezesseis julgadores foram necessários. Em contrapartida, para a obtenção do efeito significativo das formulações semelhantemente à significância encontrada no painel completo, somente quatro julgadores na equipe já atenderam ao requisito estabelecido.

O critério da magnitude da estimativa do erro experimental se mostrou como uma medida mais robusta na determinação do número de julgadores necessários para a técnica PDO. Como esta técnica descritiva requer baixo nível de treinamento dos julgadores, a avaliação deste critério é de extrema importância, pois uma variação aleatória residual maior pode ser normalmente observada. A utilização de um limite (“ponte de corte”) global para este critério também se mostrou interessante, uma vez que foi verificada que as duas matrizes alimentares avaliadas apresentaram recomendações de número de julgadores diferentes.

A diferença na recomendação do número de julgadores verificada quando considerados os diferentes critérios avaliados neste estudo, ressalta a importância da avaliação de mais de um critério para determinação do número ideal de julgadores.

Para o atendimento ao critério da magnitude do erro experimental, dezesseis julgadores devem compor a equipe sensorial. Os critérios de significância dos tratamentos e mapeamento sensorial também foram atendidos plenamente quando este número de avaliadores foi utilizado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Brandt, M. A., Skinner, E. Z., & Coleman, J. A. (1963). Texture profile method. *Journal of Food Science*, 28, 404–409.
- Cairncross, S. E., & Sjostrom, L. B. (1950). Flavour profiles: a new approach to flavor problems. *Food Technology*, 4, 308–311.
- Dijksterhuis, G. (1996). Procrustes analysis in sensory research. In: *Multivariate Analysis of Data in Sensory Science*. Ed. by T. Nces and E. Risvik. Elsevier Science B.V.
- Gacula, M., Rutenbeck, S. (2006). Sample size in consumer test and descriptive analysis. *Journal of Sensory Studies*, 21, 129-145.
- Heymann, H., Machado, B., Torri, L., & Robinson, A.L. (2012). How many judges should one use for sensory descriptive analysis? *Journal of Sensory Studies*, 27, 111-122.
- Hough, G., Wakeling, I., Mucci, A., Chambers, E., Gallardo, I.M., & Alves, L.R. (2006). Number of consumers necessary for sensory acceptability tests. *Food Quality and Preference*, 17, 522-526.
- King, B.M., Arents, P., & Moreau, N. (1995). Cost / Efficiency evaluation of descriptive analysis panels – I. Panel size. *Journal of Sensory Studies*, 6, 245-261.
- Meilgaard, M.C, Civille, G.V., & Carr, B.T. (2006). *Sensory Evaluation Techniques*. (4th ed.). Boca Raton: CRC Press.
- Montgomery, D.C. (2001). *Design and analysis of experiments*. (5th Ed.). New York: John Wiley and Sons. p.699.
- Pagès, J., & Périnel, E. (2003). Panel performance and number of evaluations in a descriptive sensory study. *Journal of Sensory Studies*, 19, 273-291.

R Development Core Team (2005). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, <<http://www.R-project.org>>.

Robert, P., & Escoufier, Y. (1976). A unifying tool for linear multivariate statistical methods: The ‘RV’ coefficient. *Applied Statistics*, 25(3), 257–265.

Silva, R.C.S.N., Minim, V.P.R., Simiqueli, A.A., Moraes, L.E.S., Gomide, A.I., Minim, L.A. (2012). Optimized Descriptive Profile: a rapid methodology for sensory description. *Food Quality and Preference*, 24, 190-200.

Silva, R.C.S.N., Minim, V.P.R., Carneiro, J.D.S., Nascimento, M., Della Lucia, S.M., Minim, L.A. (2013a). Quantitative sensory description using the Optimized Descriptive Profile: comparison with conventional and alternative methods for evaluation of chocolate. *Food Quality and Preference*, 30, 169-179.

Silva, R.C.S.N., Minim, V.P.R., Silva, A.N., Minim, L.A. (2013b). Number of judges necessary for descriptive sensory tests. *Food Quality and Preference*, 31, 22-27.

Stone, H., & Sidel, J.L. (1985). *Sensory evaluation practices*. (1st ed.) New York: Academic.

Stone, H., & Sidel, J.L. (2012). *Sensory evaluation practices*. (4th ed.) New York: Academic.

TABELAS

Tabela 1. Atributos sensoriais descritores das formulações-teste.

Experimento A – Iogurte	Experimento B – Chocolates
Cor rosa (Cr)	Cor marrom (Cm)
Gosto doce (Gd-iog)	Aroma de massa de cacau (Amc)
Sabor de morango (Sm)	Gosto doce (Gd-choc)
Sabor de creme (Sc)	Gosto amargo residual (Gar)
Creiosidade (Cr)	Sabor de massa de cacau (Smc)
Viscosidade (Vis)	Dureza (Dur)
Resistência ao escoamento (Re)	Espalhabilidade (Esp)
Textura Farinácea (Tf)	

Tabela 2. Percentual de atendimento dos sub-grupos ao critério da estimativa do erro experimental.

Produtos / Atributos	Tamanho do painel (<i>k</i>)										
	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22
Iogurte											
Cr	0,941	0,992	0,999	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Gd-iog	0,937	0,988	0,998	0,999	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Sm	0,895	0,965	0,990	0,998	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Sc	0,744	0,747	0,801	0,833	0,874	0,896	0,926	0,937	0,962	0,973	0,986
Cr	0,952	0,962	0,996	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Vis	0,873	0,878	0,855	0,862	0,924	0,953	0,987	0,999	1,000	1,000	1,000
Re	0,991	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Tf	0,929	0,985	0,998	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Chocolate											
Cm	0,786	0,774	0,735	0,701	0,740	0,780	0,845	0,902	1,000	1,000	1,000
Amc	0,810	0,870	0,929	0,965	0,986	0,999	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Gd-choc	0,758	0,741	0,746	0,778	0,816	0,860	0,895	0,9443	0,986	1,000	1,000
Gar	0,850	0,898	0,945	0,981	0,997	0,999	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Smc	0,993	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Dur	0,864	0,896	0,953	0,985	0,998	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Esp	0,893	0,915	0,973	0,997	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Valores em negrito: menor painel com atendimento ao critério I

Tabela 3. Percentual de atendimento dos sub-grupos ao critério de significância do efeito de tratamento.

Produtos / Atributos	Tamanho do painel (<i>k</i>)										
	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22
Iogurte											
Cr	0,925	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Gd-iog	0,885	0,980	0,996	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Sm	0,951	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Sc	0,778	0,923	0,981	0,995	0,999	0,999	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Cr	0,960	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Vis	0,930	0,997	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Re	0,999	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Tf	0,993	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Chocolate											
Cm	0,888	0,999	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Amc	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Gd-choc	0,895	0,999	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Gar	0,988	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Smc	0,687	0,910	0,975	0,998	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Dur	0,997	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Esp	0,990	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Valores em negrito: menor painel com atendimento ao critério II

Tabela 4. Percentual de atendimento dos sub-grupos ao critério de similaridade do mapas sensoriais.

Produtos	Tamanho do painel (<i>k</i>)										
	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22
Iogurte	0,925	0,959	0,992	0,999	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Chocolate	0,914	0,937	0,982	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Valores em negrito: menor painel com atendimento ao critério III

EFEITO DA ADIÇÃO DE CURCUMINA E DA TEMPERATURA DE SECAGEM NAS PROPRIEDADES DOS FILMES DE DOIS TIPOS DE GELATINA

Correa, M. C., Beloti, Luiz G. M., Maniglia, B.C., Tapia-Blácido, D.

Departamento de Química, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto-SP, Brazil. CEP: 14040-90. E-mail: biancamaniglia@gmail.com, delia@ffclrp.usp.br

1.INTRODUÇÃO

Atualmente, existe uma grande preocupação pelo aumento no consumo de polímeros sintéticos para fabricação de embalagem devido à longevidade desse material quando descartado, já que o plástico leva em média 100 anos para se decompor no ambiente. Esta preocupação tem motivado pesquisas na busca de alternativas aos polímeros sintéticos, assim muitos biopolímeros têm sido pesquisados para este fim, tais como polissacarídeos e proteínas.

Os filmes a base de proteínas tem-se mostrado mais atraentes à medida que a matriz formada é de grande coesão e continuidade, o que o torna uma boa barreira a gases, bem como apresenta melhores propriedades mecânicas em comparação a filmes de polissacarídeos e lipídeos. Uma das proteínas mais utilizadas nesse aspecto é a gelatina. A gelatina é extraída de ossos, tendões, cartilagens e pele do animal. O constituinte principal da gelatina é o colágeno, uma proteína fibrilar. Sendo o colágeno seu principal constituinte sua estrutura química é análoga. É formado por uma sequência de aminoácidos que é geralmente uma repetição de uma unidade tripeptídica, Gly-X-Pro ou Gly-X-HyPro (Gly- Glicina, Pro-Prolina, HyPro- Hidroxiprolina), em que X pode ser qualquer resíduo de aminoácido. Essas repetições formam uma α -cadeia, espiralada em forma de hélice. A força de formação do gel é chamada de bloom, que é a força necessária para penetrar quatro mm na superfície do gel (AOAC, 1984). A gelatina apresenta excelente capacidade de formação de filme, boa propriedade de barreira ao oxigênio, boa transparência e extensibilidade (Avenna-Bustillos et al., 2006; Badii et al., 2006, Grosso et al., 2012; Sobral et al., 2011). A adição de substâncias antioxidantes e antimicrobianas aos filmes de gelatina aumenta as propriedades funcionais destes filmes providenciando uma embalagem ativa. Filmes de gelatina adicionados de extrato de murta, extrato de orégano, alecrim, quitosana, extrato de chá verde e lignina podem ser encontrados na literatura (Gómez-Guillén et al., 2007, Gómez-Estaca et al., 2007, Núñez-Flores et al., 2013, Wu et al., 2013).

A cúrcuma é o rizoma limpo, em boas condições, seco e moído da *Cúrcuma longa* L., uma planta herbácea da família *Zingiberaceae*, originária do sul da Índia e muito cultivada na China, Kuwait, Índia, Indonésia e Sri Lanka. A *Cúrcuma longa* L., é cobiçada pelas indústrias química e alimentícia, graças à possibilidade de aplicação de seu extrato como corante natural (Babu et al., 2007). Através da cúrcuma têm-se disponível, atualmente, três produtos comerciais: o pó de cúrcuma, a oleoresina de cúrcuma e o extrato de curcumina (Santos & Oliveira, 1991). Os curcuminóides: curcumina, demetoxicurcumina (17%) e bisdemetoxicurcumina (3%) estão presentes no extrato obtido por extração soxhlet. Estes curcuminóides apresentam propriedades antioxidantes, antimicrobianas e anti-inflamatórias (Pisano, 2010).

Este trabalho tem como objetivo avaliar o efeito da adição do extrato de cúrcuma obtido por extração soxhlet utilizando etanol:isopropanol como solvente, e a temperatura de secagem nas propriedades mecânicas, solubilidade, permeabilidade ao vapor de água, assim como na atividade antioxidante dos filmes de gelatina de 180 e 240 bloom.

2.MATERIAIS E MÉTODOS

2.1.Materiais

A gelatina utilizada neste trabalho foi da marca Gelita do Brasil. Foram utilizadas dois tipos de gelatina bovina: 180 e 240 bloom. Os rizomas de cúrcuma (*Curcuma longa* L.) foram fornecidos pela indústria Ervas e Flores (Campinas, SP). O solvente utilizado para a extração de corante de cúrcuma foi uma proporção de 1:1 de etanol:isopropanol. Foi utilizado um extrator de óleos e graxas (marca Marconi, modelo MA-491). O glicerol utilizado como plastificante foi da marca Sigma-Aldrich.

2.2.. Produção dos filmes de gelatina adicionados de curcumina

Os filmes foram preparados pelo método *casting* a partir de uma suspensão em água de 4% de gelatina. Para dissolver a gelatina na água, foi realizado um aquecimento a 55°C por 15 min. Depois da completa dissolução da gelatina foi adicionada duas concentrações de extrato de cúrcuma (0,5 e 1,0 g/100 g de gelatina), seguido de homogeneização no Dispensor Extratur (Quimis, Q256-58) por dois minutos a 7000 rpm. A suspensão formada foi aquecida a 65 °C por mais 30 minutos, sendo adicionado o glicerol (20 g glicerol/100 g de gelatina) dentro desse intervalo de tempo. Em seguida essa suspensão filmogênica foi depositada em placas de acrílico, mantendo-se a gramatura de 0,2116 g/cm², depois colocadas em estufa de temperatura controlada (SOLAB – SL – 200/364U) para a secagem. Os filmes foram secos a

duas temperaturas: 28°C e 50°C. Também foram produzidos filmes controle, isto é sem adição de extrato de cúrcuma ou curcumina.

2.3. Caracterização dos filmes

A espessura dos filmes pré-acondicionados (58% UR, 25 °C) foi avaliada através da espessura média resultante de 10 medições em posições aleatórias, por meio de micrômetro digital Zaas- Precision de ponta plana (com resolução de 1 µm). O teste mecânico de tração dos filmes foi realizado em um Texturômetro TA. TX Plus (TA Instrument). A tensão e a alongação na ruptura em teste de tração foram determinadas segundo a norma ASTM D 882-95 (ASTM, 1995). A tensão (T) e alongação (E) na ruptura foram obtidas da curva de tensão versus alongação e o módulo de elasticidade, ou módulo de Young (MY) foi obtido como a inclinação da curva no intervalo linear. A solubilidade foi medida segundo a metodologia proposta por Gontard et al. (1992). A permeabilidade ao vapor de água foi determinada segundo o método padrão modificada ASTM E 96-80 (ASTM, 1989). A umidade dos filmes foi determinada segundo a técnica da ASTM D644-94 (ASTM, 1994).

2.4. Análise da atividade antioxidante por DPPH

Para a determinação da atividade antioxidante por DPPH foi separado 500µL de sobrenadante (filme/metanol) e adicionou-se 2mL de solução metanólica de DPPH (0,06mM). A mistura foi agitada por 30 minutos a temperatura ambiente e protegida da luz. O DPPH remanescente foi determinado por absorbância a 517nm usando espectrofotômetro. O controle usado foi 500µL de solução metanólica de DPPH (0,06mM). A atividade antioxidante dos filmes foi calculada de acordo com a equação 1:

$$\% \text{ RSA: } 100 \times (1 - A_{\text{amostra}}/A_{\text{controle}}) \quad (1)$$

O resultado foi expresso em porcentagem de atividade antioxidante do DPPH/100mg de filme (Marins et al., 2012).

2.5. Análise estatística

Para avaliar o efeito da adição de curcumina e da temperatura de secagem nas propriedades mecânicas, solubilidade e permeabilidade ao vapor de água dos filmes de gelatina de 180 e 240 bloom foi realizado o teste de Tukey a 95% de nível de confiança.

3.RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os filmes de gelatina adicionados de extrato de cúrcuma ou curcumina apresentaram boa aparência, transparência, cor amarelada devido à presença de curcumina e espessura em média de $87 \pm 3 \mu\text{m}$.

3.1. Propriedades mecânicas dos filmes de gelatina adicionados de curcumina

Na Tabela 1 estão apresentados os valores de tensão, alongação e módulo de Young dos filmes de gelatina de 180 bloom adicionados de curcumina em duas concentrações (0,5 e 1 g de curcumina/100 g gelatina) e secos a duas temperaturas (28 e 50°C). As propriedades mecânicas do filme sem adição de curcumina também foram medidas e os resultados são apresentados nesta tabela.

Observa-se que a adição de curcumina afetou a tensão na ruptura dos filmes de gelatina, sendo que em filmes secos a 28°C, maior concentração de curcumina diminuiu a tensão do filme de gelatina, e quando secos a 50°C aumentou a tensão do filme quando comparado com o filme controle (sem curcumina). Comportamento semelhante foi observado para o módulo de Young, isto é, a rigidez e resistência do filme foram afetadas pela adição de curcumina e pela temperatura de secagem. Quando os filmes foram secos a 28°C, o valor de módulo de Young diminuiu com o aumento da concentração de curcumina, mas quando a temperatura de secagem aumenta a 50°C, o módulo de Young aumenta com o aumento da concentração de curcumina. Na Tabela 1 também pode ser observado que em alta concentração de curcumina (1%), os valores de tensão e módulo de Young foram maiores para os filmes secos a 50°C. Um comportamento inverso foi observado para os valores de alongação na ruptura nestas condições. Filmes mais alongáveis foram obtidos em baixa concentração de curcumina e alta temperatura de secagem.

Tabela 1. Propriedades mecânicas dos filmes de gelatina 180 bloom adicionados de curcumina

%C	Tensão (MPa)		Alongação (%)		Módulo de Young (MPa)	
	28°C	50°C	28°C	50°C	28°C	50°C
0	26,8± 3,6bA	10,5±0,1bB	17,6±3,5bB	59,4±1,0aA	844,2±104,8bA	197,2±17,6bB
0,5	57,2±1,0aA	9,5±0,0bB	7,7±3,4cB	69,2±3,0bA	2493,0±170,0aA	216,4 ± 13,8bB
1,0	14,3±3,8cB	30,1±2,2aA	32,9±1,7aA	2,3± 0,3cB	312,3±52,4cB	1482,0±135aA

*Letras minúsculas correspondem à comparação entre filas e letras maiúsculas correspondem à comparação entre colunas, segundo o teste de Tukey ($p < 0,05$).

Por outro lado, em filmes de gelatina de 240 bloom não foi observada diferença significativa nos valores de tensão na ruptura e módulo de Young entre os filmes com

diferente concentração de curcuminan (Tabela 2). Por tanto, a adição de curcumina não afetou a resistência dos filmes de gelatina de 240 bloom. Nos valores de alongação foi observada diferença significativa quando os filmes foram secos a 50°C. Nestes filmes, maior concentração de curcumina aumentou a alongação do filme de gelatina.

Quando avaliado o efeito da temperatura de secagem nas propriedades mecânicas dos filmes de gelatina adicionados de curcumina foi observado que a tensão e módulo de Young foram maiores para os filmes secos a 28°C em alta concentração de curcumina. Um comportamento contrário em relação à temperatura de secagem foi observado nos filmes de gelatina de 180 bloom. Entretanto, filmes mais alongáveis foram obtidos a maior temperatura de secagem e maior concentração de curcumina.

Tabela 2. Propriedades mecânicas dos filmes de gelatina 240 bloom adicionados de curcumina

%C	Tensão (MPa)		Elongação (%)		Módulo de Young (MPa)	
	28°C	50°C	28°C	50°C	28°C	50°C
0	71,7±0,4aA	63,7±12,4aA	2,3±0,28aA	2,8±0,2bA	3324,1±497,2aA	2851,7±514,2aA
0,5	66,8±12,3aA	64,9±13,8aA	1,9±0,82aB	3,5±0,2bA	3217,0±367,0aA	2569,5±494,5aA
1,0	87,2±16,9aA	51,6±5,2aB	2,5±0,36aB	6,4±1,2aA	3710,3±545,2aA	2580,1±162,6aB

*Letras minúsculas correspondem à comparação entre filas e letras maiúsculas correspondem à comparação entre colunas, segundo o teste de Tukey (p<0,05).

3.2. Solubilidade, umidade e PVA dos filmes de gelatina adicionados de curcumina

Os valores de solubilidade em água, umidade e permeabilidade ao vapor de água dos filmes de gelatina de 180 bloom adicionados de curcumina e secos a 28 e 50°C são mostrados na Tabela 3. Em filmes secos a 28°C, segundo o teste de Tukey (p<0,05) foi observado diferença significativa para a solubilidade, umidade e permeabilidade ao vapor de água entre os filmes com diferente concentração de curcumina e o filme controle. Assim, os filmes secos nesta temperatura e adicionados de 1% de curcumina foram menos solúveis, menos úmidos e menos permeáveis ao vapor de água do que os filmes controle. Por outro lado, o efeito da temperatura de secagem na solubilidade em água, umidade e permeabilidade ao vapor de água foi mais evidente nos filmes controle. Assim, filmes menos solúveis, menos úmidos e menos permeáveis ao vapor de água foram obtidos em maior temperatura de secagem. Em filmes de gelatina com curcumina foi observado que a temperatura de secagem só teve efeito significativo na solubilidade do filme.

Tabela 3. Solubilidade, umidade e permeabilidade ao vapor de água (PVA) dos filmes de gelatina 180 bloom adicionados de curcumina

%C	Solubilidade (%)		Umidade (%)		PVAx10 ⁻¹⁰ (g/m.s.Pa)	
	28°C	50°C	28°C	50°C	28°C	50°C
0	87,3±0,5bA	75,8±5,1aB	14,4±1,0aA	7,3±1,9aB	1,1±0,0aA	0,9±0,1aB
0,5	99,5±0,2aA	74,5±3,2aB	9,0±0,5bA	8,3±0,8aA	1,3±0,0aA	1,4± 0,3aA
1,0	50,3±3,5cB	67,2±1,4aA	6,5±2,5bA	5,3±0,1aA	0,6± 0,3bA	0,5±0,0bA

*Letras minúsculas correspondem à comparação entre filas e letras maiúsculas correspondem à comparação entre colunas, segundo o teste de Tukey (p<0,05).

Em filmes de gelatina de 240 bloom não foi observado efeito significativo da concentração de curcumina nos valores de solubilidade dos filmes secos a 28 e 50°C segundo o teste de Tukey (p>0,05). Por outro lado, para os valores de umidade e permeabilidade ao vapor de água foi observada diferença significativa entre os filmes com curcumina e o filme controle. O teste de Tukey também demonstrou que a temperatura de secagem afetou a solubilidade, umidade e permeabilidade dos filmes de gelatina de 240 bloom adicionados de curcumina. Na maioria dos casos, um aumento na temperatura de secagem provocou uma diminuição da umidade e permeabilidade ao vapor de água dos filmes. Entretanto, um comportamento diferente foi observado nos valores de solubilidade dos filmes. Os filmes foram mais solúveis quando secos a maior temperatura.

Tabela 4. Solubilidade, umidade e permeabilidade ao vapor de água (PVA) dos filmes de gelatina 240 bloom adicionados de curcumina

%C	Solubilidade (%)		Umidade (%)		PVAx10 ⁻¹⁰ (g/m.s.Pa)	
	28°C	50°C	28°C	50°C	28°C	50°C
0	74,0±5,5aB	86,6±0,7aA	16,5±1,9aA	7,8±0,4bB	6,8±0,2aA	0,5±0,1aB
0,5	84,6±2,0aA	91,2±4,0aA	11,2±0,4bA	7,8±0,2bB	0,5±0,1bA	0,5±0,1aA
1,0	71,4 ± 3,7aB	91,0 ± 1,0aA	12,3±0,3bA	9,7±0,7aB	0,6±0,1bA	0,4±0,0aB

*Letras minúsculas correspondem à comparação entre filas e letras maiúsculas correspondem à comparação entre colunas, segundo o teste de Tukey (p<0,05).

3.3. Atividade antioxidante dos filmes

O efeito da adição de curcumina e da temperatura de secagem sobre a atividade antioxidante dos filmes de gelatina pode ser evidenciado na Figura 1. A adição de curcumina permitiu obter filmes com atividade antioxidante, sendo maiores nos filmes com 1% de curcumina para ambos os tipos de gelatina. Entretanto, foi observado um aumento na temperatura de secagem diminui a atividade antioxidante do filme devido possivelmente a uma degradação ou volatilização dos curcuminóides a maior temperatura.

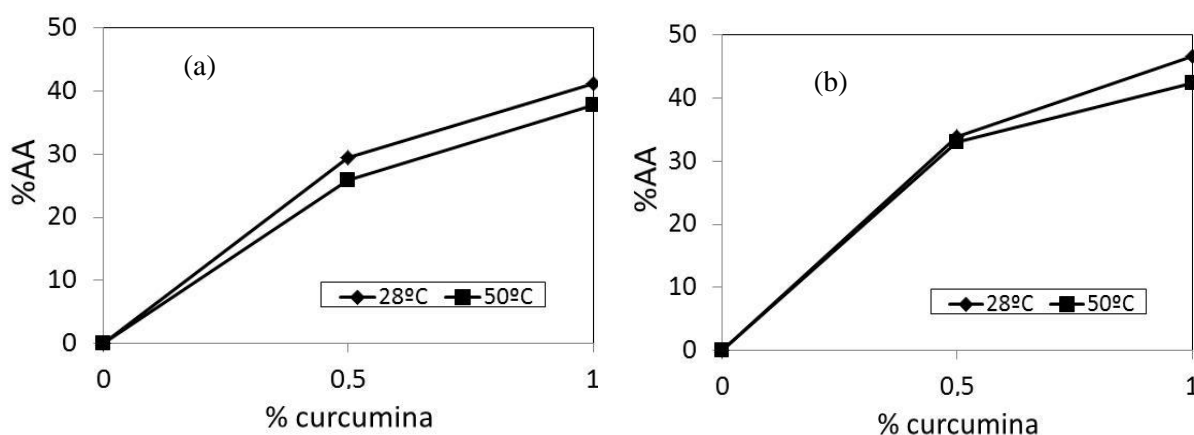


Figura 1. Atividade antioxidante por DPPH dos filmes de gelatina adicionados de curcumina e secos a duas temperaturas. (a)180 bloom, (b)240 bloom

4. CONCLUSÕES

O extrato de cúrcuma ou curcumina apresenta potencial como aditivo em filmes de gelatina de 180 e 240 bloom, pois melhora as propriedades funcionais e ativas destes filmes. A adição de curcumina forneceu propriedades antioxidantes aos filmes de gelatina, a qual deve ser preservada secando os filmes em menor temperatura. Filmes de gelatina aditivados com curcumina foram menos solúveis, menos úmidos e menos permeáveis ao vapor de água. As propriedades mecânicas também foram afetadas pela adição de cúrcuma e pela temperatura de secagem, sendo este efeito diferente para os dois tipos de gelatina.

5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC. Williams, S. (ED.) Official Methods of Analysis, 14 ed.. Arlington, Virginia: Association of Official Analytical Chemists. P. 429. 1984.

ASTM. Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting. In: Annual book of American Standard Testing Methods. D882-95. Philadelphia, Pa.: ASTM, 1995.

- ASTM. Standard test method of water vapor transmission of materials. In: Annual book of American Standard Testing Methods. E96-95. Philadelphia, Pa.: ASTM,1995.
- ASTM. Standard test methods for moisture content of paper and paperboard by oven drying. Method D644-94. In Annual Book of ASTM Standards, American Society for Testing and Materials: Philadelphia, 1994.
- Avena-Bustillos, R. J., Olsen, C.W., Olson, D.A., Chiou, B., Yee, E., Bechtel, P.J. E Mchugh, T.H.. Water Vapor Permeability of Mammalian and Fish Gelatin Films. Food Engineering and Physical Properties. Journal of food science v. 71 (4), 2006.
- Babu, K.G.D.; Shanmugam, V.; Ravindranath, S.D.; Joshi, V.P. Comparison of chemical composition and antifungal activity of *Curcuma longa* L. leaf oils produced by different water distillation techniques. Flavour and Fragrance Journal, v. 22, p. 191-196, 2007.
- Badii, F., Howell, N. K..Fish gelatin: structure, gelling properties and interaction with egg albumen proteins. Food Hydrocolloids V. 20 P.630-640, 2006.
- Gontard, N.; Guilbert, S.; Cuq, J. L. Journal of Food Science, 57, 1, p. 190-195, 1992.
- Grosso, C. R. F., Andreuccetti, C.; Carvalho, R. A.; Galicia-Garcia, T.; Martinez-Bustos, F.; Gonzalez-Nunez, R. Functional properties of gelatin-based films containing *Yucca schidigera* extract produced via casting, extrusion and blown extrusion processes: A preliminary study. Journal of Food Engineering, v 113(1) p. 33-40, 2012.
- Gómez-Estaca, J.; Montero, P.; Gimenez, B.; Gómez-Guillén, M.C. Effect of functional edible films and high pressure processing on microbial and oxidative spoilage in cold-smoked sardine (*Sardina pilchardus*). Food Chemistry, v. 105, p.511-520, 2007.
- Gómez-Guillén, M.C.; Ihl, M.; Bifani, V.; Silva, A.; Montero, P. Edible films made from tuna-fish gelatin with antioxidant extracts of two different murta ecotypes leaves (*Ugni molinae* Turcz). Food Hydrocolloids, v. 21, p. 1133-1143, 2007.
- Núñez-Flores, R., Giménez, B., Fernández-Martín, F., López-Caballero, M.E., Montero, M.P., Gómez-Guillén, M.C. Physical and functional characterization of active fish gelatin films incorporated with lignin. Food Hydrocolloids, v.30, p. 163 - 172, 2013.
- Pisano, Pagnan G., Dettori M. A., Cossu S., Caffa I., Sassu L., Emionite L., D. Fabbri, Cilli M., Patorino F., Palimieri G., Delogu G., Ponzoni M., Rozzo C. Research Enhanced anti-tumor activity of a new curcumin-related compound against melanoma and neuroblastoma cells et al. Molecular Cancer, p. 9-137, 2010.
- Santos, A.B.; Oliveira, S.P. Utilização de açafrão (*Curcuma longa* L.) como corante natural para alimentos. Boletim da SBCTA, Campinas, v.2, n. 25, p. 90, 1991.
- Sobral, P.A, Alves, P.M.A., Carvalho, R. A., Moraes, I.C.F., Luciano, C.G., Bittante, A.M.Q.B. Development of films based on blends of gelatin and poly(vinyl alcohol) cross linked with glutaraldehyde. Food Hydrocolloids, v. 25, p. 1751-1757, 2011.
- WU, J., Chen, S., Ge, S., Miao, J., Li, J., Zhang, Q. Preparation, properties and antioxidant activity of an active film from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) skin gelatin incorporated with green tea extract. Food Hydrocolloids, v. 32, p. 42-51, 2013.

DESARROLLO DE PELICULAS COMPUESTAS CON CAPACIDAD DE ADSORCION DE ETILENO A BASE DE PEBD Y ZEOLITA NATURAL MODIFICADA

A. Coloma; M. J. Galotto; A. Guarda; F. Rodríguez; C. Pizarro; J. Bruna

Centro para el Desarrollo de la Nanociencia y la Nanotecnología (CEDENNA).
Laboratorio de Envases. Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos.
Universidad de Santiago de Chile. Obispo Umaña 050. Estación Central. Santiago. Email:
alejandro.coloma@usach.cl

1. INTRODUCCIÓN

El envasado en atmósfera modificada es en la actualidad la tecnología de conservación más ampliamente utilizada para la comercialización de frutas y hortalizas en fresco, ya que contribuye a la reducción de la velocidad de respiración y de la actividad metabólica (Catalá et al., 2007). Sin embargo, la acumulación de etileno en el interior de los envases sigue siendo un problema, debido a que acelera los procesos de maduración y senescencia de los frutos y reduce la vida útil, por lo tanto deben ser removidos. El envasado activo constituye una de las alternativas para evitar la acumulación de etileno. Esta tecnología consiste en la incorporación de un agente activo que sea capaz de adsorber el etileno.

Los agentes activos más utilizados son permanganato de potasio (KMnO_4), carbón activado y algunos minerales (arcillas y zeolitas). El KMnO_4 es el más utilizado por ser más eficaz y comercialmente accesible, sin embargo tiene limitación por ser soluble en agua y podría contaminar los alimentos (Sue-aok et al., 2010). Por otro lado el carbón activado adsorbe todos los gases y no es selectivo para adsorción de etileno (Patdhanagul et al., 2010). Otros materiales que son químicamente estables y han recibido mucha atención son las zeolitas. La zeolita en forma natural tiene baja capacidad de adsorción, por lo que varios autores manifiestan que es posible aumentar la capacidad de adsorción con la modificación con iones tales como K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Li^+ , Cu^+ , La^+ , Rb^+ , Cs^+ (Anson et al., 2008; Erdoğan et al., 2008; Patdhanagul et al., 2012; Sue-aok et al., 2010). Por otro lado la mayoría de los adsorbedores de etileno están disponibles ya en el mercado en forma de sobres o sachets, sin embargo, tiene algunas desventajas, como es el riesgo potencial de ser mal usados por el consumidor, y eventualmente ser ingeridos, o por la posible contaminación del producto por la fuga de compuestos través del sobre. Es así como, el objetivo de este trabajo fue modificar la zeolita natural y desarrollar una película con capacidad de adsorción etileno a base de zeolita natural modificada (ZNM) y polietileno de baja densidad (PEBD).

2.MATERIALES Y MÉTODOS

La zeolita natural chilena (ZN) suministrada por Maderas Bravo S.A. fue modificada por un proceso de intercambio catiónico en solución acuosa con iones metálicos. La zeolita natural modificada (ZNM) fue mezclada en diferentes porcentajes (0%; 2,5%; 5%; 7,5% Y 10%) con Polietileno de baja de densidad (PEBD) comprado de Petroquímica Dow S.A. (Chile). Las películas fueron preparadas por un proceso de extrusión en una extrusora de doble tornillo marca Scientific LTE20-40 (LabTech Engineering Company Co. Ltd., Bangkok, Tailandia). Luego las películas caracterizadas utilizando diferentes técnicas.

Los análisis de difracción de rayos X (XRD) fueron llevadas a cabo en un difractor Siemens D5000 (30 mA y 40 kV) usando $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda=1.54 \text{ \AA}$) de radiación a temperatura ambiente en un rango de $2\text{-}80^\circ$ a $0,02^\circ/\text{seg}$. Los análisis de calorimetría diferencial de barrido (DSC) fueron conducidos con un calorímetro Mettler-Toledo mod. STAR 822e, donde las muestras fueron calentadas de $0^\circ\text{-}200^\circ\text{C}$ a una velocidad de $10^\circ\text{C}/\text{min}$ bajo la purga de nitrógeno. Las micrografías SEM fueron obtenidas usando un microscopio electrónico de barrido Jeol JSM-5410 con acelerador de voltaje a 10kV. Las muestras fueron previamente fracturadas con nitrógeno líquido y luego bañadas con oro paladio usando Sputtering System Hummer 6.2. Los análisis de espectroscopía infrarrojo de transformada de Fourier (FTIR) se realizó en un espectrómetro IR Bruker Alpha en la región de $4000\text{-}400 \text{ cm}^{-1}$ con un promedio de 24 escaneos y una resolución de 4 cm^{-1} . El índice de opacidad de los films de nanocompositos fue determinado en un espectrofotómetro UV-Vis Spectroquant Pharo 300. Las medidas de color se llevaron a cabo en un Colorímetro Konica Minolta CR 410. La fuerza de tensión, elongación a la rotura y modulo de elasticidad de cada material fueron medidos a temperatura ambiente en un medidor de tensión Zwick Roell modelo BDO-FB 0.5 TH. La adsorción de etileno fue medido a temperatura y presión atmosférica en una celda de adsorción no agitada con sistema de evacuación del aire interior por vacío utilizando un cromatógrafo de gases Perkin Elmer Clarus 500.

3.RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 1 muestra las propiedades ópticas (color y opacidad) de las películas de ZNM/PEBD. En general, las películas presentan un incremento en la opacidad atribuido a la presencia de la zeolita, ya que la ZNM es un mineral que no se disuelve en la matriz polimérica, lo que origina una disminución de la transparencia. El aumento de la opacidad no solo es atribuido a la presencia de ZN, sino también a la de iones metálicos incorporados en la estructura de la ZN y oxidado térmicamente durante el proceso de la extrusión. La alta temperatura y presión durante la preparación de las películas por extrusión pueden haber contribuido a la reducción de los iones metálicos, haciendo que la transparencia disminuya (Boschetto et al., 2012). En cuanto a los parámetros de color, la Luminosidad (parámetro L^*) de las películas disminuye y la variación de color (ΔE) se incrementa con el incremento del contenido ZNM comparado con PEBD puro. Una variación de los valores ΔE de $\pm 0,5$ es capaz de ser reconocido por el panel sensorial como diferente en cuanto al color, siendo mucho más importante cuando la ΔE es mayor de $\pm 2,0$ (Bruna et al., 2012).

La Tabla 2 muestra las propiedades mecánicas de las películas compuestas ZNM/PEBD y PEBD expresadas como modulo de tensión, fuerza de tensión y elongación a la rotura. El modulo de tensión (Modulo de Young`s) decrece con la incorporación de ZNM, comparado con el PEBD puro. Por otro lado la fuerza de tensión disminuye a medida que se incrementa la concentración de la ZNM. Este comportamiento es atribuido a que la zeolita modificada actúa como agente nucleante, por lo tanto la cristalinidad del polímero aumenta (Padareva and Touleshkov, 1998). Finalmente los valores de la elongación a la rotura disminuyen con la adición de la zeolita modificada, debido a que las partículas de zeolita modificada en la matriz polimérica reducen la movilidad de las cadenas, dando un rápido decrecimiento de elongación a la rotura.

En la Tabla 3 se presenta los resultados de la caracterización térmica de las películas compuestas diferentes contenidos de ZNM, en donde se observa que la temperatura de fusión (T_m) y la temperatura de cristalización (T_c) no cambió significativamente con el incremento de la concentración de ZNM, indicando que las características del material no cambian con la incorporación de zeolita, este comportamiento es similar a lo reportado por otros autores (Boschetto et al., 2012; Pehlivan et al., 2005)

En la Fig. 1 se presenta las micrografías SEM de las películas compuestas con diferentes contenidos de ZNM, en donde se aprecia claramente la presencia de la ZNM en la superficie de las películas, esto se observa con más intensidad a mayor concentración, debido

a que las el tamaño de las partículas utilizadas fueron de menores a 45 μm . La presencia de partículas de zeolita afectan en el flujo elástico de fusión a la salida de la boquilla de extrusión, posiblemente haciendo que la superficie de la película se vuelva relativamente rugosa, afectando de este modo la transparencia de las películas de PEBD (Huang et al., 2013). En la estructura interna se observan al parecer que las películas presentan mayor fragilidad a la rotura con la incorporación de ZNM, sin embargo no se observaron microporos, ni roturas o fallos en la estructura interna del material polimérico (Esturk et al., 2013).

Los patrones difracción de rayos X se muestran en la Fig. 2. En donde se aprecia que la incorporación de ZNM afecta en las estructura del polímero base, indicando buena interacción entre ZNM y PEBD. En la Fig. 3 se muestran los espectros FTIR de PEBD y las películas compuestas con diferentes contenidos de ZNM, en donde se observan bandas muy características de PEBD, en alrededor de 721 y 1470 cm^{-1} corresponden a la oscilación y vibración por flexión de los grupos CH_2 , respectivamente, y las fuertes bandas de absorción a 2850-2941 cm^{-1} que representan el estiramiento se grupo CH_2 (Renzini et al., 2009). Por otra parte aparece una banda cuando se incorpora ZNM en alrededor de 1045 cm^{-1} con un hombro en 1220 cm^{-1} que son atribuidas al estiramiento asimétrico del enlace Si-O-Si en las zeolitas (Narin et al., 2010).

Finalmente en la Fig. 4 se presenta la capacidad de adsorción de las películas compuestas de PEBD con diferentes contenidos de ZNM, en donde se observa que las películas con mayor contenido de ZNM tienen mayor capacidad de adsorción de etileno comparado con la películas de PEBD puro. Por tanto se afirma que la ZNM por intercambio catiónico mantiene su capacidad de adsorción de etileno.

4. CONCLUSIONES

La incorporación de la zeolita natural chilena modificada en la matriz polimérica de PEBD, no afectan en las propiedades térmicas del material, sin embargo afectan en la propiedades ópticas y mecánicas de las películas compuestas. Por otra parte con los análisis de DRX, FTIR y SEM se pudo evidenciar la presencia de ZNM en PEBD, sin alterar la cristalinidad, estructura y morfología del material. Finalmente las películas de PEBD con ZNM presentaron mayor capacidad de adsorción de etileno, lográndose incrementar hasta 5 veces con 7,5% de ZNM comparado con las películas de PEBD puro.

5. AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al proyecto FONDEF N° D11I1123 y al programa de Financiamiento Basal para Centros Científicos y Tecnológicos de Excelencia (Proyecto FB0807). Alejandro Coloma agradece a CONICYT por la Beca Nacional de Doctorado para Estudiantes Extranjeros.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Anson A., Wang Y., Lin C.C.H., Kuznicki T.M., Kuznicki S.M. (2008) Adsorption of ethane and ethylene on modified ETS-10. *Chemical Engineering Science* 63:4171-4175.
- Boschetto D.L., Lerin L., Cansian R., Pergher S.B.C., Luccio M.D. (2012) Preparation and antimicrobial activity of polyethylene composite films with silver exchanged zeolite-Y. *Chemical Engineering Journal* 204–206:210–216.
- Bruna J.E., Peñaloza A., Guarda A., Rodríguez F., Galotto M.J. (2012) Development of MtCu²⁺/LDPE nanocomposites with antimicrobial activity for potential use in food packaging. *Applied Clay Science* 58:79–87.
- Catalá R., Almenar E., Gavara R. (2007) Innovaciones y tendencias en el envasado de frutas y hortalizas, V Congreso Iberoamericano de Tecnología Postcosecha y Agroexportaciones Cartagena (Murcia, España).
- Erdoğan B., Sakızcı M., Yörükoğulları E. (2008) Characterization and ethylene adsorption of natural and modified clinoptilolites. *Applied Surface Science* 254:2450-2457.
- Esturk B.O., Ayhan Z., Gokkurt T. (2013) Production and Application of Active Packaging Film with Ethylene Adsorber to Increase the Shelf Life of Broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *Italica*). *Packag. Technol. Sci.* 1:1-13.
- Huang B.Z., Guo Y.-h., Zhang T.-m., Zhang X.-h., Guo L.-y. (2013) Fabrication and Characterizations of Zeolite b–filled Polyethylene Composite Films. *Packag. Technol. Sci.* 26 (Sppl. 1):1-10.
- Narin G., Albayrak Ç.B., Ülkü S. (2010) Antibacterial and bactericidal activity of nitric oxide-releasing natural zeolite. *Applied Clay Science* 50:560–568.
- Padareva V., Touleshkov N. (1998) Modification of Polyethylene with activated natural zeolite. *Pure Appl. Chem.* A35(7&8):1079-1091.
- Patdhanagul N., Srithanratana T., Rangswatananon K., Hengrasmee S. (2010) Ethylene adsorption on cationic surfactant modified zeolite NaY. *Microporous and Mesoporous Materials* 131:97-102.
- Patdhanagul N., Rangswatananon K., Siriwong K., Hengrasmee S. (2012) Combined modification of zeolite NaY by phenyl trimethyl ammonium bromide and potassium for ethylene gas adsorption. *Microporous and Mesoporous Materials* 153:30–34.
- Pehlivan H., Balköse D., Ülkü S., Tihminliog˘lu. (2005) Characterization of pure and silver exchanged natural zeolite filled polypropylene composite films. *Composites Science and Technology* 65:2049–2058.
- Renzini M.S., Sedran U., Pierella L.B. (2009) H-ZSM-11 and Zn-ZSM-11 zeolites and their applications in the catalytic transformation of LDPE. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 86:215–220.
- Sue-aok N., Srithanratana T., Rangswatananon K., Hengrasmee S. (2010) Study of ethylene adsorption on zeolite NaY modified with group I metal ions. *Applied Surface Science* 256:3997–4002.

TABLAS Y FIGURAS
Tabla 1: Parámetros de color e índice de opacidad de las películas compuestas de ZNM/PEBD

Contenido ZNM (%)	L*	ΔE	Índice de opacidad
0,0	98,4 ± 0,4 ^a	-----	1,10 ± 0,07 ^a
2,5	96,9 ± 0,4 ^b	2,7 ± 0,4 ^a	2,31 ± 0,36 ^b
5,0	94,2 ± 0,2 ^c	6,7 ± 0,2 ^b	3,93 ± 0,20 ^c
7,5	90,4 ± 0,2 ^d	12,2 ± 0,2 ^c	4,27 ± 0,49 ^d
10,0	88,9 ± 0,2 ^e	15,1 ± 0,9 ^d	4,51 ± 0,12 ^e

^{a,b,c,d,e} diferencias de comparación de medias de Duncan ($p > 0,05$). Cada valor es la media de cinco réplicas con la desviación estándar.

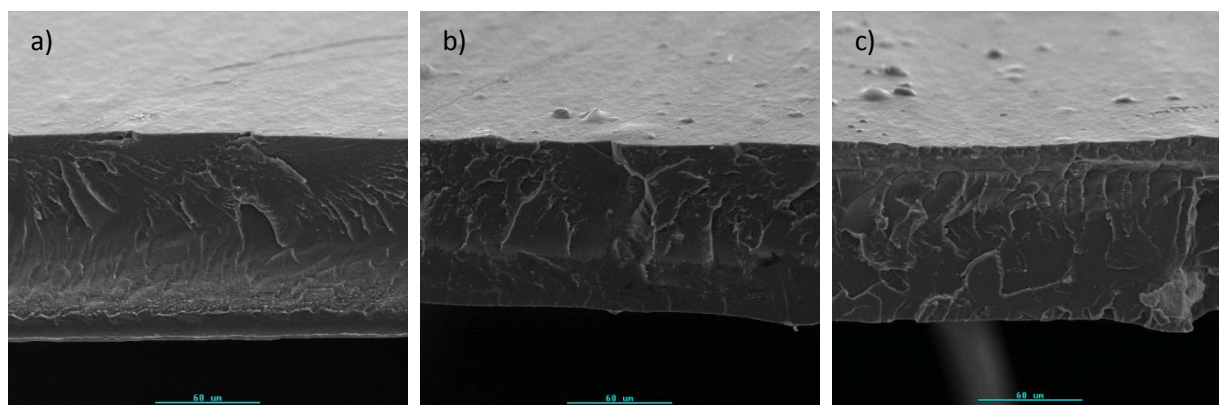
Tabla 2: Resultados de la caracterización mecánica de las películas compuestas de ZNM/PEBD

Contenido ZNM (%)	Módulo de tensión (N/mm ²)	Fuerza de tensión (N/mm ²)	Elongación a la rotura (%)
0,0	72,5 ± 18,9 ^a	20,8 ± 1,1 ^a	462,4 ± 46,6 ^a
2,5	86,9 ± 19,6 ^a	17,1 ± 0,8 ^b	338,0 ± 30,1 ^b
5,0	96,6 ± 09,1 ^a	18,5 ± 0,9 ^c	247,3 ± 35,8 ^c
7,5	106,2 ± 24,6 ^a	15,4 ± 0,9 ^d	253,9 ± 44,3 ^c
10,0	133,1 ± 17,7 ^b	13,6 ± 0,8 ^e	303,6 ± 44,9 ^b

^{a,b,c,d,e} diferencias de comparación de medias de Duncan ($p > 0,05$). Cada valor es la media de cinco réplicas con la desviación estándar.

Tabla 3: Resultados de la caracterización térmica de las películas compuestas de ZNM/PEBD

Contenido ZNM (%)	Tm (°C)	ΔH_m (J/g)	Tc (°C)	ΔH_c (J/g)	Cristalinidad (%)
0,0	112,2	105,1	96,6	118,4	20,1
2,5	112,0	111,9	98,9	119,9	23,4
5,0	111,5	110,0	99,2	109,8	24,6
7,5	111,6	100,4	98,3	111,5	24,3
10,0	111,3	108,2	97,5	116,4	23,9


Figura 1. Micrografías SEM de las películas compuestas de ZNM/PEBD: a) 0% ZNM/PEBD, b) 2,5% ZNM/PEBD y c) 7,5% ZNM/PEBD

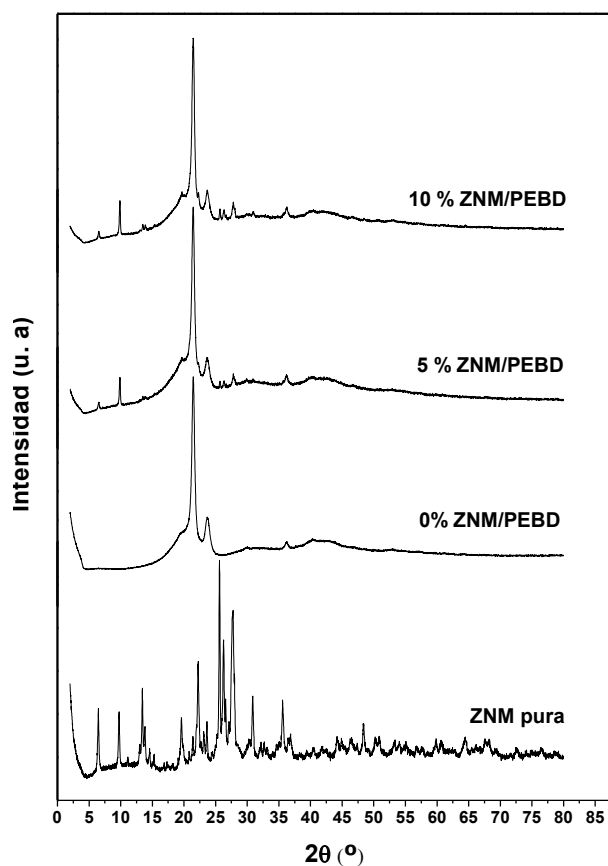


Figura 2. Patrones de difracción de rayos X de las películas compuestas de ZNM/PEBD

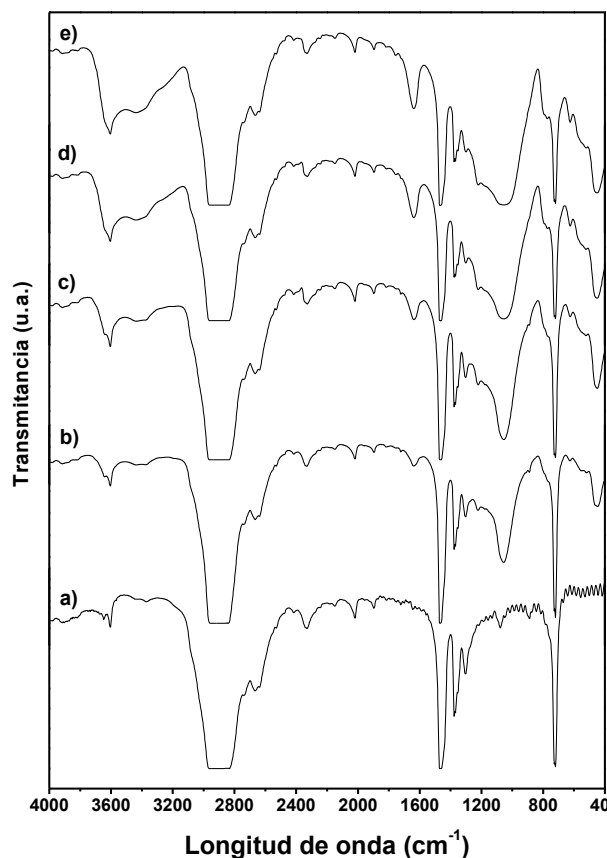


Figura 3. Espectro FTIR de las películas compuestas de ZNM/PEBD: a) 0%; b) 2,5%; c) 5%; d) 7,5% y e)10%

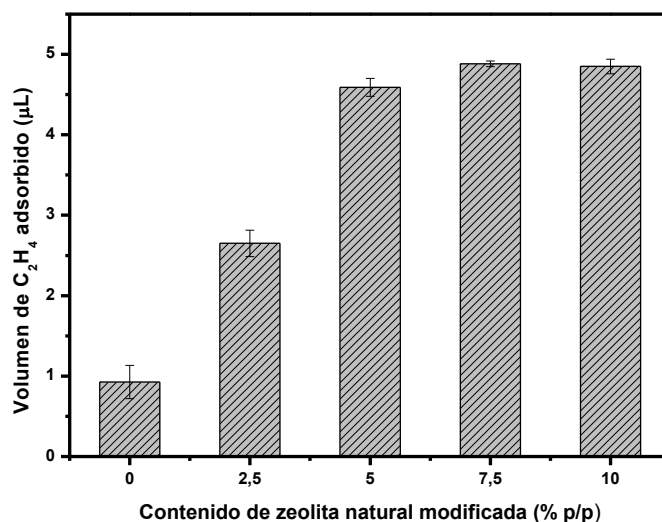


Figura 4. Efecto de contenido de la ZNM en la capacidad de adsorción de etileno a base de PEBD.

EFFECTO DE LA HOMOGENIZACIÓN A ULTRA ALTA PRESIÓN SOBRE LA ESTABILIDAD FÍSICA DE LA HORCHATA DE CHUFA

Codina-Torrella, I., Escriu, R., Guamis, B., Trujillo, A.J.

Centre Especial de Recerca Planta de Tecnologia dels Aliments (CERPTA), XaRTA, TECNIO, MALTA-Consolider, Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193-Bellaterra (Cerdanyola del Vallès), Barcelona, Spain.

1.INTRODUCCIÓN

La horchata de chufa es una bebida de aspecto lechoso obtenida a partir de la molturación de los tubérculos denominados chufas (*Cyperus Sculentus L.*) con agua, con o sin la adición de azúcar, azúcares o sus mezclas (RD 1338/1988). Esta bebida es ampliamente conocida en España por el valor cultural y tradicional que representa en el territorio valenciano aunque, hoy en día, haya devenido un producto con un mercado muy consolidado y ampliamente extendido a nivel mundial (Tigernuts Traders S.L., 2013). La horchata de chufa se caracteriza por ser un producto energético, cuyos componentes mayoritarios son los hidratos de carbono (~ 9-10 %) y las grasas (2-3 %), y al igual que otros licuados vegetales, su contenido en proteína es muy bajo ($\leq 1\%$). En la horchata coexisten diferentes tipos de partículas dispersas en la fase acuosa (gotas de aceite, gránulos de almidón, cuerpos proteicos, fibras, etc.), por lo que la estabilidad coloidal de la emulsión estará sujeta al tamaño de estas partículas, así como a las interacciones físico-químicas establecidas entre ellas. De entre los fenómenos más típicos de desestabilización en los licuados vegetales, destacan el cremado (las partículas de menor densidad migran hacia la superficie) y la sedimentación (las partículas más densas precipitan al fondo del recipiente).

La Homogenización a Ultra Alta Presión (UHPH) es una tecnología emergente que se presenta como alternativa a los tratamientos térmicos de higienización en alimentos líquidos, mejorando su estabilidad física (Donsi et al., 2009). El fundamento de esta tecnología coincide con el proceso de homogenización convencional, pero gracias al diseño y materiales de las válvulas de homogenización, se consigue trabajar a presiones entre 10-15 veces superiores. Durante el tratamiento de UHPH, el producto se ve sometido a diferentes fenómenos físicos, causando la disrupción de sus partículas, entre otros (Dumay et al., 2012; Flourey et al., 2000; Hayes et al., 2005). Hasta el momento, diferentes autores han utilizado esta tecnología en la higienización de diferentes productos alimentarios (leche, zumos de naranja y manzana, licuado de soja, entre otros) observando una mejora en la estabilidad

coloidal de los productos frente a sus homólogos crudos u homogenizados convencionalmente (Cruz et al., 2007; Pereda et al., 2007; Polisel-Scopel et al., 2012; Suárez-Jacobo et al., 2010; Velázquez-Estrada et al., 2013).

Por ello, el principal **objetivo** de este trabajo fue evaluar el efecto de la UHPH sobre la estabilidad coloidal de la horchata de chufa durante su vida útil, como tratamiento alternativo al tratamiento convencional de homogenización-pasteurización (PA).

2.MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Elaboración de la horchata de chufa y tratamientos tecnológicos aplicados

La horchata de chufa se elaboró según el método tradicional de elaboración propuesto por la *Guía para la aplicación del sistema de análisis de riesgos y control de puntos críticos en industrias elaboradoras de horchata de chufa natural* (Anónimo, 1999) y por Morell et al. (1983) en sus estudios. La relación chufa:agua utilizada fue 1:8 y el producto resultante se filtró mediante su paso por un filtro vibratorio de 0.1 mm de luz de malla (Mejisa-Mectufry, Alicante, España). Se utilizaron chufas bajo la D.O. *Chufa de Valencia*.

Una parte de producto se envasó en botella y se almacenó en refrigeración (4°C) durante su vida útil (horchata *cruda*). Al producto restante se le añadió un 0,5 % α -amilasa (Bialfa T, Biocon, Les Franqueses del Vallès, España) y se le aplicaron los tratamientos de pasterización (80°C y 15 s, con previa homogenización a doble etapa de 18 + 4 MPa) y UHPH (a temperatura de entrada de 40°C y presiones de 200 y 300 MPa). Posteriormente, los productos se envasaron y conservaron en refrigeración (4°C) durante su vida útil.

2.2 Análisis de composición

Se realizó la determinación de sólidos totales (AOAC, 2000), grasas (AOAC, 2000) y proteína (método Dumas, según FIL - IDF, 2002) de las bebidas elaboradas, expresándose los resultados sobre materia seca. Los análisis se realizaron por triplicado.

2.3. Análisis microbiológicos

La calidad microbiológica de las muestras se evaluó mediante el recuento en placa de los siguientes grupos microbianos: bacterias aerobias mesófilas (en medio PCA, Oxoid Ltd, Basingstoke, Hampshire, UK) incubadas durante 48 h a 30°C, bacterias psicrótrofas (en medio PCA) incubadas durante 72 h a 20°C, esporas mesófilas realizándose un tratamiento de choque térmico a 80°C durante 10 min y rápido enfriamiento en hielo, con posterior recuento

en placa en medio PCA incubadas durante 48 h a 30°C, y enterobacterias en medio VRBG (Oxoid, Ltd) incubadas durante 24 h a 37°C. Los análisis se realizaron por triplicado.

2.4. Análisis reológicos

Para los ensayos reológicos, se utilizó un reómetro Haake Rheo Stress 1 (Thermo Electron Corporation, Karlsruhe, Alemania), acoplado a un baño termostático Thermo Haake Phoenix C25P (Thermo Electron Corporation), en rotación con una sonda DC60/2° Ti L, aplicando un ensayo de curva de flujo a 21°C. Las curvas de flujo se ajustaron al modelo reológico Ostwald de Waele: $\tau = K \dot{\gamma}^n$ y se obtuvieron los índices de consistencia K (mPa × s) y de comportamiento de flujo n . Los análisis se realizaron por triplicado.

2.5. Análisis de tamaño de partícula

El análisis de tamaño de partícula se realizó mediante la técnica de dispersión de luz láser, utilizando un analizador Beckman LSTM 13 320 (Beckman Coulter, USA). Se utilizó un modelo óptico con un índice de refracción (IR) de 1.465 y se consideró el agua como fase dispersante (IR = 1.332). Las muestras de horchata se diluyeron hasta un nivel de opacificación del 2-7%. La distribución del tamaño de partícula se caracterizó, entre otros, por el parámetro D50 (diámetro por debajo del cual se encuentran el 50 % del volumen total de partículas). Los análisis se realizaron por triplicado.

2.6. Análisis de estabilidad de la muestra

La estabilidad de las horchatas se midió a través la migración de partículas del producto, con un equipo TurbiscanTM Classic MA 2000 (Formulacion, Toulouse, Francia). Las muestras de horchata se transfirieron en recipientes de cristal borosilicato (de 27,5 × 70,0 mm), realizando la lectura hasta una altura de ~ 40 mm, y se almacenaron en refrigeración (4°C) durante su vida útil, durante la cual se analizaron puntuales medidas de estabilidad. Los resultados se expresaron en base a los cambios en la transmisión de luz o *backscattering* (ΔE) en las diferentes partes del recipiente; el incremento de la señal de Backscattering en el producto es directamente proporcional a la concentración de partículas, lo que se traduce a la existencia de los fenómenos de desestabilización de sedimentación y cremado. Se utilizó un software específico para calcular el grosor de las capas formadas en la parte inferior y superior del recipiente durante su conservación en frío. Los análisis se realizaron por triplicado.

2.7. Análisis estadístico

Los datos obtenidos se trataron a través del análisis de varianza (ANOVA), mediante el programa estadístico *Statgraphics* (Statgraphics Inc., Chicago, IL, USA). Para determinar

las diferencias entre los valores obtenidos se realizó el test de Tukey. Las evaluaciones se establecieron bajo un nivel de significación de $P \leq 0,05$.

3.RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Composición y vida útil de las horchatas

Los parámetros de composición nutricional obtenidos en la horchata cruda fueron: $12,99 \% \pm 0,12 \%$ de sólidos totales, $2,01 \pm 0,02 \%$ de grasas y $0,54 \pm 0,02 \%$ de proteína. Con la aplicación de los tratamientos de higienización (PA y UHPH) la composición nutricional de las horchatas no varió, en comparación con el producto sin tratar. Los valores obtenidos correspondieron con los descritos para este tipo de producto, así como también con la composición de la mayoría de horchatas naturales y pasterizadas del mercado (RD 1338/1988; Cortés et al., 2004).

La calidad microbiológica del producto base mejoró significativamente ($P < 0,05$) con la aplicación de los tratamientos de pasteurización y UHPH. Según los recuentos microbiológicos obtenidos, la vida útil del producto crudo (< 3 días) incrementó hasta los ~ 20 días en el producto pasterizado y hasta los ~ 30 y ~ 60 días en los productos tratados a 200 y 300 MPa, respectivamente.

3.2. Reducción del tamaño de partícula y viscosidad

La distribución del tamaño de partícula de las diferentes horchatas se caracterizó por presentar una distribución bimodal, representada por dos grupos diferenciados de partículas (Figura 1). La aplicación de los tratamientos de pasteurización y UHPH redujeron significativamente ($P \leq 0,05$) el diámetro medio de partícula del producto crudo ($D_{50} = 3,7 \mu\text{m}$), siendo $D_{50} = 0,63, 0,36$ y $0,37 \mu\text{m}$ en los productos PA y homogenizados a 200 y 300 MPa, respectivamente. Destacar que aunque los tratamientos de UHPH redujeron significativamente el tamaño de partícula de las horchatas tratadas, no observándose diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre las muestras tratadas a 200 y 300 MPa, la presencia de agregados de partículas en la muestra presurizada a 300 MPa fue superior al resto, probablemente debido a una mayor interacción entre las nuevas partículas formadas.

Cabe destacar que la baja viscosidad que presentaron todas las horchatas ($1,54 - 2,37 \text{ mPa} \times \text{s}$) contribuyó a la mayor probabilidad de colisión entre partículas, repercutiendo principalmente en la desestabilización física de los productos durante su vida útil.

3.3. Estabilidad física durante la vida útil de las horchatas

Según los resultados obtenidos en la evaluación de la estabilidad de las muestras a lo largo del tiempo (ΔBS), tan sólo se observó el fenómeno de sedimentación de partículas en el producto crudo. Por el contrario, en todas las horchatas se observó una tendencia creciente a la migración de partículas hacia la superficie del producto (cremado), lo que evidenció la formación de nuevos agregados de partículas durante su almacenamiento. Aún así, si comparamos los productos higienizados entre sí, el máximo grosor de la capa de cremado se observó en el producto PA, lo que probó el efecto de la UHPH sobre la mejora en la estabilidad coloidal del producto, pudiendo atribuir este hecho tanto a la reducción del tamaño de partícula como a la creación de nuevas interacciones entre partículas. Comparando los dos productos UHPH entre ellos, el mayor grosor de la capa de cremado se observó en el producto tratado a 300 MPa, lo que se podría explicar por la mayor presencia de agregados de partículas en este producto (Figura 2).

4. CONCLUSIONES

Los tratamientos de higienización aplicados (PA y UHPH) mejoraron la vida útil microbiológica de las horchatas almacenadas (4°C) y su estabilidad física (menor migración de partículas) en comparación con el producto sin tratar, siendo las horchatas tratadas por UHPH las más estables físicamente. Por ello, el tratamiento de UHPH se presenta como una tecnología alternativa en la obtención de una horchata de chufa de vida útil mejorada y físicamente estable.

5. BIBLIOGRAFÍA

Anónimo. 1999. Guía para la aplicación del sistema de análisis de riesgos y control de puntos críticos en industrias elaboradoras de horchata de chufa natural. Generalitat Valenciana, Concelleria de Sanitat, Direcció General de Salut Pública, Valencia, España.

AOAC 2000. Official methods of analysis. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC., USA.

Cortes, C., Esteve, M.J., Frigola, A., Torregrosa, F. 2004. Physical and chemical properties of different commercially available types of 'horchata de chufa'. Italian Journal of Food Science, 16 (1): 113-121.

Cruz, N, Capellas, M., Hernández, M., Trujillo, A.J., Guamis, B., Ferragut, V. 2007. Ultra high pressure homogenization of soymilk: microbiological, physicochemical and microestructural characteristics. Food Research International, 40: 725 – 732.

- Donsì, F., Ferrari, G., Maresca, P. 2009. High-pressure homogenization for food sanitation. In G. Barbosa-Cánovas, A. Mortimer, D. Lineback, W. Spiess, K. Buckle & P. Colonna (Eds.), *Global Issues in Food Science and Technology*: 309 – 352. San Diego, Academic Press.
- Dumay, E., Chevalier-Lucia, D., Picart-Palmade, L., Benzaria, A., Gràcia-Julià, A., Blayo, C. 2012. Technological aspects and potential applications of (ultra) high-pressure homogenisation. *Trends in Food Science & Technology*, 31 (1): 13 – 126.
- FIL - IDF. 2002. Milk and milk products. Determination of nitrogen content. Routine method using combustion according to the Dumas principle. Standard 185. International Dairy Federation. Brussels, Belgium.
- Floury, J., Desrumaux, A., Lardières, J. 2000. Effect of high-pressure homogenization on droplet size distributions and rheological properties of model oil-in-water emulsions. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 1: 127 – 134.
- Hayes, M.G., Fox, P.F., Kelly, A.L. 2005. Potential applications of high pressure homogenization in processing of liquid milk. *Journal of Dairy Research*, 72: 25 – 33.
- Morell, J., Barber, S. 1983. Chufa y horchata: características físicas, químicas y nutritivas. C.S.I.C. Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos, Valencia, España.
- Pereda, J., Ferragut, V., Quevedo, J.M., Guamis, B., Trujillo, A.J. 2007. Effects of ultra-high pressure homogenization on microbial and physicochemical shelf-life of milk. *Journal of Dairy Science*, 90: 1081 – 1093.
- Poliseli-Scopel, F., Hernández-Herrero, M., Guamis, B., Ferragut, V. 2012. Comparison of ultra high pressure homogenization and conventional thermal treatments on the microbiological, physical and chemical quality of soymilk. *Food Science and Technology*, 46 (1): 42 – 48.
- Real Decreto 1338/1988, de 28 de octubre, por el que se aprueba la Reglamentación Técnico-Sanitaria para la Elaboración y Venta de Horchata de Chufa.
- Suárez-Jacobo, A., Gervilla, R., Guamis, B., Roig-Sagués, A.X., Saldo, J. 2010. Effect of UHPH on indigenous microbiota of apple juice: a preliminary study of microbial shelf-life. *International Journal of Food Microbiology*, 136: 261 – 267.
- Tigernuts Traders, S.L. 2013. <http://www.tigernuts.es>
- Velázquez-Estrada, R.M., Hernández-Herrero, R., Rüfer, C.E., Guamis, B, Roig –Sagués, A.X. 2013. Influence of Ultra high pressure homogenization processing on bioactive compounds and antioxidant activity of orange juice. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 8: 89 – 94.

FIGURAS

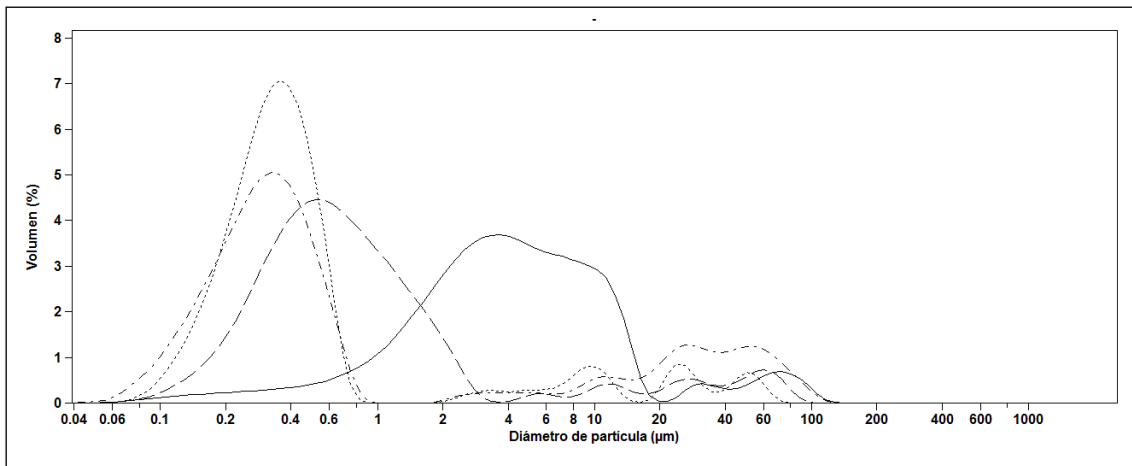


Figura 1. Distribución del tamaño de partícula de las muestras: cruda (—), PA (--), 200 MPa (···) y 300 MPa (- · -).

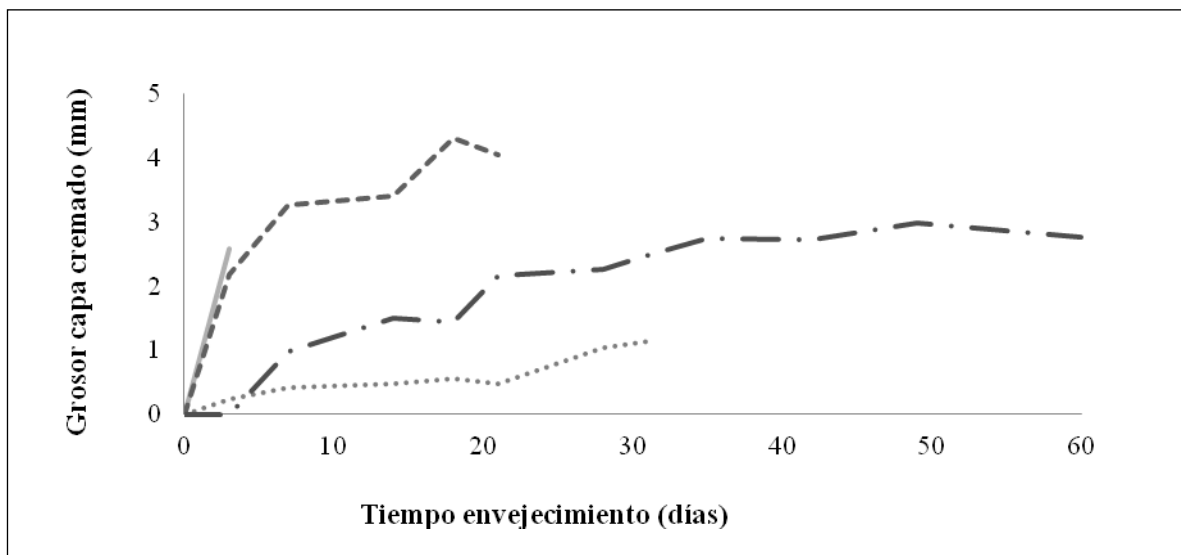


Figura 2. Evolución del grosor de la capa de cremado durante la vida útil de las horchetas almacenadas: cruda (—), PA (--), 200 MPa (···) y 300 MPa (- · -).

CINÉTICA DE LA EVOLUCIÓN DE HIDROXIMETILFURFURAL (HMF) EN EL PROCESO TÉRMICO DE PULPA CONCENTRADA DE MANGO (MANGIFERA INDICA L) VARIEDAD HADEN Y KENT

Damián Manayay Sánchez¹, Albert Ibarz Ribas², Williams Castillo Martínez³ y Lenin Palacios Ambrocio⁴

^{1,3,4} Escuela de Ingeniería Agroindustrial, Universidad Nacional del Santa, Chimbote, Perú.

² Departamento de Tecnología de los Alimentos (DTA) Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agraria (ETSEA), Lleida, España

E-mail para correspondencia: dmanayay@uns.edu.pe

RESUMEN

Se ha modelado la cinética de la evolución de Hidroximetilfurfural (HMF) en el proceso térmico de pulpa concentrada (28°Brix) de mango Haden y Kent, exponiendo las muestras a temperaturas de 80°, 85°, 90°, 95° y 98°C, y, por tiempos de 0, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 y 240 minutos respectivamente, el análisis de los resultados mediante un ajuste estadístico a modelos lineales y no lineales a través del software Statgraphics centurión XV, permitió determinar con una probabilidad de error del 5%, que la evolución de HMF de pulpa concentrada tanto de mango Haden como de Kent, es descrito adecuadamente y de manera indistinta por las cinéticas de reacción de primer orden o auto catalítico de 2^{do} orden.

$$C_{\text{HMF}} = C_{\text{HMF}}^0 e^{Kt}$$

$$C_{\text{HMF}} = \frac{1}{\frac{1}{C_0} + B \exp(-kt)}$$

KINETICS OF THE EVOLUTION OF HYDROXYMETHYLFURFURAL (HMF) IN THERMAL PROCESS CONCENTRATE MANGO PULP (MANGIFERA INDICATES L) VARIETY HADEN AND KENT

SUMMARY

Have modeled the evolution kinetics of hydroxymethylfurfural (HMF) in the thermal processing of pulp concentrate (28 ° Brix) and Kent Haden mango, exposing samples at temperatures of 80 °, 85 °, 90 °, 95 ° and 98 ° C, and for times of 0, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 and 240 minutes respectively, the analysis of results using a statistical fit to linear and nonlinear models through software Statgraphics centurion XV , revealed with a probability of error of 5%, that the evolution of concentrated pulp HMF handle both Haden and Kent, is

described properly and interchangeably by the reaction kinetics of autocatalytic first order or 2nd order.

$$C_{\text{HMF}} = C_{\text{HMF}}^0 e^{Kt}$$

$$C_{\text{HMF}} = \frac{1}{\frac{1}{C_0} + B \exp(-kt)}$$

INTRODUCCIÓN

El Mango Peruano ofrece un alto potencial económico, debido a que su producción se realiza en un trópico seco, donde las lluvias son escasas, permitiendo que el cultivo se maneje con mayor facilidad respecto a otros países. Las variedades de mayor importancia que se cultivan en el Perú son el “criollo” de Chulucanas y el “chato” y “rosado” de Ica que se destinan tanto para el mercado interno como para la producción de pulpa y jugos concentrados para exportación, resaltándose que dentro de las variedades que se exportan en estado fresco son el “Haden”, “Kent”, “Tommy Atkins” y “Edward”.

El crecimiento permanente de las exportaciones de mango del Perú hacia el mundo, se ubica el problema de un excedente no exportable de mango fresco, que es destinado en un 60% al consumo nacional y entre 20 a 25% a la exportación en pulpa simple o congelada y congelada, es aquí en donde el tema del manejo de los parámetros cinéticos de degradación de la calidad organoléptica por efectos del pardeamiento no enzimático a consecuencia de la generación de hidroximetilfurfural (HMF) en el proceso térmico de la pulpa de mango, se convierte en el problema central del presente estudio.

La temática referida a la cinética de las variaciones de color en el proceso térmico de pulpas y jugos de fruta, tienen referentes muy antiguos, sin embargo cobra importancia científica y tecnológica cuando al revisar el estado en que se encuentran estos estudios desde la década del 90 hasta el año 2012, se encuentra que los modelos cinéticos que se han definido son en su mayoría para zumos o jugos filtrados y muy específicas por la naturaleza de la composición del material estudiado, hecho que permite continuar ampliando la discusión de los modelos cinéticos en materiales cuya composición no es un líquido claro sino una suspensión como es el caso de las pulpas, que adicionado a la importancia comercial de la pulpa de mango, genera la necesidad de estudiar el caso de la pulpa de mango variedad Haden y Kent, por la marcada importancia comercial a nivel internacional tanto en fresco como en pulpa simple y concentrada.

Braverman, (1980), en su libro *Introducción a la Bioquímica de los Alimentos*, sostiene; “No existe duda de que en los alimentos como son las frutas, que son sistemas muy complejos sucedan con frecuencia combinaciones de reacción de Maillard o condensación de melanoidinas, la oxidación del ácido ascórbico y la generación del aldehído activo o hidroximetil furfural (HMF), que al ocasionar variación de sus colores característicos a tonalidades oscuras, se convierten en los principales indicadores del deterioro de las características nutricionales y organolépticas de este tipo de alimentos”

En su momento (Garza et al., 1996), al estudiar la evolución del color, azúcares y HMF en el tratamiento térmico de zumo de manzana, demuestra que resulta difícil aseverar si es el modelo cinético de orden cero o de primer orden, el que expresa adecuadamente la cinética de la variación del color; sin embargo, indica que los coeficientes de correlación del modelo cinético de primer orden son ligeramente mayores que los de orden cero para la mayoría de las variaciones de temperatura estudiadas.

Así mismo, (Ibarz et al., 1998), al investigar el efecto de los tratamientos térmicos a 80°C, 85°C, 90°C, 95°C y 98°C, sobre un zumo clarificado y despectinizado de pera con 11° Brix, considerando; la evolución de diferentes parámetros colorimétricos (absorbancia relativa a 420 nm, diferencia de color, diferencia de croma y parámetros CIELAB), la evolución de las hexosas (glucosa y fructosa) y la desaparición de sacarosa y formación de 5-hidroximetilfurfural, determinaron la velocidad de pardeamiento no enzimático haciendo uso de los modelos cinéticos de cero y primer orden, mientras que para cuantificar el efecto de la temperatura sobre las constantes cinéticas de velocidad de pardeamiento no enzimático utilizaron óptimamente la ecuación tipo Arrhenius.

Chutintrasri and Noomhorm, (2007), al estudiar la cinética de degradación de color de puré de piña durante el tratamiento térmico entre 70° y 110° C, con la finalidad de cubrir el intervalo de temperaturas que se utilizan en el precalentamiento y la esterilización aséptica de puré comercial de piña, determinaron que los cambios de color asociados a los efectos del tratamiento térmico, fueron evaluados mediante el colorímetro Hunter (L, a, b, la diferencia de color total ΔE) y el índice de pardeamiento por medio de la absorbancia a 420nm; mientras que , (Leandro et al., 2007), al estudiar el efecto del tratamiento térmico en el cambio de color del jugo clarificado de marañón, sometida a temperaturas de entre 88° y 121°C refiere que resulta apropiado evaluar el cambio en color a través de los parámetros calorimétricos como reflectancia, espectro, diferencia de color y CIELAB, en tanto que la medida de la variación en ácido ascórbico, 5-hidroximetilfurfural y contenido de azúcar, permiten evaluar el pardeamiento no enzimático.

MATERIALES Y MÉTODO

Se utilizaron frutos de mango variedad Haden y Kent con contenidos en sólidos solubles entre 15 a 17° Brix, sin presencia de coloraciones negras ni pardas, no se consideró importante el tamaño de la fruta. El material experimental fue lavado en agua clorada y sometido a un escaldado en agua caliente a 85°C por 5 minutos, se enfrió hasta temperatura ambiente para el pelado y troceado, luego fue pulpeado utilizando un tamiz de 0.5 mm de apertura, seguidamente haciendo uso de un rota vapor de laboratorio fue concentrada hasta 28°Brix, finalmente se determinaron las concentraciones de HMF en muestras tratadas térmicamente a temperaturas de 80, 85, 90, 95 y 98°C, y, tiempos de exposición de 0, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 y 240 minutos para cada temperatura.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El contenido de hidroximetilfurfural (HMF) en pulpa concentrada (28°Brix) de mango variedad Haden y Kent tienden a incrementarse con el tiempo y temperatura de proceso térmico tal como puede verificarse en la Tabla 1, resultado que es concordante con (Shallenberger y Mattick, 1983; Babsky et al., 1986; Garza et al., 1996; Ibarz et al., 1998; Leandro et al., 2007), quienes sostienen que una vía de aparición de HMF es la deshidratación en medio ácido de los azúcares reductores, mediante una cinética auto catalítica de segundo orden.

Los ajustes de correlación estadística con una probabilidad de error del 5%, para los modelos cinéticos de primer orden y auto catalítico de segundo orden, se muestran en la Tabla 2, observándose que los coeficientes de correlación estadística para ambos modelos son altos y adecuados para describir tales cinéticas para todas las temperaturas, aun cuando es relativamente más consistente para la cinética de reacción de pardeamiento no enzimático de primer orden, por tener coeficientes de correlación estadística más uniformes y relativamente mayores que el auto catalítico de segundo orden.

TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1: Variación de HMF (mg/kg) en pulpa concentrada (28°Brix) de mango variedad Haden y Kent

Variedad	Tiempo (min)	80°C	85°C	90°C	95°C	98°C
Haden	0	16.20	16.38	16.87	17.34	18.22
	30	16.20	16.54	16.98	17.47	18.44
	60	16.43	16.77	17.20	17.85	18.72
	90	16.78	16.82	17.53	17.93	18.94
	120	16.86	16.97	17.90	18.35	19.22
	150	17.03	17.23	18.00	18.67	19.54
	180	17.43	17.57	18.03	18.90	19.77
	210	17.70	17.77	18.27	18.97	19.88
	240	18.00	17.90	18.56	19.21	19.85
Kent	0	15.65	16.02	16.87	17.00	17.69
	30	15.88	16.21	16.97	17.09	17.87
	60	15.91	16.34	17.04	17.21	17.93
	90	15.94	16.50	17.21	17.41	17.98
	120	15.98	16.56	17.32	17.54	18.21
	150	16.03	16.70	17.56	17.61	18.46
	180	16.05	16.72	17.71	17.64	18.51
	210	16.42	16.86	17.79	17.70	18.73
	240	16.52	16.89	17.98	17.74	18.79

Al determinar los parámetros de la ecuación de Arrhenius en el estudio del efecto de la temperatura sobre la generación de HMF en el proceso térmico de pulpa concentrada de mango variedad Haden y Kent, tal como se muestra en la Tabla 3, se concluyó que el modelo auto catalítico de 2^{do} orden arroja mayores niveles de energía activación y por lo tanto ha permitido concluir que es la cinética que mejor describe la evolución de la generación de HMF en ambas muestras, resultado que es concordante con (Garza et al., 2001; Ibarz y Naves, 1995), quienes al estudiar modelos cinéticos de degradación en cremogenado concentrado de naranja y efecto de la temperatura y contenido en sólidos solubles sobre la cinética de pardeamiento no enzimático de jugos clarificados de manzana respectivamente, obtuvieron resultado similar.

Tabla 2: Ajustes de la variación de HMF (mg/kg) en pulpa concentrada (28°Brix) de mango variedad Haden y Kent

Variedad	Orden de reacción	T (°C)	K (mg.kg ⁻¹ .min ⁻¹)	r
Haden	n = 1	80	4.6x10 ⁻⁴	0.911
		85	3.8x10 ⁻⁴	0.933
		90	4.0x10 ⁻⁴	0.976
		95	4.5x10 ⁻⁴	0.983
		98	3.9x10 ⁻⁴	0.984
	n = 2	80	5.4x10 ⁻³	0.977
		85	5.0x10 ⁻³	0.981
		90	3.1x10 ⁻³	0.971
		95	3.4x10 ⁻³	0.981
		98	4.3x10 ⁻³	0.964
Kent	n = 1	80	1.9x10 ⁻⁴	0.858
		85	2.1x10 ⁻⁴	0.965
		90	2.7x10 ⁻⁴	0.988
		95	1.9x10 ⁻⁴	0.938
		98	2.6x10 ⁻⁴	0.977
	n = 2	80	2.2x10 ⁻³	0.830
		85	5.4x10 ⁻³	0.994
		90	5.3x10 ⁻³	0.940
		95	6.3x10 ⁻³	0.982
		98	2.5x10 ⁻³	0.967

Tabla 3: Ajustes de la ecuación de Arrhenius para cinéticas de primer orden y auto catalítico de 2° orden para variación de HMF en pulpa concentrada (28°Brix) de mango variedad Haden y Kent

Variedad	Orden de reacción	Ea (J/mol)	r
Haden	n = 1	3.45	0.982
	n = 2	4.96	0.890
Kent	n = 1	3.31	0.974
	n = 2	4.95	0.880

Las Figuras 1y 2 muestran la tendencia observada a 85°C, habiéndose determinado figuras análogas para el resto de temperaturas.

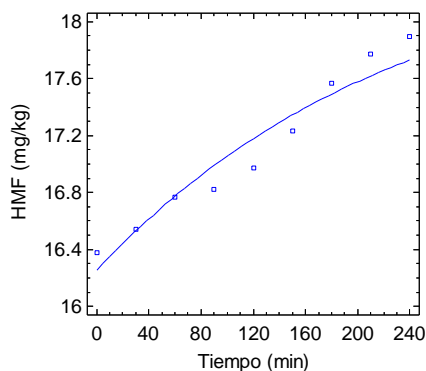


Figura 1: Variación de HMF en pulpa concentrada de mango Haden a 85°C, con ajuste a un modelo auto catalítico de 2^{do} orden.

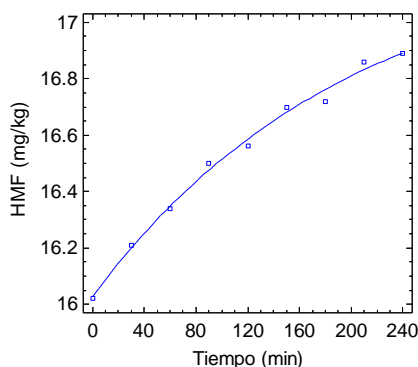


Figura 20: Variación de HMF en pulpa concentrada de mango Kent a 85°C, con ajuste a un modelo auto catalítico de 2do orden.

Los modelos matemáticos correspondientes al comportamiento de las Figuras 1 y 2 son los que se indican a continuación:

$$HMF_{\text{Haden a } 85^{\circ}\text{C}} = \frac{18.4467 \cdot \exp((0.00502059) \cdot (t))}{(\exp((0.00502059) \cdot (t)) + 18.4467 \cdot 0.00730865)} \rightarrow (1)$$

$$HMF_{\text{Kent a } 85^{\circ}\text{C}} = \frac{17.2359 \cdot \exp((0.00544667) \cdot (t))}{(\exp((0.00544667) \cdot (t)) + 17.2357 \cdot 0.0043734)} \rightarrow (2), \text{ donde "t" es el tiempo en minutos.}$$

CONCLUSIONES

1. La evolución de HMF de pulpa concentrada tanto de mango variedad Haden como de Kent, es descrito adecuadamente y de manera indistinta por las cinéticas de reacción de primer orden o auto catalítico de 2do orden.

$$C_{\text{HMF}} = C_{\text{HMF}}^0 e^{Kt} \rightarrow (3)$$

$$C_{\text{HMF}} = \frac{1}{\frac{1}{c_0} + B \exp(-kt)} \rightarrow (4)$$

2. El análisis del efecto de la temperatura sobre la evolución de HMF, permitió determinar que el modelo cinético auto catalítico de 2do orden es el que mejor describe la cinética de evolución de HMF en pulpa concentrada de mango variedad Haden y Kent, siendo sus modelos matemáticos para una temperatura de 85°C los siguientes:

$$\text{HMF}_{\text{Haden a } 85^\circ\text{C}} = \frac{18.4467 * \exp((0.00502059) * (t))}{(\exp((0.00502059) * (t)) + 18.4467 * 0.00730865)}$$

$$\text{HMF}_{\text{Kent a } 85^\circ\text{C}} = \frac{17.2359 * \exp((0.00544667) * (t))}{(\exp((0.00544667) * (t)) + 17.2357 * 0.0043734)}, \text{ donde "t" es el tiempo en minutos.}$$

REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

- Babsky, N.E.; Toribio, J.L.; Lozano, J.E. 1986. Influence of storage on composition of clarified Apple juice concentrate. *Journal Food Science* 51:564-567.
- Braverman, J. 1980. Introducción a la Bioquímica de los Alimentos. Editorial Omega, 3ra ed., Barcelona, España.
- Chutintrasri, B.; Noomhorm, A. (2007). Color degradation kinetics of pineapple puree during thermal processing. *Science and Food Technology* 40: 300-306.
- Garza, S.; Ibarz, A. 1998. Comportamiento reológico de cremogenado de melocotón. *Brazilian Journal of Food Technology* 1: 12-24.
- Garza, S.; Ibarz, A.; Boix, J. (2001). Modelos cinéticos de degradación en cremogenado de naranja concentrado tratado a elevadas temperaturas. *Alimentaria* 275: 111-121.
- Ibarz, A.; Naves, J. (1995). Efecto de la temperatura y contenido en sólidos solubles sobre la cinética de pardeamiento no enzimático de zumos clarificados de manzana. *Food Science Technology Internacional* 1: 29-34.
- Ibarz, A.; Garza, S.; Pagán, J. (1998). Evolución del color, HMF y azúcares en un zumo clarificado de pera tratado térmicamente. *Alimentaria* 10:87-93.
- Leandro, F.; Damasceno, F.; Fernández, A.N.; Magalhaes, M.M.A.; Brito, E.S. (2007). Non-enzymatic browning in clarified cashew apple juice during thermal treatment: Kinetics and process control. *Food Chemistry* 106: 172-179.

COLOR, PIGMENTOS Y POLIFENOLES TOTALES EN JUGOS DE ECUADOR A BASE DE MEZCLAS DE MORA ANDINA, FRESA, TOMATE DE ÁRBOL Y REMOLACHA.

Arozarena, Iñigo^{1*}; Ortiz-Escobar, Jacqueline^{2}; Rodríguez-Hidalgo, Claudia²; Peña-Fernández, Jessica²; Navarro-Huidobro, Montserrat¹; Marín-Arroyo, M^a Remedios¹**

1 Grupo de Investigación AENOLTEC, Departamento de Tecnología de Alimentos, Universidad Pública de Navarra. Campus Arrosadía s/n, 31006 Pamplona, España. * E-mail: inigo.azozarena@unavarra.es

2 Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Universidad Técnica de Ambato. Avenida Los Chasquis y Río Payamino s/n, Ambato, Ecuador. ** E-mail: jortizes@uta.edu.ec

INTRODUCCIÓN

Existe un importante interés en potenciar el consumo y la obtención de productos derivados a partir de frutas y hortalizas, por su significativo aporte en la dieta de fibra, vitaminas, y compuestos antioxidantes de diversa naturaleza, principalmente fenólica. En este sentido, en Latinoamérica existe una gran variedad especies y variedades de frutas autóctonas con gran potencial a las que se está prestando especial atención en los últimos años (Schreckinger et al. 2010). Se puede destacar, por ejemplo, el caso de la mora de Castilla o mora andina (*Rubus glaucus* Benth.), propia de zonas altas tropicales, y muy producida en Colombia y Ecuador. Esta fruta se caracteriza por presentar, además de diversos ácidos hidroxicinámicos, flavonoles y flavanoles, un muy elevado contenido en antocianos y elagitaninos (Vasco et al. 2009, Mertz et al. 2007), que le confiere un poder antioxidante *in vitro* muy destacado (Vasco et al., 2008, Mertz et al. 2009). La mora andina se consume en fresco, y también se ha empleado, entre otros productos, en la elaboración de purés (Meret et al. 2011), vinos (Arozarena et al. 2012, Ortiz et al., 2013) y bebidas isotónicas (Estupiñam et al., 2011). Otro cultivo destacado en las regiones andinas de Colombia y Ecuador es el tomate de árbol (*Solanum betaceum*), cuyas variedades rojas, no así las amarillas, también cuentan una apreciable concentración en antocianos (Mertz et al. 2009).

En principal objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la formulación en el color y composición fenólica de zumos elaborados con tres frutas propias de la sierra ecuatoriana, mora andina o mora de Castilla (*Rubus glaucus* Benth), fresa (*Fragaria vesca* L.), y tomate de árbol, variedad amarilla (*Solanum betaceum*); y una hortaliza, remolacha roja (*Beta vulgaris* L.). Así mismo se analizó el efecto de la pasterización y de la temperatura de almacenamiento sobre las características de los jugos antes mencionadas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materias primas, diseño experimental y elaboración de los jugos.

La mora andina (M), la fresa (F), el tomate de árbol (T) y la remolacha (R) se adquirieron en el mercado municipal de Ambato, capital de la provincia de Tungurahua (Ecuador). Tras una serie de pruebas preliminares, se definió como diseño experimental el diseño de mezclas descrito en la **tabla 1**. La mora andina y la fresa fueron los ingredientes mayoritarios (30 al 45%). La proporción del tomate de árbol y la remolacha en las mezclas fue menor (5 al 20%). La elaboración de los jugos se realizó a pequeña escala. Previamente al mezclado, cada materia prima se procesó por separado. Tras lavar, retirar las partes no comestibles y cortar, la remolacha y el tomate de árbol se sometieron a un escaldado en agua a 93°C durante 3 minutos. A continuación se procedió a pulpear/batir/triturar cada materia prima. Tras tamizado manual, se procedió a obtener los ocho jugos experimentales mezclando las partes correspondientes. Todos los jugos se ajustaron a 12 Brix de sólidos solubles mediante la adición de azúcar común, y a 3,5 de pH (Norma INEN AL 02.03-465) con ácido cítrico. Además se añadió goma guar (0,2% p/p) para tratar de estabilizar la turbidez de los jugos. A continuación los jugos de mezcla se embotellaron en botellas de vidrio y se sometieron a una pasteurización en una marmita de agua caliente (65°C, 15 min). Se enfriaron a 5°C y se mantuvieron en refrigeración para su análisis. Los jugos se analizaron antes y después de la pasteurización en la Universidad Técnica de Ambato. Una muestra de uno de los jugos se envió a la Universidad Pública de Navarra (Pamplona, España), para someterla a análisis mediante HPLC, y llevar a cabo un estudio de la evolución del color y composición fenólica durante su almacenamiento durante 17 días a 20°C y 30°C.

Tabla 1. Diseño experimental de mezclas

	Jugos	Mora (%)	Fresa (%)	Tomate (%)	Remolacha (%)
1	M45F45T5R5	45	45	5	5
2	M45F30T20R5	45	30	20	5
3	M45F30T5R20	45	30	5	20
4	M30F45T20R5	30	45	20	5
5	M30F45T5R20	30	45	5	20
6	M30T30T20R20	30	30	20	20
7	M45F45T5R5	45	45	5	5
8	M45F30T20R5	45	30	20	5

Composición fenólica global.

El contenido en polifenoles totales se determinó por medio del reactivo de Folin-Ciocalteu (Singleton y Rossi, 1965). Los resultados se expresaron en mg de ácido gálico por litro. El contenido total en antocianos monoméricos se determinó a través del método de

modificación del color en base al pH (Giusti y Wrolstad, 2005). Los resultados se expresaron como mg de 3-monoglucósido de cianidina ($PM = 449.2$ y $\varepsilon = 26.900$) por litro.

Medidas espectrofotométricas directas.

Tras centrifugación, las absorbancias a 420, 520 y 620 nm, permitieron calcular los porcentajes amarillo, rojo, y azul, respectivamente, con respecto a la suma de las tres absorbancias, así como la tonalidad (A_{420}/A_{520}). La absorbancia a 280 nm es indicativa de la riqueza global en compuestos fenólicos (índice de polifenoles totales, IPT).

Densidad de color, color polimérico, índice de degradación de antocianos, pardeamiento.

La lectura de las absorbancias a 420, 520 y 700 nm, antes y después de decolorar los jugos con dióxido de azufre, permitieron medir la densidad de color (DC), el color polimérico (CP, densidad de color tras decoloración con dióxido de azufre), y %CP (proporción de color polimérico con respecto a la densidad de color de los jugos), de acuerdo al método de Giusti y Wrolstad (2005). Estos parámetros permiten poner de relieve la degradación de los antocianos monoméricos y su transformación en pigmentos “poliméricos” resistentes a la acción decolorante del dióxido de azufre, que conducen a una modificación del color hacia tonalidades amarillo-anaranjadas (pardeamiento o absorbancia a 420 nm).

Análisis mediante HPLC-PAD de antocianos y betalaínas.

El análisis HPLC se realizó en un cromatógrafo Waters 2695 y un detector PDA Waters 996. Se utilizaron como referencia los métodos de Vasco et al. (2009) y Stintzing et al. (2006). Columna LiChroCART Purospher Star RP-18e (250×2 mm d.i., 5 μ m, Merck, Alemania) con precolumna Purospher (4 x 4 mm, 5 μ m). Acido fórmico en agua (5:95) como solvente A, y acetonitrilo como B. Gradiente: 5 a 10% B en 5 min, 10% B durante 5 min, 10 a 42% B en 20 min. Flujo: 0,2 mL/min. Temperatura: 25°C. Inyección directa (20 μ l) tras filtración. Se registró el espectro de absorción entre 250 y 550 nm. En base a los respectivos patrones comerciales se identificaron la betalaína betanidina-5-glucósido y los antocianos cianidina-3-rutinósido y cianidina-3-glucósido.

RESULTADOS

Efecto de la pasteurización.

En la **tabla 2** (ANOVA) y en las **figuras 1 y 2** (análisis de componentes principales) se puede comprobar cómo el tratamiento de pasteurización modificó notablemente el color y la composición fenólica de los jugos.

Tabla 2. Efecto de la pasteurización sobre el valor promedio de los parámetros de color y composición fenólica

Parámetro	Valor p	Antes de pasteurización	Después de pasteurización	Variación (%)
Polifenoles totales (mg/L)	0,0001	517	439	-15
Antocianos monoméricos (mg/L)	0,0019	117	106	-9
Índice de polifenoles totales (IPT)	0,0063	25	21	-16
Densidad de color (DC)	0,0003	9.4	7.2	-23
Color polimérico (CP)	0,0001	4.0	7.1	78
% Color polimérico (%CP)	0,0001	43	76	77
Pardeamiento (A420)	0,0001	0.15	0.21	40
% Amarillo	0,0001	29	37	28
% Rojo	0,0001	67	55	-18
% Azul	0,0001	4	8	100
Tonalidad (Ton)	0,0001	0.4	0.7	75

Existieron diferencias significativas (test HSD de Tukey, $p < 0.05$) en todos los parámetros analizados. La pasteurización provocó un descenso en el contenido en compuestos fenólicos. Aunque la disminución del contenido en antocianos monoméricos fue menor que el 10%, la densidad de color disminuyó en mayor medida, observándose un incremento muy notable de la fracción de color asignable a compuestos antociánicos no monoméricos, resistentes a la decoloración mediante dióxido de azufre. El incremento del color polimérico fue paralelo al observado en la tonalidad, resultado de un descenso de la absorbancia a 520 nm y un aumento del valor de pardeamiento (A420 nm).

Efecto de la formulación.

Los análisis de regresión derivados del diseño de mezclas (**tabla 3**) y el análisis de componentes principales (**figuras 1 y 2**) pusieron de relieve que la materia prima con un efecto más significativo sobre las características evaluadas fue la mora andina. Al incrementarse la presencia de *Rubus glaucus* aumentó drásticamente el contenido en antocianos y polifenoles totales, la densidad de color a 520 nm, y el porcentaje de azul en el color de los jugos, así como disminuyeron la proporción de dicho color atribuible al color polimérico. Los pigmentos presentes en la remolacha son del tipo betalaínas, no existiendo en ella antocianos. Esto tiene su reflejo en las ecuaciones obtenidas.

Tabla 3. Coeficientes de las ecuaciones de regresión lineal obtenidas para algunas variables analíticas

Parámetro	Mora	Fresa	Tomate	Remolacha	R ²
Polifenoles totales (mg/L)	854	215	373	-263	83,9%
Antocianos monoméricos (mg/L)	295	38	-54	-155	90,4%
Índice de polifenoles totales (IPT)	39	11	17	-3	76,8%
% color polimérico (%CP)	-61	157	51	136	89,0%

El aumento de la proporción relativa de remolacha hizo disminuir el contenido en polifenoles totales y antocianos, y hace aumentar el valor del porcentaje de color polimérico. Algo semejante ocurrió con el tomate de árbol, en lo que respecta al contenido en antocianos. Al tratarse de una variedad amarilla su presencia no incorpora antocianos adicionales. La fresa incidió solo ligeramente en el aumento de la concentración en antocianos, mientras que tuvo un efecto marcado de signo positivo en el aumento de la proporción de color polimérico.

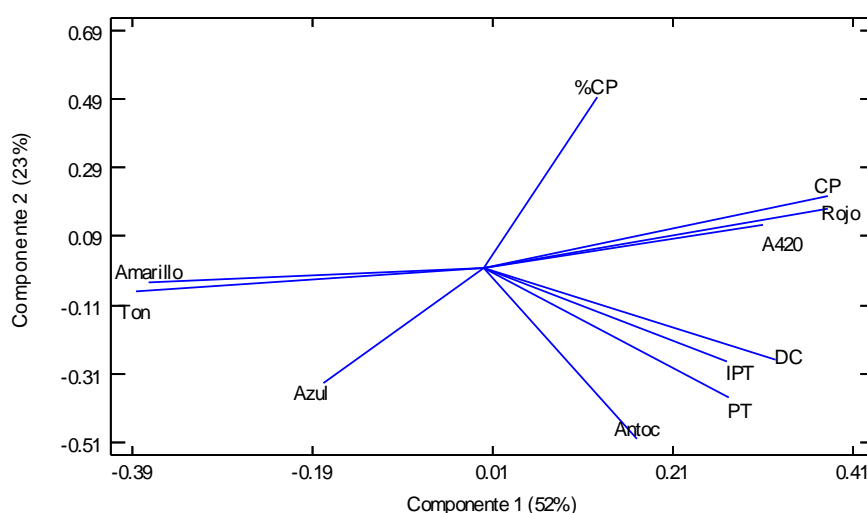


Figura 1. Pesos de las variables analíticas en los dos primeros componentes principales

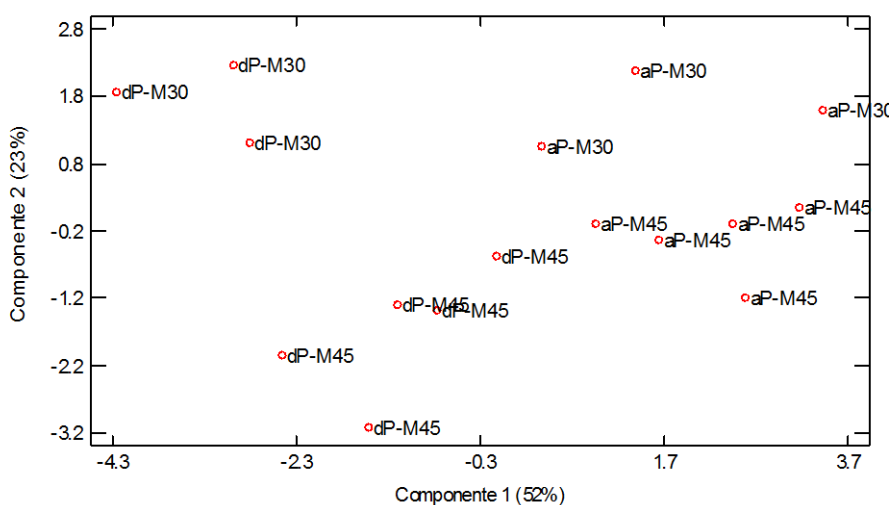


Figura 2. Distribución de los jugos de acuerdo a los dos primeros componentes principales (aP y dP, antes y después pasteurización, respectivamente; M30 y M40, jugos con 30% y 40% de mora andina, respectivamente)

Efecto de la temperatura de almacenamiento.

En la **figura 3** se puede apreciar la evolución de algunas de las variables analíticas durante su almacenamiento a 20 y 30°C. Se comprueba que el esperable descenso del contenido en polifenoles toales y antocianos, y el consiguiente aumento del pardeamiento y proporción de color polimérico, se produjeron con mayor celeridad a mayor temperatura de almacenamiento.

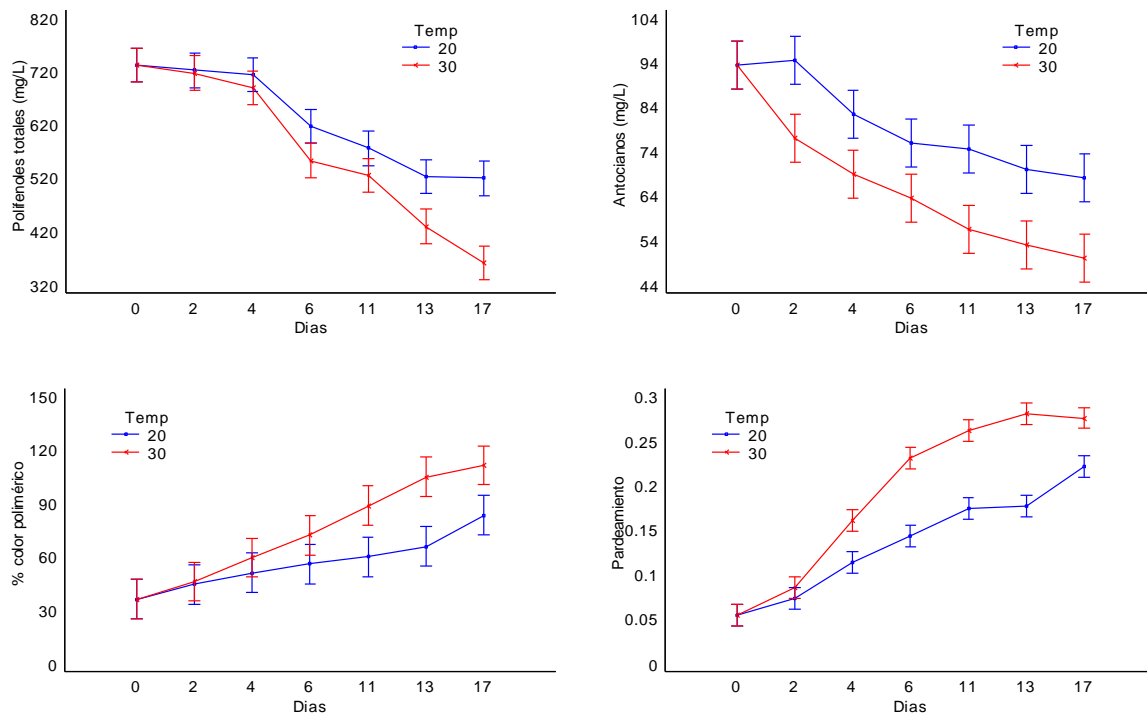


Figura 3. Evolución del contenido en polifenoles totales y antocianos monoméricos, del porcentaje de color polimérico y del pardeamiento en un jugo almacenado a 20 y 30°C.

Análisis HPLC-PAD.

El análisis mediante HPLC-PAD (**figura 4**) permitió constatar la presencia en el jugo analizado de tres pigmentos mayoritarios, los antocianos 3-rutinósido de cianidina y 3-glucósido de cianidina, y la betalaína betanina o 5-glucósido de betanidina. Este último procede evidentemente de la remolacha roja, donde es mayoritaria en la mayor parte de las variedades (Stintzing et al. 2006, Kujala et al. 2002).

El rutinósido de cianidina procede sin ninguna duda fundamentalmente de la mora andina, donde se ha demostrado repetidamente que es mayoritario, seguido del glucósido de cianidina (Arozarena et al. 2012, Mertz et al. 2007). Todos ellos se identificaron con el correspondiente patrón comercial.

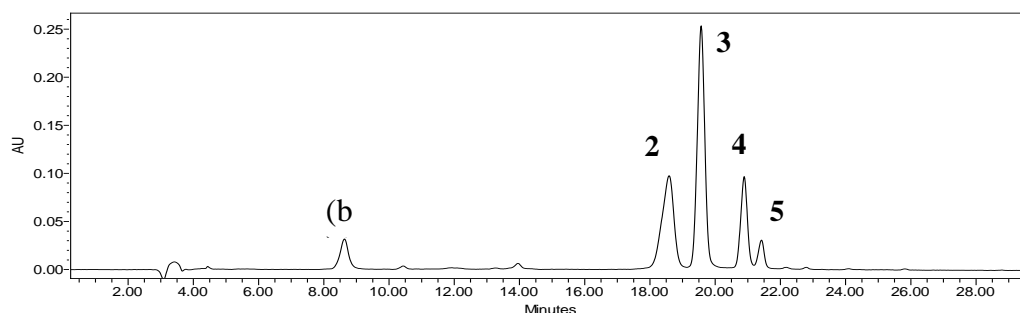


Figura 4. Cromatograma a 520 nm del jugo...
Pico 1. Betanidina-3-glucósido, Pico 2. Cianidina-3-glucósido, Pico 3. Cianidina-3-rutinósido, Picos 4 y 5. Compuestos antocianicos no identificados

Los compuestos correspondientes a los picos 4 y 5, presentaron un espectro de absorción con un marcado hombro en la longitud de onda cercana a los 430 nm (**figura 5**), aspecto característico del espectro de los glicósidos de pelargonidina, que también han sido detectados en la mora andina (Garzón et al., 2009).

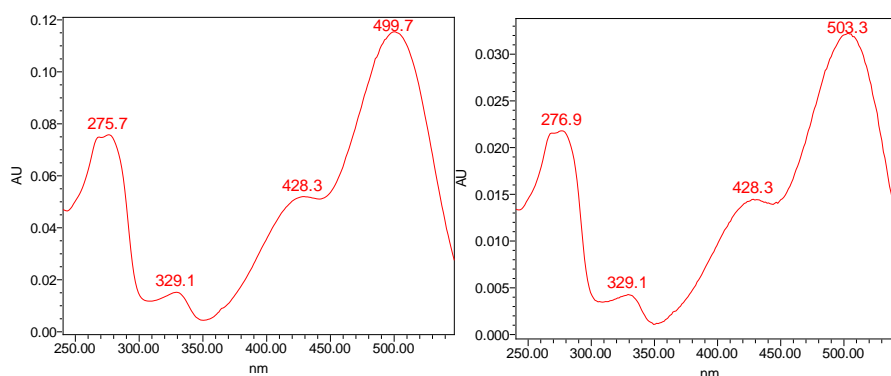


Figura 5. Espectro de absorción de los picos 4 y 5.

CONCLUSIONES

En el marco del diseño de mezclas realizado, se constató que la mora andina fue el ingrediente con un efecto más marcado sobre las características de color y composición fenólica de los jugos obtenidos. Tanto la pasteurización como el almacenamiento de los jugos a temperaturas moderadamente altas influyeron notablemente en dichas características, provocando una pérdida de riqueza polifenólica, y una modificación del color hacia intensidades más bajas y tonalidades menos rojizas. Finalmente, el análisis por cromatografía permitió constatar la presencia de cinco pigmentos mayoritarios. Los antocianos muy probablemente procedieron de la mora andina, mientras que la única betalaína claramente detectada fue aportada por la remolacha roja.

BIBLIOGRAFÍA

Arozarena I., Ortiz J., Hermosín-Gutiérrez I., Urretavizcaya I., Salvatierra S., Córdova I., Marín-Arroyo M.R., Noriega M.J., Navarro M. 2012. Color, ellagitannins, anthocyanins and antioxidant activity of Andean blackberry (*Rubus glaucus* Benth.) wines. *J Agric Food Chem* 2010, 60:7463-7473

Estupiñan, D.C.; Schwartz, S.J.; Garzón, G.A. Antioxidant Activity, total phenolics content, anthocyanin, and color stability of isotonic model beverages colored with Andes berry (*Rubus glaucus* Benth) anthocyanin powder. *J Food Sc.* 2011, 76, S26-S34.

Garzón, G.A.; Riedl, K.M.; Schwartz, S.J. Determination of anthocyanins, total phenolic content, and antioxidant activity in Andes berry (*Rubus glaucus* Benth). *J Food Sci* 2009, 74, 227-232.

Giusti M., Wrolstad R.E. 2005. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy, en *Handbook of food analytical chemistry. Pigments, colorants, flavors, texture and bioactive food components*, editado por Wrolstad R.E. et al., John Wiley & Sons, Inc., New Jersey, USA. (p. 19-31).

Kujala S., Vienola M.S., Klika K.D., Loponen J.M., Pihlaja K. Betalain and phenolic compositions of four beetroot (*Beta vulgaris*) cultivars. *Eur Food Res Technol* 2002. 214:505–510

Meret, M.; Brat, P.; Mertz, C.; Lebrun, M.; Günata, Z. Contribution to aroma potential of Andean blackberry (*Rubus glaucus* Benth.). *Food Res Int* 2011, 44, 54–60.

Mertz, C.; Cheynier, V.; Günata, Z.; Brat, P. Analysis of phenolic compounds of two blackberry species (*Rubus glaucus* and *Rubus adenotrichus*) by High-Performance Liquid Chromatography with Diode Array Detection and Electrospray Ion Trap Mass Spectrometry. *J Agric Food Chem* 2007, 55, 8616-8624.

Mertz, C.; Gancel, A.L.; Günata, Z.; Alter, P.; Dhuique-Mayer, C.; Vaillant, F.; Perez, A.M.; Ruales, J.; Brat, P. Phenolic compounds and antioxidant activity of three tropical fruits. *J Food Comp Anal* 2009, 22, 381-387.

Ortiz J., Marín-Arroyo M., Noriega-Domínguez M.J., Navarro M., Arozarena I. Color, phenolics, and antioxidant activity of blackberry (*Rubus glaucus* Benth.), blueberry (*Vaccinium floribundum* Kunth.), and apple wines from Ecuador. *J Food Sci* 2013, 78: C985-993.

Schreckinger, M.E.; Lotton, J.; Lila, M.A.; Gonzalez de Mejia, E. Berries from South America: a comprehensive review on chemistry, health potential and commercialization. *J Med Food* 2010, 233-246.

Singleton V.L., Rossi J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagent. *Am J Enol Vitic* 1965. 16: 144-158.

Stintzing F.C., Trichterborn J., Carle R. Characterisation of anthocyanin–betalain mixtures for food colouring by chromatic and HPLC-DAD-MS analyses. *Food Chem* 2006. 94: 296–309

Vasco, C.; Riñen, K.; Ruales, J.; Kamal-Eldin, A. Phenolic compounds in *Rosaceae* fruits from Ecuador. *J. Agric Food Chem* 2009, 57, 1204-1212.

Vasco, C.; Ruales, J.; Kamal-Eldin, A. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits of Ecuador. *Food Chem* 2008, 111, 816-823.

CRISTALIZAÇÃO DE LACTOSE EM SORO DE LEITE PURIFICADO

Gustavo Araújo Teixeira^{1,2}, Ricardo Amâncio Malagoni¹, José Roberto Delalibera Finzer^{1,3}

¹ Universidade Federal de Uberlândia, Faculdade de Engenharia Química, Av. João Naves de Ávila 2121, Campus Santa Mônica, Bloco 1K, Uberlândia – MG, Brasil.

² Universidade Federal do Triângulo Mineiro, ICTE, Engenharia de Alimentos, Av. Dr. Randolpho Borges Júnior, 1250, Campus Univerdecidade, Uberaba –MG, Brasil.

³ Universidade de Uberaba, Faculdade de Engenharia Química, Av. Nenê Sabino, 180, Bairro Universitário, Campus Aeroporto, Uberaba – MG, Brasil.
gustavo.at@hotmail.com; malagoni@feq.ufu.br; jrdfinzer@pq.cnpq.br

1. INTRODUÇÃO

Na atualidade, há um crescente interesse em novas aplicações para o soro de leite e seus derivados em vários produtos alimentares e na indústria farmacêutica. O Brasil é o sexto maior produtor mundial de queijos. Em média, 10 L de leite são necessários para a produção de 1 kg de queijo, resultando em um subproduto de 8 a 9 L de soro de leite. Isso equivale a 5 milhões de toneladas de soro de leite produzidas anualmente (SOUZA *et al.*, 2010).

O soro lácteo é definido como a fração aquosa do leite que é separada da caseína durante a produção de queijos, correspondendo a cerca de 90% do volume do leite, que depende do tipo de queijo processado (CAMARGO *et al.*, 2000). Os sólidos do soro representam 50 a 70% dos sólidos totais do leite. O soro contém proteínas (cerca de 13%), lactose (50-70%), gorduras (cerca de 12%), minerais e vitaminas (DUARTE e MÍDIO, 1997).

A lactose é muito utilizada na indústria, por exemplo, como ingrediente em fórmulas infantis e na indústria farmacêutica, como excipiente de medicamentos. Na forma natural, a lactose é utilizada como substrato para fermentação por microrganismos selecionados, originando diversos produtos, como bebida látea fermentada (HARPER, 1992).

A Figura 1 apresenta dados de produção, estoque e preço da lactose nos últimos anos, nos Estados Unidos, que é o maior produtor mundial.

A possibilidade de produção de cristais puros e distribuição de tamanho de cristais controlada tem tornado a cristalização uma das mais importantes técnicas de purificação na indústria de açúcar e de laticínios. Apenas resfriamento e aquecimento são empregados para criar a supersaturação na cristalização de lactose a partir de soro de leite purificado, subproduto do processo de produção de queijos ou de proteínas (VU *et al.*, 2006).

A cristalização da alfa-lactose monohidratada a partir de soluções aquosas supersaturadas foi estudada com muitos detalhes nos últimos anos. A utilização da forma batelada leite vibrado tem utilização comprovadamente mais eficiente em relação aos métodos convencionais, principalmente na qualidade final de produtos (TEIXEIRA *et al.*, 2012).

No presente trabalho objetiva-se o estudo do processo de cristalização de lactose em leite vibrado, utilizando soro ácido concentrado e purificado, e a taxa de crescimento de cristais no processo.

2.MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Purificação do soro

A purificação do soro de leite visa a remoção das moléculas de gordura, proteínas e impurezas que são inibidoras da cristalização da lactose (BRITO, 2007).

Para o processo de purificação foi utilizado um coagulante orgânico, o TANFLOC[®], ou tanato quaternário de amônio, um polímero catiônico biodegradável.

O soro tratado nas concentrações indicadas na Tabela 1, foi submetido a agitação, utilizando um agitador magnético (Tecnal, TE-085), por 10 min (900-1000 rpm) seguido por agitação branda (500-600 rpm) durante 5 min. A solução foi colocada sob repouso em um balão de separação durante 2 h, para separação do precipitado.

O soro purificado foi centrifugado para separação dos flocos em suspensão por 5 min e a 5000 rpm, usando uma centrífuga (Beckman Coulter, J26). Amostras foram submetidas à análise de gordura (método de Gerber), proteína (método de Lowry) e lactose (método de DNS), para verificação da purificação. Para os dois últimos componentes, foi usada uma curva de calibração, utilizando albumina e lactose PA, respectivamente.

2.2. Concentração do soro de leite

O soro purificado e centrifugado foi submetido ao processo de concentração, usando um rotoevaporador Quimis Q434M2. A quantidade de soro a ser concentrada foi calculada pela relação entre a concentração da lactose na solução inicial (método DNS) e a concentração final desejada de 46% (m/m), baseado em estudos preliminares. O rotoevaporador operou sob vácuo e à temperatura de 85°C, com remoção aproximada de 7,5 mL de água/min.

2.3. Operação de cristalização

A cristalização de lactose foi realizado utilizando-se um cristalizador batelada leito-vibrado encamisado, à temperatura de 50°C, controlada por um banho termostatizado (TECNAL, TE – 184) , com base nos estudos de SHI *et al.* (2006), que previa melhores condições e operação na região metaestável descrita por Wong *et al.* (2012). A unidade experimental de cristalização utilizada neste trabalho foi descrita com detalhes em Teixeira *et al.* (2012).

A solução de soro concentrado, inicialmente a 74°C foi inserida no cristalizador, já ajustado a essa temperatura, a qual foi submetido a um resfriamento até a temperatura de 50°C, sob vibração (315 rpm), amplitude de vibração foi $4,855 \times 10^{-3}$ m sendo $A\omega^2/g$ igual a 0,54, obtendo-se uma solução supersaturada (ver Figura 2), na região metaestável não ocorre nucleação. O número adimensional de vibração (Equação 1) associa a frequência angular de vibração (ω), amplitude gerada pelo agente excitador (A) e a aceleração gravitacional (g).

$$\Gamma = \frac{A\omega^2}{g} \quad (1)$$

A cristalização inicia-se com a semeadura de 0,18 kg de sementes/L de soro concentrado. As sementes foram obtidas de uma solução de lactose comercial saturada à temperatura de 60°C, submetida a um processo de resfriamento até 7°C, na qual permaneceu por 24 h. Os cristais obtidos foram separados e selecionados em uma faixa de peneiras de Tyler de 200 a 500 malhas, resultando em diâmetro de Sauter de $6,638 \pm 0,058 \times 10^{-6}$ m, quantificados em um equipamento MalvernMastersizer.

Após a semeadura, a primeira amostragem foi realizada após 20 min, que se repetiu, periodicamente, de 30 em 30 min. A cristalização teve duração de 2 h e 11 min.

A amostragem consistiu na retirada de 3 mL da suspensão entre dois pratos superiores do agitador vibratório, com o uso de uma pipeta. Imediatamente, efetuou-se filtração a vácuo dos cristais (bomba Quimis, 355 B2) com funil de Buchner equipado com uma tela Tyler de 600 malhas, estando o conjunto de filtração acondicionado na mesma temperatura da solução. Os cristais filtrados foram lavados com álcool etílico anidro, no qual a lactose é insolúvel, e posteriormente secados a 60°C por 24h (estufa Medicate, MD 1.3). Uma amostragem de 1 mL das águas mães foi efetuada no início da operação, com a solução estava à 74°C, e ao final da cristalização. A massa e o tamanho médio de cristais (Mastersizer) foram quantificados para cada amostragem realizada.

2.4. Cinética de crescimento

A taxa linear de crescimento dos cristais é obtida indiretamente, a partir da taxa de crescimento mássica ou volumétrica. Cada face dos cristais contribui de forma diferente para o aumento da massa e que os cristais individuais podem crescer com diferentes velocidades, essa medida possibilita obter um valor médio da velocidade linear de crescimento.

De acordo com Jones (2002), a taxa de crescimento dos cristais (G) pode ser calculada por meio da taxa de variação da dimensão característica como apresentado na Equação (2).

$$G = \frac{dD}{dt} \quad (2)$$

3.RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Purificação do soro

Os testes realizados para determinação da concentração de flocculante a ser utilizado na purificação do soro, apresentaram os seguintes resultados em relação às concentrações iniciais e finais de lactose, gordura e proteína (Tabela 2).

Dos resultados das análises (Tabela 2), verifica-se que as amostras 1, 3 e 4 apresentaram maiores remoções de gordura. Quanto à análise de lactose, as amostras 3 e 5 apresentaram maior remoção. Já nas análises de proteína, as maiores remoções se deram nas amostras 4, 5 e 6. Como resultado, selecionou-se a amostra 4, tratada com 2 mL de Tanfloc/L de soro, como a purificação mais eficiente.

3.2. Produtividade mássica

O experimento de cristalização de lactose no soro de leite purificado foi realizado em triplicata. Os resultados são apresentados na Tabela 3.

Os resultados mostram um aumento da massa de cristais com o tempo de cristalização e, conseqüentemente, o tamanho cristalino. Isso já era esperado, pois a operação foi conduzida dentro da zona metaestável.

A massa específica para a solução inicial, a 74°C, foi de $1140,8 \pm 14,8 \text{ kg.m}^{-3}$.

A amostragem da solução ao final da operação permitiu a quantificação do teor de lactose, que foi de $240,43 \text{ kg.m}^{-3}$, resultando em um acréscimo de $89,51 \times 10^{-3} \text{ kg}$ na massa de sementes inserida no início do processo, que representou um aumento percentual de 179%.

3.3. Tamanho médio de produtos

O tamanho médio dos cristais apresentaram os resultados mostrados na Tabela 4. Ocorreu crescimento dos cristais em função do tempo, como era previsto pelo aumento de massa.

O tamanho médio dos cristais, já na primeira amostragem, encontra-se abaixo do tamanho médio das sementes inseridas, o que poderia sugerir que os cristais diminuíssem de tamanhos. Contudo, isso é resultado direto da localização da região de amostragem, realizada na porção central do topo do leite, na qual há maior circulação de partículas de tamanhos menores (PEREIRA, 1997).

Usando a Equação (3), calcula-se o número de sementes (McCABE et al., 1993):

$$N_P = \frac{1}{\alpha \cdot \rho_B} \cdot \frac{1}{(D_S)^3} \quad (3)$$

Onde N_P representa o número de partículas por unidade de massa, α o fator de forma volumétrico para cristais de lactose, ρ_B a massa específica da lactose e D_S o diâmetro médio (Sauter) das partículas inseridas na sementeira. A massa específica da lactose é 1540 kg/m^3 e o fator de forma volumétrico de 0,2667 (MONTES, 2004).

O número total de partículas inseridas na sementeira foi de $42,34 \times 10^{10}$ partículas.

Considerando uma massa final de cristais ($139,51 \times 10^{-3} \text{ kg}$), e utilizando o diâmetro equivalente da esfera de mesmo volume que os cristais, pode-se obter o tamanho médio final de $7,42 \times 10^{-6} \text{ m}$, o que comprovou a influência direta do ponto de amostragem utilizado nos dados de tamanho médio.

3.4. Cinética de crescimento cristalino

Para os três experimentos realizados, foram realizados ajustes dos dados da Tabela 4, para obtenção de equações de regressão polinomiais do tamanho médio dos cristais em função do tempo, utilizando o método Quase Newton. Os ajustes realizados resultaram em, com coeficientes de correlação quadráticos (r^2) de 0,98; 1,00 e 1,00.

Utilizando a Equação (2), obteve-se a Tabela 5, que relaciona a taxa de crescimento dos cristais em função do tempo.

Ocorreu uma maior taxa de crescimento no início do processo de cristalização, no qual há uma maior quantidade de soluto disponível para transferência aos sólidos, sendo maior a força motriz disponível para transferência de massa.

4. CONCLUSÃO

A cristalização de lactose usando soro de leite purificado, operando em condições ótimas (TEIXEIRA *et al.*, 2013) e com semeadura, proporcionou um aumento percentual na massa de cristais de 179%, o que destaca a produtividade do processo. O tamanho médio dos cristais obtidos foi de $7,42 \cdot 10^{-6}$ m. A taxa de crescimento, alcançou valores elevados no início da cristalização. O floculante utilizado na concentração de 2 ml/L de soro, promoveu uma remoção de 90% de gorduras, 40% de proteínas e manteve a concentração de lactose quase inalterada, com remoções aproximadas de 2%.

REFERÊNCIAS

- Brito, A. B. N. Estudo da cristalização de lactose em diferentes solventes. 2007. 132 p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2007.
- Camargo, D.S.; Alves, G.; Garcia, S. Bebida fermentada à base de soro de leite e isolado protéico de soja. *Semina*, v.21, p.45-51, 2000.
- CLAL [Internet]. [Italia]; c2009 [acesso em 2013 out 16]. Disponível em: <http://http://www.clal.it/>.
- Duarte, M.; Mídio, A.F. Soro lácteo: características nutricionais e riscos na sua utilização. *Hig. Alim.*, v.11, p.23-26, 1997.
- Fox, P. F. *Advanced dairy chemistry: lactose, water, salts and vitamins*. London. 2. ed. Chapman & Hall. 1997. 421 p.
- Harper, W. J. Lactose and lactose derivatives. In: ZADOW, J.G., *Whey and lactose processing*, Elsevier Appl. Sci. , London England, p. 317-360, 1992.
- Jones, A. G. *Crystallization process systems*. 1. ed. Oxford: Butterworth- Heinemann, 2002. 341p.
- Mccabe, W.L.; Smith, J.C.; Harriott. *Unit Operations of Chemical Engineering*. 5 ed. New York: McGraw-Hill, 1993. 1130 p.
- Montes, E. J. M. Influência das variáveis de processo na cristalização de lactose. 2004. 103 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2004.
- Pereira, A. G. Cristalização de sacarose em leite vibro-jorrado. 1997. 144 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 1997.
- Shi, Y., Liang, B., Hartel, R. W., (2006). Crystal refining technologies by controlled crystallization (US 2006/0128953 A1).
- Souza, R.R.; Bergamasco, R.; Costa, S.C.; Feng, X.; Faria, S.H.B.; Gimenes, M.L. Recovery and purification of lactose from whey. *Chemical Engineering and Processing*, v.49, p. 1137–1143, 2010.
- Teixeira, G. A.; Brito, A. M.; Lopes, L. F.; Finzer, J. R. D.; Malagoni, R. A. Um estudo experimental sobre a cristalização de lactose utilizando leite vibrado. *Anais XXXVI ENEMP*, 2013.

Teixeira, G. A.; William, F. V.; Finzer, J. R. D.; Malagoni, R. A. Operational optimization of anhydrous citric acid crystallization using large number of seed crystals. *Powder Technology*, v.217, p.634–640, 2012.

Vu, T.T.L.; Durham, R.J.; Hourigan, J.A.; Sleight, R.W. Dynamic modeling optimisation and control of lactose crystallisations: comparison of process alternatives. *Separation and Purification Technology*, v.48, p.159–166, 2006.

Wong, S. Y.; Bund, R K.; Connelly, R. K.; Hartel, R. W. Designing a lactose crystallization process based on dynamic metastable limit. *Journal of Food Engineering*, v.111, p. 642–654, 2012.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais – FAPEMIG pelo suporte dado à apresentação deste trabalho no CIBIA 9.

FIGURAS

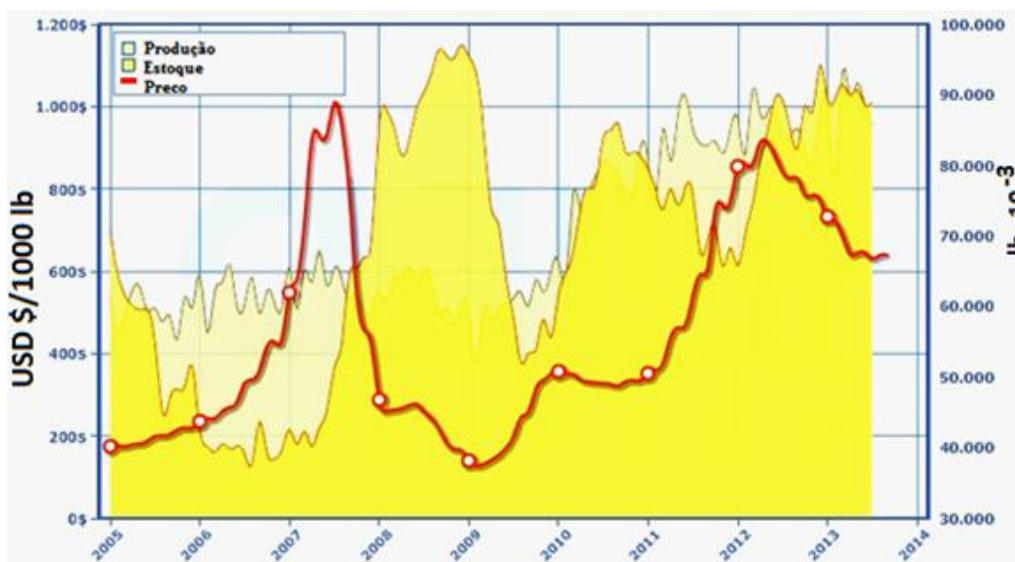


Figura 1 – Histórico comparativo entre a produção, estoque e preço da lactose nos EUA (CLAL, 2013).

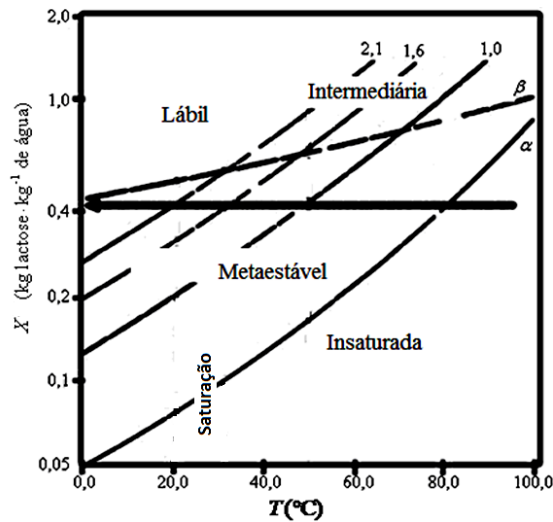


Figura 2. Curvas de saturação e de supersaturação (FOX, 1997).

Tabela 1 – Concentração de Tanfloc para cada amostra.

Amostra	C (mL/L de soro)
1	0,5
2	1,0
3	1,5
4	2,0
5	2,5
6	3,0

Tabela 2–Dados de concentração para as diferentes amostras de soro purificado.

Amostra	$C_{Lactose} \pm \varepsilon$ (%)	$C_{Gordura}$ (%)	$C_{Proteínas}$ (%)
1	4,98±0,17	0,05	0,6411
2	4,60±0,30	0,1	0,6311
3	4,39±0,33	0,05	0,5878
4	4,47±0,27	0,05	0,4556
5	4,25±0,28	0,1	0,5733
6	4,68±0,19	0,1	0,5722
soro	5,06±0,44	0,5	0,7617

Tabela 3–Dados de produtividade mássica para os testes de cristalização.

Teste	1	2	3
t (min)	m (g/mL amostrado)	m (g/mL amostrado)	m (g/mL amostrado)
20	0,1880	0,2334	0,2565
50	0,2367	0,2488	0,2945
80	0,2667	0,2403	0,3083
110	0,2243	0,2861	0,3051
131	0,2938	0,3070	0,3203

Tabela 4 – Dados de tamanho médio de cristais para os testes de cristalização.

Teste	1	2	3
t (min)	$D_{Sauter} \times 10^6$ (m)	$D_{Sauter} \times 10^6$ (m)	$D_{Sauter} \times 10^6$ (m)
20	5,207	5,089	5,167
50	5,549	4,961	5,627
80	5,693	5,190	5,970
110	5,706	5,323	5,524
131	6,126	5,431	6,991

Tabela 5 – Taxa de crescimento nos testes de cristalização.

Teste	1	2	3
t (h)	$G \times 10^6$ (m.h ⁻¹)	$G \times 10^6$ (m.h ⁻¹)	$G \times 10^6$ (m.h ⁻¹)
0,33	1,400	-	1,203
0,83	0,296	0,109	0,720
1,33	0,028	0,227	0,736
1,83	0,598	0,297	1,251
2,18	1,494	0,316	1,908

COMPARACIÓN DE MÉTODOS DE PRETRATAMIENTO DE LAS PEPITAS DE UVA PARA SU APROVECHAMIENTO EN LA OBTENCIÓN DE EXTRACTOS POLIFENÓLICOS CON ELEVADA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

Marín-Arroyo, María R.*; Larrea Posadas, J.; Navarro Huidobro, M.; Arozarena Martinicorena, I.

Grupo de Investigación AENOLTEC, Departamento de Tecnología de Alimentos, Universidad Pública de Navarra. Campus Arrosadía s/n, 31006 Pamplona, España.

* E-mail: remedios.marin@unavarra.es

INTRODUCCIÓN.

Los polifenoles son compuestos bioactivos antioxidantes que actúan beneficiosamente sobre la salud secuestrando radicales libres, actuando como agentes quelantes de metales pro-oxidantes y también interviniendo en ciertas rutas metabólicas previniendo la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) o la acción degeneradora de los radicales libres sobre el ADN (Hollman *et al.*, 2011; Martínez Flórez *et al.*, 2002; Yamakoshi *et al.*, 1999).

Por otra parte, las propiedades antioxidantes de estos compuestos permiten su uso como inhibidores de la oxidación en diversos alimentos, alargando así su vida útil (Estévez *et al.*, 2007; Tanabe *et al.*, 2002; Vuorela *et al.*, 2005; Ahn *et al.*, 2008).

A lo largo del proceso de elaboración del vino se generan diversos subproductos (hollejos, pepitas ...) caracterizados por un elevado contenido polifenólico con propiedades antioxidantes (Carrera *et al.*, 2012; Casazza, *et al.*, 2010 y 2012). Las pepitas de uva son una rica fuente de fenoles monoméricos así como de procianidinas diméricas, triméricas y tetraméricas. Existen antecedentes sobre el empleo de procianidinas de semillas de vid como antioxidante en distintos productos alimentarios, tales como carne de vaca, carne de pavo, pescado azul y aceites de algas. (Ahn *et al.*, 2002; Lau *et al.*, 2003; Hu *et al.*, 2004; Ozoglu *et al.*, 2002).

El interés en la obtención de extractos polifenólicos con elevada actividad antioxidante, para su uso en industrias como la alimentaria o la cosmética, supone una nueva vía de valorización de subproductos de la vinificación como las pepitas de uva.

Para ello, uno de los principales problemas a resolver es el tratamiento de la muestra previo a la extracción, con el fin de evitar la pérdida de los compuestos fenólicos o bien de su capacidad antioxidante. En gran parte de los casos se utiliza como tratamiento previo el secado de las muestras en hornos convencionales a elevada temperatura durante tiempos

largos; algunos incluyen tratamientos a vacío, pero muy pocos usan la tecnología de la liofilización (Pinelo *et al.*, 2006; Makris *et al.*, 2007).

El objetivo de este trabajo es por tanto el estudio del efecto que los pretratamientos de secado por liofilización y secado en estufa a vacío tienen sobre el contenido en polifenoles totales y actividad antioxidante de extractos de semilla de uva.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para el estudio se utilizaron pepitas de uva de la variedad tempranillo que habían sido almacenadas a -20°C en atmósfera de nitrógeno. Previo a los tratamientos de secado, las pepitas se molieron con un molinillo de café hasta obtener una masa uniforme.

El secado a vacío se llevó a cabo en una secadora marca Binder en la que se fijaron las condiciones de 50°C y a una presión de 200 mbar. El proceso duró 120 minutos, obteniéndose una humedad final de la muestra del 4,43%.

El tratamiento de liofilización se realizó en un equipo semi-industrial Lyobeta-25 bajo las siguientes condiciones:

- Tiempo total de proceso: 22 horas
- Congelación: desde temperatura inicial a -45°C en 30 minutos
- Secado primario: mantener a -45°C durante 10 horas.
- Vacío: 0,250 mbar.
- Llevar de -45°C a 0°C en 30 minutos, a 0,250 mbar.
- Secado secundario: mantener a 0 °C y 0,250 mbar durante 11 horas

La muestra final presentó una humedad del 4,05%

Tras los pretratamientos de secado las muestras obtenidas fueron molidas de nuevo y se tamizaron para obtener un tamaño de partícula comprendido entre 200 y 450 µm. Se almacenaron a -20°C en atmósfera de nitrógeno hasta el momento de la obtención de los extractos.

Se llevaron a cabo por triplicado extracciones sólido/líquido (etanol:agua 50:50 y relación líquido/sólido 40 ml/g) de 120 minutos de duración a diferentes temperaturas (20, 30, 40 y 50 °C). Los extractos obtenidos se centrifugaron a 5°C durante 10 minutos a 9.000 r.p.m. (centrífuga Sigma 3K30; Rotor = Mod. 12156, 28611 G) y se almacenaron en atmósfera de nitrógeno a 7°C hasta la realización de los correspondientes análisis.

En los extractos se determinó:

- Contenido en polifenoles totales (TPC) según el método Folin Ciocalteau modificado por Davidov *et al.* (2011). Se utilizó un espectrofotómetro Cintra 20 (GMBH, Alemania) de doble haz realizándose las medidas a 750 nm en una cubeta de 1 cm de paso de luz. El resultado se expresó en mg de ácido gálico por gramo de muestra seca (mg AG/g ms).
- Actividad antioxidante según el método DPPH. Los análisis se llevaron a cabo siguiendo la técnica de Rivero Pérez *et al.* (2007) con algunas modificaciones introducidas por Davidov *et al.* (2011). La absorbancia a 515 nm fue determinada utilizando un espectrofotómetro Cintra 20 (GMBH, Alemania) de doble haz. La actividad antioxidante se expresó como mmoles de Trolox por gramo de extracto seco (mM Trolox/g ms).

Los análisis se realizaron por triplicado.

El análisis estadístico de los resultados obtenidos se llevó a cabo utilizando el programa STATGRAPHICS Centurion XVI.I

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos para los parámetros TPC y DPPH tras la extracción sólido-líquido a diferentes temperaturas de las muestras liofilizadas y secadas a vacío se muestran en la tabla 1.

En cuanto al contenido en polifenoles totales se observa que no aparecen diferencias significativas entre los extractos hasta que se trabaja a una temperatura de 50°C. Este comportamiento es independiente del pretratamiento de secado utilizado. Sin embargo, se observa que, al realizar las extracciones a la mayor temperatura de trabajo, el rendimiento obtenido en polifenoles totales es mayor en el caso de las pepitas secadas por liofilización presentando diferencias significativas respecto a las secadas en estufa a vacío.

Desde un punto de vista cuantitativo los resultados de las pepitas secadas a vacío son semejantes a los obtenidos por Bucic-Kojic *et al.* (2007) para pepitas sin tratamiento previo de secado e idénticas condiciones de extracción a las utilizadas por nosotros (25 mg AG/g ms). Sin embargo, los extractos de las muestras sometidas a liofilización presentan mayor contenido polifenólico que los de estos investigadores.

Por otra parte, Pinelo *et al.* (2006) obtienen, realizando extractos con etanol a 50°C de pepitas secadas durante 48 horas en un horno con recirculación de aire caliente, valores de polifenoles totales (6,9-21,8 mg AG/g ms) inferiores a los obtenidos por nosotros. La mayor

exposición al oxígeno de las muestras de Pinelo podría ser la causante de degradaciones de los componentes polifenólicos, disminuyendo el rendimiento de extracción.

En el caso de la actividad antioxidante, de forma general se pueden apreciar diferencias significativas entre las muestras, tanto para las diferentes temperaturas de trabajo como para los tipos de secado elegidos. Se observa un aumento de la actividad antioxidante al aumentar la temperatura de extracción, aumento que es mayor al alcanzarse la temperatura de 50°C. Por otra parte, son las semillas liofilizadas las que presentan mayores valores de actividad antioxidante.

Aparte del efecto ya esperado de la temperatura de extracción de las muestras, se observa un efecto del pretratamiento de secado en el contenido de polifenoles y la actividad antioxidante. El secado por liofilización ha favorecido la obtención de extractos con mayor riqueza polifenólica y actividad antioxidante, sobre todo en el caso de realizar las extracciones a 50°C de temperatura.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos parecen apoyar la importancia del pretratamiento en el contenido polifenólico y la actividad antioxidante de extractos de pepitas de uva. Un tratamiento de secado en el que la muestra se vea sometida a temperaturas bajas y en el que el contacto con el aire sea reducido, como es el caso de la liofilización, puede favorecer la extracción de los compuestos polifenólicos y la obtención de extractos de pepitas con actividad antioxidante elevada.

BIBLIOGRAFIA

Ahn, J. ; Grun, I. U, Fernando, L.N. (2002). Antioxidant properties of natural plant extracts containing polyphenolic compounds in cooked ground beef. *Journal of Food Science*, 67(4): 1364-1369.

Ahn, J. H. ; Kim Y. P., ; Seo, E. M. ; Choi, Y.K. ; Kim, H.S. (2008). Antioxidant effect of natural plant extracts on the microencapsulated high oleic sunflower oil. *Journal of Food Engineering* 84(2): 327-334

Bucic-Kojic, A.; Planinic, M.; Tomas, S.; Bilic, M.; Velic, D. (2007). Study of solid-liquid extraction kinetics of total polyphenols from grape seeds. *Journal of Food Engineering*, 81(1): 236-242.

Carrera, C.; Ruiz-Rodriguez, A.. (2012). Ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from grapes. *Analytica Chimica Acta* ,732: 100-104.

- Casazza, A. A.; Aliakbarian, B.; De Faveri, D.; Fiori, L.; Perego, P. (2010). Antioxidants from winemaking wastes: A study on extraction parameters using response surface methodology. *Journal of Food Biochemistry*, 36(1): 28-37.
- Casazza, A. A.; Aliakbarian, B.; Mantegna, S.; Cravotto, G.; Perego, P. (2010). Extraction of phenolics from *Vitis vinifera* wastes using non-conventional techniques. *Journal of Food Engineering*, 100(1): 50-55.
- Casazza, A. A.; Aliakbarian, B.; Sannita, E.; Perego, P. (2012). High-pressure high-temperature extraction of phenolic compounds from grape skins. *International Journal of Food Science and Technology*, 47(2): 399-405.
- Davidov-Pardo, G.; Arozarena, I.; Marín-Arroyo, M.R. (2011) Kinetics of Thermal Modifications in a Grape Seed Extract. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 7211–7217
- Estevez, M.; S. Ventanas, S; Cava, R. (2007). Oxidation of lipids and proteins in frankfurters with different fatty acid compositions and tocopherol and phenolic contents. *Food Chemistry*, 100(1): 55-63.
- Hollman, P.C.H.; Cassidy, a.; Comte, B.; Heinonen, M.; Richelle, M.; Richling, E.; Serafini, M.; Scalbert, A.; Sies, H.; Vidry, S. (2011). The biological relevance of direct antioxidant effects of polyphenols for cardiovascular health in humans is not established. *Journal of Nutrition*, 141(5), 989S-1009S.
- Hu, M. ; McClements, D. J. (2004). Antioxidant activity of a proanthocyanidin-rich extract from grape seed in whey protein isolate stabilized algae oil-in-water emulsions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(16): 5272-5276.
- Lau, D. W.; King, A. J. (2003). Pre- and post-mortem use of grape seed extract in dark poultry meat to inhibit development of thiobarbituric acid reactive substances. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(6): 1602-1607.
- Makris, D. P. ; Psarra, E. ; Kallithraka, E. ; Kefalas, P. (2003). The effect of polyphenolic composition as related to antioxidant capacity in white wines. *Food Research International*, 36(8): 805-814.
- Martínez-Flórez, S.; González-Gallego, J.; Culebras, J.M.; Tuñón, M.J. (2002) Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición Hospitalaria*, 17(6), 271-278.
- Ozoglu, H.; Bayndrl, A. (2002). Inhibition of enzymic browning in cloudy apple juice with selected antibrowning agents. *Food Control*, 13(4-5): 213-221.
- Pinelo, M.; Sineiro, J.; Nunez, M.J. (2006). Mass transfer during continuous solid-liquid extraction of antioxidants from grape byproducts. *Journal of Food Engineering*, 77(1): 57-63.
- Rivero-Pérez, M. D.; Muñiz, P.; González-Sanjosé, M. L.(2007). Antioxidant profile of red wines evaluated by total antioxidant capacity, scavenger activity, and biomarkers of oxidative stress methodologies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55 (14), 5476–5483.
- Tanabe, H.; Yoshida, M.; Tomita, N. (2002). Comparison of the antioxidant activities of 22 commonly used culinary herbs and spices on the lipid oxidation of pork meat. *Animal Science Journal* 73(5): 389-393.
- Vuorela, S. ; Salminen, H. ; Makela, M.; Kivikari, R.; Karonen, M.; Heinonen, M. (2005). Effect of plant phenolics on protein and lipid oxidation in cooked pork meat patties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53(22): 8492-8497.

Yamakhosi, J.; Kataoka, S.; Koga, T.; Ariga, T. (1999). Proanthocyanidin-rich extract from grape seeds attenuates the development of aortic atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. *Atherosclerosis*, 142(1), 139-149.

TABLAS

Tabla 1. Contenido en polifenoles totales (TPC) y actividad antioxidante (AA) de los extractos de pepitas de uva ($\mu \pm DS$)

	TPC (Folin)		AA (DPPH)	
	LIOFILIZACIÓN	SECADO POR ESTUFA	LIOFILIZACIÓN	SECADO POR ESTUFA
Tº (°C)	mg AG/g ms	mg AG/g ms	mM Trolox/g ms	mM Trolox/g ms
20	22,92 ± 1,68 ^{aA}	22,55 ± 0,8 ^{aA}	0.1371 ± 0.0041 ^{aA}	0,1175 ± 0,0025 ^{aB}
30	22,98 ± 1,07 ^{aA}	23,21 ± 0,49 ^{aA}	0.1758 ± 0.0032 ^{bA}	0,1604 ± 0,0065 ^{bB}
40	23,68 ± 0,48 ^{aA}	23,65 ± 0,38 ^{aA}	0.1679 ± 0.0094 ^{cA}	0,1630 ± 0,0034 ^{bA}
50	30,93 ± 0,78 ^{bA}	26,30 ± 1,53 ^{bB}	0,2470 ± 0,0025 ^{dA}	0,2113 ± 0,0140 ^{cB}

Letras minúsculas indican diferencias significativas ($\alpha=0,05$) entre las temperaturas de cada tratamiento. Letras mayúsculas indican diferencias significativas ($\alpha=0,05$) entre los métodos de secado para cada temperatura.

EFFECTO DE LA DESHIDRATACIÓN EN LAS PROPIEDADES ÓPTICAS Y MECÁNICAS DE DIFERENTES VARIEDADES DE BERENJENA. ESTUDIO DE LAS CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO.

Acurio, Liliana¹; Casa, Francisco²; Igual, Marta³; Martínez-Navarrete, Nuria⁴; Camacho, María del Mar⁵

¹ Ingeniera en Alimentos, Máster en Ciencia e Ingeniería de los Alimentos
Secretaría Nacional de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación (SENESCYT).
Universidad Técnica de Ambato, Instituto de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo (IU-IAD)

² Ingeniero en Alimentos, Máster en Gestión y seguridad alimentaria
Secretaría Nacional de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación (SENESCYT)
Universidad Tecnológica Equinoccial, Instituto de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo (IU-IAD)

³ Doctora por la Universidad Politécnica de Valencia
Grupo de Investigación e Innovación Alimentaria (CUINA). Departamento de Tecnología de Alimentos. Universidad Politécnica de Valencia. Camino de Vera s/n. 46022. Valencia.

⁴ Doctora en Ciencias Biológicas.
Grupo de Investigación e Innovación Alimentaria (CUINA). Departamento de Tecnología de Alimentos. Universidad Politécnica de Valencia. Camino de Vera s/n. 46022. Valencia.

⁵ Doctora en Ciencias Químicas.
Grupo de Investigación e Innovación Alimentaria (CUINA). Departamento de Tecnología de Alimentos. Universidad Politécnica de Valencia. Camino de Vera s/n. 46022. Valencia.

INTRODUCCIÓN

La berenjena es una hortaliza con renombradas características nutricionales y funcionales. Posee un alto contenido en agua y bajo contenido calórico además de ser una buena fuente de potasio y de vitamina C (Mataix et al., 2003). Contiene compuestos fenólicos con actividad antioxidante a los que se les atribuye propiedades antitumorales, anticolesterolémicas y actividad captadora de radicales libres (Triantis et al., 2005). El consumo de esta hortaliza en fresco sería la mejor forma de aprovechar todas sus propiedades nutritivas. Sin embargo, su estacionalidad y/o su corta vida útil limitan su disponibilidad. Someterla a un tratamiento de secado persigue reducir su humedad a niveles seguros para el almacenamiento (Restrepo & Burbano, 2005).

Tradicionalmente, la industria de alimentos ha recurrido a tratamientos térmicos como el secado por aire caliente (SAC), no obstante, las altas temperaturas durante un tiempo elevado son responsables de importantes pérdidas de color, aroma, flavor, valor nutritivo y funcional (Alibas et al., 2005). Actualmente resulta de gran interés el estudio de tecnologías que no requieren la aplicación de altas temperaturas, como la liofilización (LIF) o las microondas (MW) (Igual et al., 2010). Además de su impacto en el color, valor nutritivo y funcional, en el secado ocurren cambios estructurales que alteran la textura y el cambio en la humedad puede afectar a las características microbiológicas y sensoriales del producto.

La relación entre la a_w y la humedad de equilibrio a una temperatura y presión constante constituye la isoterma de sorción. El conocimiento de esta puede ser útil para seleccionar las condiciones de almacenamiento y predecir la vida útil. En este sentido, el objetivo del trabajo es evaluar el efecto de diferentes tratamientos de deshidratación (SAC, MW y LIF) en las propiedades ópticas y mecánicas de diferentes variedades de berenjena, así como establecer las condiciones óptimas de almacenamiento, a través de las isotermas de sorción.

MATERIALES Y MÉTODOS

Berenjena (*Solanum melongena*) de las variedades CS16 (berenjena morada), Cristal F1 (berenjena negra) e IVIA (berenjena listada de Gandía), fueron deshidratadas mediante: SECADO POR AIRE CALIENTE. Las berenjenas, lavadas y cortadas en rodajas de 5 mm de espesor, se deshidrataron con un secador de bandejas perforadas (Back to Basics FD-600) a 60°C y una velocidad del aire de 1,6 m/s, hasta peso constante.

SECADO POR MICROONDAS. Las rodajas de berenjena de 5 mm de espesor fueron colocadas en bandejas perforadas y deshidratadas en un microondas Molinex 5141 AFW2, hasta peso constante, empleando un ratio W/g de 0,27 (100 W para 370 g de producto).

LIOFILIZACIÓN. Las berenjenas fueron trituradas empleando un Thermomix. El triturado se congeló a -40°C durante 24 horas sobre bandejas en capas finas. Las muestras se trataron en un liofilizador Telstar lioalfa-6 a 0,026 mbar y -56 °C durante 48 horas, y finalmente se molieron.

Se midió de todas las muestras el contenido de agua (secado en estufa de vacío Vacioterm, J.P Selecta a 60°C), la actividad del agua (a_w) (higrómetro de punto de rocío, DECAGON mod. CX-2), el pH (pH-metro Crison, España) y el contenido en sólidos solubles (°Brix) (refractómetro ABBE ATAGO89553). Para la obtención de las isotermas de sorción se empleó el método gravimétrico estático propuesto por Spiess & Wolf (1987) y Wolf et al. (1985). La humedad en equilibrio w_e (g H₂O/ g materia seca) se calcula con la ecuación (1).

$$w_e (b.s.) = \frac{P_0 \times w_0 + \Delta P}{P_0 \times (1 - w_0)} \quad (1)$$

Donde: w_e = humedad en equilibrio (g H₂O/ g materia seca); P_0 = peso inicial de la muestra; w_0 = humedad inicial de la muestra; ΔP = variación de peso. Los datos de sorción se ajustaron a los modelos de BET y GAB empleados para caracterizar el fenómeno de sorción de agua en alimentos (Chirife e Iglesias, 1978; Van den Berg y Bruin, 1981).

Las propiedades de color se midieron por triplicado con un colorímetro MINOLTA CM 3600-D, iluminante D65 y observador 10°. A partir de las coordenadas CIE $L^*a^*b^*$ se calculó el tono (h^*_{ab}), croma (C^*_{ab}) y la diferencia global de color (ΔE^*) tomando como referencia en las muestras equilibradas la muestra con menor a_w .

Para analizar las propiedades mecánicas de las muestras equilibradas se empleó un analizador universal de textura TA-XT2 con una sonda cilíndrica de 10 mm a velocidad de 0,1 m/s, y distancia de 2 mm (Telis & Martínez-Navarrete, 2010). A partir de las curvas fuerza (N) vs distancia (mm) se analizó por triplicado la fuerza máxima. El análisis estadístico de resultados se realizó con un análisis de la varianza (ANOVA) con un nivel de significación de 95% ($p < 0,05$), con el programa Statgraphics Plus 5.1.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 1 muestra los valores de humedad, a_w , pH, °Brix y parámetros de color de las 3 variedades de berenjena objeto de estudio. El contenido de agua y el pH presentaron diferencias significativas entre las variedades evaluadas, siendo mayor, en ambos casos, en CS16 y menor en Cristal F1. La a_w fue significativamente menor en la berenjena Cristal F1, no encontrándose diferencias significativas entre las variedades CS16 e IVIA.

Las tres variedades mostraron una luminosidad (L^*) alta, previsible por el color claro de la materia prima. El valor de L^* de la variedad CS16 fue significativamente mayor que la variedad Cristal F1 mientras que la variedad IVIA no presentó diferencias significativas con las otras dos variedades. Por otra parte, la variedad IVIA fue significativamente diferente de las demás en cuanto a la saturación de color (C^*_{ab}), mientras que Cristal F1 presentó un valor de tono (h^*_{ab}) significativamente menor, que se traduce en una diferencia de matiz con las otras variedades.

En general, el análisis estadístico de los valores obtenidos en la caracterización en fresco, reveló que la variedad de las berenjenas tiene un efecto estadísticamente significativo sobre todos los parámetros caracterizados [humedad, a_w , pH, °Brix, luminosidad (L^*), coordenadas a^* y b^* , croma (C^*_{ab}) y tono (h^*_{ab})], con un 95,0% de nivel de confianza (Tabla 1).

Las muestras deshidratadas fueron caracterizadas en cuanto a su humedad y a_w (Tabla 2). El tipo de tratamiento (SAC, MW, LIF) tiene un efecto estadísticamente significativo sobre el contenido de agua, lográndose una mayor reducción de humedad al deshidratar con

aire caliente (SAC). El tratamiento con microondas provoca una menor reducción de humedad debido probablemente a que el calentamiento en el producto no es uniforme.

Utilizando el método SAC se consigue reducir la a_w a valores menores que los alcanzados mediante los otros dos procesos, aunque sólo se existen diferencias significativas entre las muestras SAC y LIF ($p < 0,05$) (Tabla 2).

Según el análisis estadístico, las variedades de berenjena no influyen significativamente en el nivel de deshidratación ($p < 0,05$), además no existe interacción entre los factores de estudio (variedad y tratamiento de secado).

La Figura 1 muestra el contenido de humedad en equilibrio (w_e) en función de la a_w de las muestras CS16, Cristal F1 e IVIA deshidratadas mediante SAC, MW y LIF. Las isotermas de sorción se consideran de tipo II, y coinciden con resultados obtenidos en berenjenas liofilizadas y secadas al vacío que presentan isotermas de este tipo a 5°C, 25°C y 45°C (Wolf et al., 1973).

De las muestras obtenidas, las liofilizadas son las menos higroscópicas (w_e menor a todas las a_w). Esta tendencia es contraria a la manifestada por Barbosa-Cánovas & Vega (2002), ya que al utilizar vacío en el proceso de liofilización, se produce un polvo poco compacto y gran tendencia a la alta higroscopicidad. El efecto contrario puede deberse a la baja cantidad de sólidos solubles que presenta la berenjena (Tabla 1), existiendo menor posibilidad de interacción entre los azúcares (hidrofílicos) y el vapor de agua del medio ambiente. La baja capacidad de las muestras liofilizadas para absorber la humedad es una característica positiva, ya que por el contrario una alta higroscopicidad provocaría que las partículas se disuelvan, deshaciendo su estructura física.

Durante el almacenamiento y teniendo en cuenta la estabilidad microbiológica, se recomienda que los alimentos deshidratados no superen los valores de a_w de 0,6 (Barreiro & Sandoval, 2006). Esto supondría valores de humedad de 0,12 (g H_2O /g materia seca) para las muestras LIF y valores de 0,14 – 0,16 (g H_2O /g materia seca) para las muestras SAC y MW.

Los puntos experimentales de las isotermas de sorción se ajustaron a los modelos de BET ($r^2 \geq 0,95$) y GAB ($r^2 \geq 0,90$) (Tabla 3). El modelo de BET permitió modelizar las isotermas hasta una a_w igual 0,43 mientras que el modelo de GAB permitió predecir en todo el intervalo de a_w . Ambos modelos están en función de la humedad del producto correspondiente a la situación en que los puntos de adsorción primaria están saturados por moléculas de agua (w_0 , humedad de la monocapa). Este es un parámetro importante en la estabilidad de los alimentos y representa el contenido mínimo de humedad que cubre los

sitios hidrófilos en la superficie del alimento. Por debajo de esta humedad las reacciones de deterioro son mínimas, a excepción de la oxidación de las grasas saturadas.

Para los dos modelos evaluados (Tabla 3), se obtienen valores que varían entre 0,05 y 0,13 ($\text{g H}_2\text{O/g materia seca}$) sin desviarse de valores reportados para diversos alimentos (Kiranoudis et al, 1993; Moraga et al, 2006), y se corresponde con a_w de 0,12 y 0,22 respectivamente, siendo el último valor el de la muestra tratada por MW.

En todos los casos, el contenido de humedad calculado en la monocapa (w_0) mediante el modelo de BET fue ligeramente inferior al obtenido a partir del modelo de GAB para todas las muestras evaluadas, esta tendencia se observa en estudios de isotermas en productos vegetales (Timmermann, 2003). Los valores de contenido de humedad en la monocapa (w_0), a excepción de la muestra CS16-MW, fueron mayores que la humedad alcanzada después del tratamiento de deshidratación. Esta relación permite predecir una buena estabilidad del producto deshidratado a lo largo del tiempo. En cuanto a las constantes del modelo de GAB, los valores del parámetro C oscilaron entre 13 y 85, y el factor relacionado con el calor de sorción de la multicapa (K) osciló entre 0,55 y 0,95, sin salirse del intervalo que presentan la mayoría de alimentos (Rahman, 1995).

Teniendo en cuenta el parámetro C del modelo de BET se puede identificar si las isotermas son de tipo II ($C > 2$) y de tipo III ($C < 2$) según la clasificación del Brunauer. Mediante este parámetro se confirma que las isotermas obtenidas son del tipo II (Brunauer et al., 1940).

Previo a la comparación del efecto de los tratamientos sobre el color, se evaluó el coeficiente K/S según la teoría de Kubelka-Munk, comprobando la opacidad de las muestras. Los valores de los parámetros de color se presentan en la Tabla 4. En general se observa una disminución de la luminosidad y del tono en todas las muestras a medida que aumenta la a_w . Si se compara la influencia de los tratamientos en las variedades de berenjena estudiadas se observa que el método SAC es el que afecta menos a la luminosidad, sin que existan diferencias significativas entre las variedades de berenjenas ($p < 0,05$). Al deshidratar por microondas se reduce significativamente la luminosidad en la variedad CS16, lo que no ocurre con IVIA y Cristal F1. En las muestras liofilizadas la variedad IVIA presenta mayor luminosidad siendo significativamente diferente ($p < 0,05$). Además, se observa que los valores más altos de luminosidad se alcanzan con la variedad IVIA sin diferencias considerables entre los tres tratamientos. Por otra parte las muestras LIF de las variedades IVIA y Cristal F1 tienen valores de tonalidad significativamente más bajos ($p < 0,05$) que las

muestras SAC y MW, mientras que la tonalidad de la berenjena CS16 no presenta diferencias entre los tratamientos (Tabla 4).

En general, se observa que los valores de tonalidad más cercanos al amarillo estricto (90°) se alcanzan al trabajar con las variedades IVIA y Cristal F1 deshidratada por SAC y MW sin evidenciar diferencias significativas ($p < 0,05$). Las muestras con menor tonalidad son las liofilizadas de las tres variedades, y las muestras de la variedad CS16 para los tres tratamientos ensayados, presentando valores equivalentes entre ellos ($p < 0,05$). El croma o saturación de color aumenta significativamente en todas las muestras hasta una a_w de 0,33, a partir de la cual sigue aumentando pero no de manera significativa. Por otra parte, se observan valores superiores, estadísticamente significativos, en las muestras LIF. Los productos que presentan valores más altos de saturación de color son de la variedad CS16 deshidratada por los tres métodos y las muestras liofilizadas de las variedades IVIA y Cristal F1 ($p < 0,05$). En general, el color se ve afectado en menor grado al almacenar las muestras a a_w bajas. Las muestras deshidratadas mediante SAC y MW presentaron diferencias de color similares a partir de 0,33 de a_w (Tabla 4), mientras que las muestras liofilizadas mostraron valores de ΔE^* mucho menores en todo el intervalo ($p < 0,05$). En conclusión, la liofilización produce menor variación de color en todas las variedades estudiadas, este efecto también se ha analizado para pimentón liofilizado y se determina que es el método de secado más adecuado para el mantenimiento del color (Park & Kim, 2007). Considerando que a valores de ΔE^* entre 1,5 y 12 la diferencia de color es evidente, todos los productos obtenidos presentarían una variación apreciable. La elevada temperatura del aire podría reducir el principal pigmento de la berenjena (delfinidina-3-rutinósido), como se afirma en bibliografía donde se contrasta el efecto de altas temperaturas en la degradación de compuestos y la formación de nuevas sustancias por diferentes mecanismos (Lo Scalzo et al. 2010).

Parte del estudio pretendió averiguar los cambios estructurales que ocurren en el secado mediante un análisis de textura (Tabla 4). Para ello a las muestras utilizadas en la obtención de isothermas se les realizó un test de compresión. La fuerza máxima ($F_{m\acute{a}x}$) presentó valores diferentes entre variedades y tratamientos, observándose un aumento con la a_w hasta 0,33, valor a partir de la cual disminuye. Esto coincide con el punto de inflexión de las isothermas de sorción, es decir, cuando empiezan los fenómenos de disolución y la estructura del producto cambia. Por otra parte, se observó que las muestras liofilizadas requieren mayor fuerza para llegar al mismo nivel de compactación que las muestras tratadas mediante SAC y MW, entre las que no se observan diferencias significativas ($p < 0,05$).

CONCLUSIONES

Durante el almacenamiento y teniendo en cuenta la estabilidad microbiológica, se recomienda que los alimentos deshidratados no superen los valores de a_w de 0,6. Esto supondría valores de humedad de 0,12 (g H₂O/g materia seca) para las muestras LIF y valores de 0,14 – 0,16 (g H₂O/g materia seca) para las muestras SAC y MW. Los cambios en el color y en las propiedades mecánicas van a depender más de los tratamientos que de la variedad de berenjena siendo la liofilización la que afecta en menor medida al color y la que requieren mayor fuerza para llegar al mismo nivel de compactación que SAC y MW.

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen a la Generalitat Valenciana la financiación de este trabajo con el proyecto concedido GV/2013/032.

BIBLIOGRAFÍA

- Alibas I., Akbudak B. & Akbudak N. 2005. Microwave drying characteristics of spinach. *J. Food Engineering.*, 78 (2), 577–583.
- Barbosa-Cánovas G. & Vega H. 2002. *Deshidratación de Alimentos*. Editorial Acribia S.A. Zaragoza - España.
- Barreiro J. & Sandoval A. 2006. *Operaciones de conservación de alimentos por bajas temperaturas*. Equinoccio. Caracas-Venezuela.
- Chirife J. & Iglesias H. A. 1978. Equations for fitting water sorption isotherms of foods. Part 1- a review. *Journal of Food Technology*.13: 159-174.
- Igual M., García-Martínez E., Camacho M.M. & Martínez-Navarrete N. 2010. Effect of thermal treatment and storage on the stability of organic acids and the functional value of grapefruit juice. *Food Chem.*, 198, 291-299
- Kiranoudis C.T., Maroulis Z.B., Tsami E. & Marinos-Kouris D. 1993. Equilibrium moisture content and heat of desorption of some vegetables. *Journal of Food Engineering* 20: 55_74.
- Lo Scalzo R., Fibiani M., Mennella G., Rotino G.L., Del Sasso M., Culici M., Spallino A. & Braga P.C. 2010. Thermal Treatment of Eggplant (*Solanum melongena* L.) Increases the antioxidant content and the inhibitory effect on human neutrophil burst. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 58(6), pp.3371-3379.
- Mataix J., García L., Mañas M., Martínez E. & Llopis J. 2003. *Tabla de Composición de Alimentos*. Cuarta edición. Granada. Instituto de Nutrición y Tecnología de Alimentos - Universidad de Granada.
- Moraga G., Martínez-Navarrete N. & Chiralt A. 2006. Water sorption isotherms and phase transitions in kiwifruit. *Journal of Food Engineering*, 72(2), 147-156.

Park J. H. & Kim C. S. 2007. The stability of color and antioxidant compounds in paprika (*Capsicum annuum* L.) powder during the drying and storing process. *Food Science and Biotechnology*, 16(2), 187–192.

Prohens, J.; Blanca, J. & Nuez, F. 2005. Morphological and molecular variation in a collection of eggplants from a secondary center of diversity: Implications for conservation and breeding. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 130(1):54-63.

Rahman, S. 1995. *Food properties handbook* (1st ed.). Boca Raton: CRC Press.

Restrepo A. & Burbano Juan. 2005. Disponibilidad térmica solar y su aplicación en el secado de granos *Revista Scientia et Technica*, vol. 12, No. 27 (abril), pp. 127-132.

Spiess W. & Wolf W. 1987. Critical evaluation of methods to determine moisture sorption isotherms. En Louis, B., Bencho, L. (eds). *Water Activity: theory and applications to foods*. New York. Marcel Dekker Inc., 215-233.

Telis V. R. N. & Martínez – Navarrete N. 2010. Application of compression test in analysis of mechanical and color changes in grapefruit juice powder as related to glass transition and water activity. *LWT - Food Science and Technology*.43: 2010. 744-751.

Timmermann E.O. 2003. Multilayer sorption parameters: BET or GAB values. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 220: 235-260.

Triantis T., Stelakis A., Dimotikali D. & Papadopoulos K. 2005. Investigations on the antioxidant activity of fruit and vegetable aqueous extracts on superoxide radical anion using chemiluminescence techniques. *Analytica Chimica Acta*, 536, 101–105.

Van den Berg C. & Bruin S. 1981. Water activity and its estimation in food systems: theoretical aspects. En Rockland, L. B. Stewards, G. F. (eds). *Water activity. Influence on food quality*. Academic Press, New York, pp. 1-61.

Wolf W., Spiess W. & Jung G. 1973. Wasserdampf-sorptionsisotherm von Lebensmitteln'. *Fachgemeinschaft Allgemeine Lufttechnik im VDMA, Helf 18, Frankfurt*.

Wolf W., Spiess W. & Jung G. 1985. *Sorption isotherms and water activity of food materials. Elsevier Sciences Publishing Co., New York*.

ANEXOS

Tabla 1. Caracterización de la materia prima

		CS16	Cristal F1	IVIA
Humedad (g/g producto)		0,942 (0,004) ^a	0,915 (0,005) ^c	0,933 (0,002) ^b
aw		0,998 (0,003) ^a	0,994 (0,003) ^b	0,998 (0,003) ^a
pH		5,00 (0,01) ^a	4,26 (0,09) ^c	4,61 (0,03) ^b
°Brix		5,05 (0,07) ^c	5,55 (0,07) ^a	5,45 (0,07) ^b
Color	L*	75,4 (1,5) ^a	69 (3) ^b	73,6 (1,0) ^{ab}
	a*	-2,1 (0,3) ^c	-0,5 (0,2) ^a	-1,36 (0,06) ^b
	b*	21 (2) ^a	20,5 (0,6) ^a	11,7 (0,5) ^b
	C*	21 (2) ^a	20,5 (0,6) ^a	11,8 (0,5) ^b
	h*	94 (3) ^a	90 (2) ^b	96,6 (0,6) ^a

Promedios con diferentes letras en la misma fila fueron significativamente diferentes (p<0.05)

Valor entre paréntesis: desviación estándar

Tabla 2. Nivel de deshidratación después de los tratamientos

Variedad	Tratamiento	x_w (g/100g producto)	a_w
CS16	SAC	0,8975 (0,0013) ^c	0,088 (0,003) ^b
	MW	6,907 (0,001) ^a	0,0691 (0,003) ^{ab}
	LIF	4,3627 (0,021) ^b	0,321 (0,003) ^a
CRISTAL F1	SAC	0,1915 (0,0014) ^c	0,067 (0,003) ^b
	MW	6,67 (0,05) ^a	0,226 (0,003) ^{ab}
	LIF	5,270 (0,001) ^b	0,371 (0,003) ^a
IVIA	SAC	0,733 (0,012) ^c	0,132 (0,003) ^b
	MW	6,709 (0,002) ^a	0,306 (0,003) ^{ab}
	LIF	5,308 (0,009) ^b	0,367 (0,003) ^a

Promedios con diferentes letras en la misma columna son significativamente diferentes ($p < 0,05$) prueba de Tukey

Tabla 3. Parámetros obtenidos de los ajustes de BET y GAB para las isotermas de sorción de las berenjenas CS16, Cristal F1 y IVIA, deshidratadas mediante SAC, MW y LIF.

Variedad	Tratamiento	Parámetro	Valor	r^2	
CS16	SAC	BET	C	723.30	0,99
			w_0	0,07	
		GAB	C	31.02	0,95
		w_0	0,09		
		K	0,77		
	MW	BET	C	210.18	0,99
			w_0	0,07	
		GAB	C	85.11	0,98
w_0			0,07		
K			0,91		
LIF	BET	C	19.83	0,98	
		w_0	0,05		
	GAB	C	13.12	0,90	
		w_0	0,06		
		K	0,96		
Cristal F1	SAC	BET	C	709.09	0,97
			w_0	0,07	
		GAB	C	31.00	0,98
		w_0	0,09		
		K	0,60		
	MW	BET	C	149.35	0,98
			w_0	0,09	
		GAB	C	29.07	0,99
w_0			0,13		
K			0,56		
LIF	BET	C	20.19	0,97	
		w_0	0,07		
	GAB	C	16.13	0,92	
		w_0	0,08		
		K	0,87		
IVIA	SAC	BET	C	184.90	0,98
			w_0	0,07	
		GAB	C	30.22	0,99
		w_0	0,08		
		K	0,78		
	MW	BET	C	21.20	0,95
			w_0	0,08	
		GAB	C	14.09	0,93
w_0			0,11		
K			0,61		
LIF	BET	C	17.46	0,97	
		w_0	0,06		
	GAB	C	13.48	0,95	
	w_0	0,08			
		K	0,81		

Tabla 4. Resultados de análisis de color y propiedades mecánicas

Variedad	Tratamiento	a_w	L*	h^*_{ab}	C^*_{ab}	ΔE^*	$F_{m\acute{a}x}$ (N/g)
CS16	SAC	0,113	74 (4)	83 (2)	21 (3)		278 (72)
		0,23	66 (4)	78 (3)	25 (1)	11 (3)	789 (555)
		0,33	65 (3)	78 (1)	25 (1)	11 (4)	1933 (1402)
		0,43	66,6 (3,3)	77,0 (1,4)	26 (1)	9 (1)	484 (113)
		0,52	58 (1)	77 (1)	26 (1)	12 (4,1)	284,3 (82,1)
		0,68	54 (2)	74,7 (2,2)	27 (3)	15 (4)	201 (142)
	MW	0,113	67 (2)	83 (1)	18 (3)		992 (164)
		0,23	61,9 (0,1)	83 (2)	22 (3)	6 (3)	1252 (454)
		0,33	58,9 (0,3)	78 (3)	25 (3)	10 (2)	1554 (847)
		0,43	58 (1)	75,5 (1,4)	27 (1)	11,4 (2)	651,1 (40,4)
		0,52	53 (2)	74 (2)	27 (2)	16 (2,1)	508 (97)
		0,68	50 (4)	71,2 (3,2)	27 (1)	18 (3)	359,1 (185,2)
	LIF	0,113	61 (2)	77 (2)	21 (2)		4102 (691)
		0,23	61 (1)	77 (1)	23,9 (0,1)	3,2 (2)	8127 (504)
		0,33	61 (1)	77,2 (0,1)	25 (1)	4 (2)	9536 (520)
		0,43	60 (1)	77 (1)	26,7 (0,2)	6,1 (1,4)	7159,7 (526,3)
		0,52	60,3 (0,3)	75,3 (0,3)	28 (1)	7,4 (1,1)	5195,4 (819,1)
		0,68	60 (1)	75 (1)	28,1 (0,3)	8 (2)	1974 (635)
CRISTAL F1	SAC	0,113	68,1 (0,3)	86 (3)	18,1 (1,2)		631 (161)
		0,23	67 (1)	84 (1)	20,8 (1,4)	3,3 (1)	1006 (520)
		0,33	63 (1)	81 (2)	24,2 (0,3)	8 (3)	1377 (55)
		0,43	63 (1)	80 (1)	23,4 (2,2)	8,4 (1,3)	1128 (222)
		0,52	61,6 (0,4)	78 (1)	25,2 (0,3)	10 (1)	852 (420)
		0,68	60 (1)	75 (1)	28 (2)	14 (2)	371 (123)
	MW	0,113	66,8 (1,4)	84,7 (0,2)	20 (2)		450,5 (209,3)
		0,23	64 (1)	83 (1)	23 (2)	3,1 (0,1)	664 (394)
		0,33	64,5 (0,3)	81 (1)	26 (2)	12 (3)	877 (485)
		0,43	60 (1)	81 (1)	24 (1)	10 (2)	626 (118)
		0,52	59 (1)	77 (3)	24,4 (2,1)	10,4 (0,2)	515,3 (199,2)
		0,68	58,4 (0,4)	75 (2)	25 (3)	12,3 (0,4)	316 (99)
	LIF	0,113	61 (1)	78,4 (1,4)	22 (1)		2353 (754,2)
		0,23	60 (1)	78 (1)	23 (1)	1,5 (0,8)	3558 (472)
		0,33	60 (1)	77,4 (0,4)	25 (1)	3 (2)	4296 (250)
		0,43	60,1 (1,4)	78 (1)	25 (1)	4 (1)	5021 (732)
		0,52	60 (1)	76 (0,4)	25 (1)	3,1 (1,3)	4653,4 (180,2)
		0,68	60 (1)	74,8 (0,3)	26,8 (0,3)	5 (1)	957 (571)

Tabla 4. Resultados de análisis de color y propiedades mecánicas (continuación)

Variedad	Tratamiento	a_w	L^*	h^*_{ab}	C^*_{ab}	ΔE^*	$F_{m\acute{a}x}$ (N/g)
IVIA	SAC	0,113	76 (3)	85 (2)	18 (1)		476 (80)
		0,23	69 (6)	79 (3)	22,4 (0,1)	8,3 (3,4)	386 (524)
		0,33	66 (3)	81 (2)	22,3 (3,1)	9 (1)	1876 (42)
		0,43	63 (5)	79 (1)	24,3 (1,1)	10 (2)	768 (30)
		0,52	63,1 (0,4)	79,1 (1,1)	24,3 (1,4)	13 (4)	704 (72)
		0,68	56 (1)	76 (2)	25 (2)	16 (4)	227 (48)
	MW	0,113	68 (1)	85 (1)	16,5 (0,4)		486 (197)
		0,23	66 (1)	80,7 (2,2)	19 (2)	3,3 (0,4)	1202 (778)
		0,33	73 (3)	81,3 (0,3)	21,1 (0,2)	7 (2)	1291 (370)
		0,43	65 (4)	77 (1)	20,4 (1,3)	6 (2)	593 (876)
		0,52	62,7 (0,3)	78 (1)	23,3 (0,4)	9,1 (0,4)	671 (255)
		0,68	58 (1)	75,1 (2,3)	24 (1)	13 (1)	465 (130)
	LIF	0,113	65 (1)	78 (1)	23 (1)		829 (197)
		0,23	65,4 (0,1)	78 (1)	24 (1)	1,2 (0,4)	1321 (114)
		0,33	65 (1)	77 (1)	24 (1)	1,8 (0,4)	4801,2 (522,2)
		0,43	65 (1)	77 (1)	24 (2)	3,2 (0,4)	2066 (921)
		0,52	64 (1)	76,2 (0,3)	25 (0,3)	3,1 (01)	671 (53)
		0,68	61 (4)	76 (2)	25,1 (1,4)	8 (3)	819,2 (17,2)

Valor entre paréntesis: desviación estándar

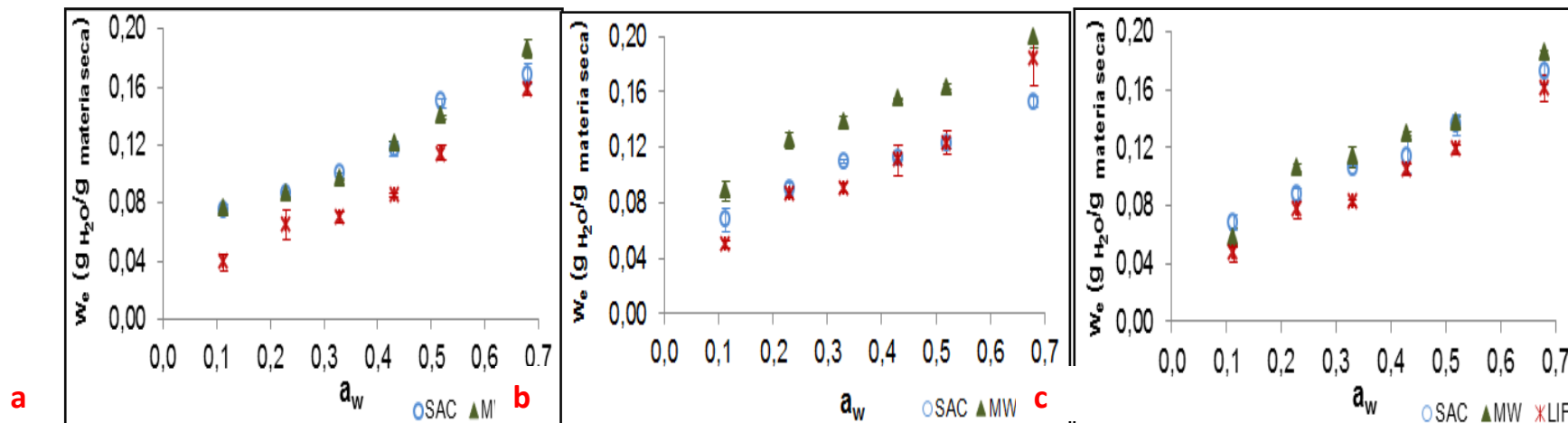


Figura 1. Isotermas de sorción de agua de las muestras de berenjena: a) CS16 b) CRISTAL F1 c) IVIA (SAC: secado por aire caliente; MW: secado por microondas; LIF: liofilizadas)

INFLUENCIA DEL GRADO DE HIDRÓLISIS EN LA CAPACIDAD GELIFICANTE DE UN SISTEMA MIXTO PROTEÍNA HIDROLIZADA DE *PHASEOLUS LUNATUS*: GOMA CARBOXIMETILADA DE FLAMBOYÁN

Luis Jorge Corzo-Rios^{1,2}, David Betancur-Ancona¹, Luis Chel-Guerrero¹

¹ Facultad de Ingeniería Química, Universidad Autónoma de Yucatán, Periférico Norte, Km 33,5, Tablaje Catastral 13615, Col. Chuburná de Hidalgo Inn, 97203, Mérida, Yucatán, México. E-mail: bancona@uady.mx

² Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología, Instituto Politécnico Nacional, Av. Acueducto s/n, Barrio La Laguna, Col. Ticomán, 07340, D.F., México

INTRODUCCIÓN

Los cambios en las propiedades funcionales de una proteína cuando forma parte de un sistema hidrocoloide mixto Proteína–Goma (SHM), se manifiesta en la modificación de la solubilidad e hidrofobicidad y un incremento en la viscosidad y gelificación del sistema.

Los estudios reológicos contribuyen al conocimiento de la estructura molecular o la distribución molecular de los componentes de los alimentos, así como para predecir los cambios estructurales en el alimento durante los procesos de elaboración. Además, la caracterización reológica, se utiliza como una herramienta de control de calidad, vida de anaquel y también para diseñar los equipos de procesamiento (Koocheki & Razavi, 2009).

Las interacciones proteína-proteína y proteína-disolvente son influenciadas por los factores que afectan la gelificación de la proteína, así como afectan el tipo y propiedades del gel. Estos factores pueden ser clasificados como intrínsecos (Interacciones electrostáticas, Los enlaces disulfuro, Peso molecular, Composición de aminoácidos, Hidrofobicidad) y extrínsecos (Concentración de la proteína, pH, Temperatura, Fuerza Iónica) (Totosaus, Montejano, Salazar, & Guerrero, 2002).

Se han estudiado algunas fuentes de proteínas de uso comercial (proteínas de soya, proteínas de suero, proteínas de girasol) bien sea en forma de concentrados o aislados proteicos hidrolizados solos, o en sistemas mixtos con gomas comerciales (carragenina, agar, carboximetilcelulosa, de algarroba, entre otras). Sin embargo, hace falta explorar el comportamiento de hidrocoloides no convencionales, por ejemplo hidrolizado de proteína de *P. lunatus*/goma modificada de flamboyán, para generar conocimiento acerca de su capacidad desde el punto de vista de propiedades fisicoquímicas de tipo funcional, estableciendo las condiciones más adecuadas para ello y explicar los posibles mecanismos implicados en su interacción, lo que permitiría contar con un ingrediente alimentario a partir de fuentes no convencionales.

Por lo anterior, en este trabajo se evaluó la influencia del grado de hidrólisis (GH), concentración de sólidos, pH y presencia de NaCl en el comportamiento viscoelástico y dureza de los geles formados con proteína hidrolizada de *Phaseolus lunatus* (PI) y sus mezclas con goma carboximetilada de flamboyán (G).

MATERIALES Y MÉTODOS

Se partió de un concentrado proteico de *P. lunatus* obtenido de la harina del grano mediante precipitación de la proteína en su punto isoelectrico, de acuerdo a Betancur-Ancona et al. (2009). El hidrolizado proteico fue obtenido mediante hidrólisis secuencial con pepsina-pancreatina a partir del método reportado por Chel-Guerrero, Domínguez-Magaña, Martínez-Ayala, Davila-Ortíz, & Betancur-Ancona (2012).

Para obtener la goma modificada de flamboyán (GMF), la Goma nativa fue carboximetilada utilizando NaOH al 10% (p/v), CAS al 10% (p/v), 70°C y 90 min de tiempo de reacción, de acuerdo a lo reportado por Medina-Dzul (2011).

- Elaboración de los Sistemas Hidrocoloides Mixtos.

Los sistemas hidrocoloides mixtos (SHM) se obtuvieron al mezclar los dos hidrolizados de proteínas (HP) con la goma carboximetilada de flamboyán (GCF) para obtener las proporciones 2:1 y 3:1. PH en el 2% DH con GCF, que fue nombrado sistema hidrocoloide mixto 1 (SHM1) y el HP con 8.3% DH con GCF, nombrado como sistema hidrocoloide mixto 2 (SHM2).

- Gel preparation.

Se prepararon dispersiones con agua destilada de los 2 HPs estudiados (2.0 y 8.3 GH) en las concentraciones de 10 y 15%, así como de la GMF en las concentraciones de 4 y 6%, además de los SHM obtenidos (3:1 y 2:1) (H:G= 10:5% y 15:5%). Para obtener los geles, las dispersiones fueron calentadas a 80°C durante 30 min en un molde cilíndrico de 40x40mm. y después enfriados a 4°C durante 24h. Posteriormente fueron realizadas las determinaciones reológicas y de dureza del gel.

- Pruebas viscoelásticas.

Se realizaron barridos de amplitud a 5 ° C de 0,01 a 10% de deformación y una frecuencia de 1 Hz para todos los geles, para determinar la zona de viscoelasticidad lineal (LVZ). Pruebas de barrido de frecuencia, con 1% de deformación y 5 ° C se llevaron a cabo de 1 a 10 Hz, empleando un reómetro rotacional AR-2000 y una geometría cono-plato de 40mm y 2°.

- Fuerza de gel

Se utilizó una cruceta de 50mm para una prueba de compresión con una maquina universal de medición de textura con una celda de compresión de 5Kg y una velocidad de 5mm/min. Se determinó la fuerza del gel como el valor más alto alcanzado antes de una caída abrupta.

- Diseño experimental.

Para la evaluación de las propiedades reológicas y dureza del gel se utilizó un diseño factorial 2^3 con 4 réplicas al punto central, teniendo las siguientes variables de estudio: pH del medio (3 y 9), fuerza iónica (0 y 0.05M) y concentración de sólidos del sistema (HPs, CFG y HMSs).

- Análisis estadístico

Se utilizó un análisis de varianza según los métodos Montgomery (2004) y con la ayuda del paquete computacional Statgraphics V. 5, con un nivel de significancia de 5%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

- Comportamiento viscoelástico.

El análisis del comportamiento viscoelástico de los geles obtenidos con la GMF, HPPs y SHMS se realizó mediante un barrido de frecuencia con 1% de deformación que fue el valor encontrado para la LVZ. En este análisis se encontró que los SHMs presentaron mayores valores del componente elástico (G') que la GMF y los HPP, lo que indicaría una sinergia en cuanto a las propiedades gelificantes de estos dos hidrocoloides (figura 1). Además el análisis de varianza de los valores de componente elástico (G') de los geles de GMF, arrojó que todas variables y sus interacciones resultaron significativas ($p < 0.05$), teniendo mayor impacto la concentración de goma, como se observa en la Tabla 1.

El análisis de varianza indicó que para los geles obtenidos con los hidrolizados la concentración y la presencia de NaCl resultaron significativas ($p < 0.05$) como se observa en la Tabla 1, así como el grado de hidrólisis en los valores de G' . La concentración de la proteína presentó un efecto positivo sobre el valor de G' lo que estaría relacionado con el incremento en interacciones hidrofóbicas y de puentes disulfuros probablemente debido a un mayor acercamiento de las moléculas proteicas (Avanza, Puppo, & Añón, 2004). Sin embargo al realizar las mezclas H:G, el comportamiento fue diverso en función del grado de hidrólisis, siendo para los geles de H1:G significativos la concentración y el pH (cuadro 1), mientras que para los geles de H2:G fue la concentración y el NaCl las variables

significativas ($p < 0.05$) (Cuadro 1), presentando también diferencias entre el grado de hidrólisis.

En la Figura 1 se puede observar los cambios de los módulos elástico (G') y viscoso (G'') en función de la frecuencia, para los geles de GMF, HPPs y SHMs que mejores propiedades sólidas presentaron. En todos los geles obtenidos con GMF y SHMs, los valores de G' y G'' exhibieron una dependencia con la frecuencia, siendo este hecho más pronunciado en los geles obtenidos con la GMF. Este comportamiento ha sido reportado anteriormente para los geles de proteína de amaranto (Avanza et al., 2004) con las mismas concentraciones de sólidos analizadas en este estudio, sin embargo, a diferencia de los geles de amaranto, los formados con HPPs presentaron valores de $\tan \delta$ mayores que 0,1 por lo que podrían ser clasificados como geles débiles.

Los espectros mecánicos de los SHMs son característicos de las redes tridimensionales, que presentan los geles débiles, en los cuales se observa valores de G' más altos que G'' incrementando en paralelo uno del otro cuando se incrementa la frecuencia (Farahnaky, Askari, Majzoobi, & Mesbahi, 2010; Steffe, 1992). En este sentido, al observar los valores de $\tan \delta$ obtenidos para todos geles de los hidrocoloides estudiados, se puede señalar que tienen un comportamiento característico de los polímeros amorfos, pues es este intervalo de $\tan \delta$ (0.2-3) que presentan la mayoría de los geles biológicos (Nuñez-Santiago *et al.*, 2001).

Para el caso de la GMF se observa un comportamiento típico de solución viscosa con entrecruzamientos en donde se observa a bajas frecuencias un predominio del comportamiento viscoso ($G'' > G'$), cambiando a un comportamiento más del tipo sólido ($G' > G''$) cuando se incrementa la frecuencia (Picout & Ross-Murphy, 2003). Este comportamiento es el esperado para una solución de polímeros que presentan una red entrelazada de cadenas de “random coil”, como el que presentan otro tipo de gomas como la goma guar al 1.1% (Richardson, Morris, Ross-Murphy, Taylor, & Dea, 1989). Para *k*-carragenina al 1.5% se ha reportado un comportamiento de tipo gel débil en presencia de ion potasio (Fernandes *et al.*, 1991).

- Fuerza de gel

Los valores obtenidos para dureza del gel se muestran en la Tabla 3, en donde se puede observar que los mayores valores se obtuvieron con los geles de los SHMs que van de 5.90 - 9.75 ($\text{kgf} \times 10^{-3}$), mientras que la dureza de los geles obtenidos con la GMF variaron de 0.24 a 2.71 ($\text{kgf} \times 10^{-3}$) y los H1 y H2 presentaron un intervalo de 0.1 a 5 ($\text{kgf} \times 10^{-3}$), incluso

bajo las condiciones de pH 3 y fuerza iónica 50mM a la concentración de 10% no se logró la formación de gel con los 2 hidrolizados. El análisis de varianza indicó que en todos los casos la concentración de sólidos y el pH fueron significativos ($p < 0.05$), con un efecto positivo sobre la dureza del gel, como se observa en la Tabla 1.

Esto coincide con lo reportado para geles de λ -carragenina y proteínas de suero lácteo, en donde se indica que independientemente de la temperatura, la velocidad de formación de la estructura primaria del gel aumenta con el incremento de la concentración de sólidos. En esta etapa la concentración es determinante para lograr una velocidad de agregación adecuada. Por lo que una mayor concentración de sólidos promueve mayor velocidad de agregación (Spahn, Santiago, Baeza, & Pilosof, 2006).

También se observó que la presencia de NaCl fue significativa ($p < 0.05$) en la dureza de los geles formados con la GMF y H1 e H2 con efecto negativo sobre este valor (Tabla 1), sin embargo al formar los geles con los SHMs, esta variable no resultó significativa. Esto podría ser debido al tipo de sal utilizada, que en el presente caso es de tipo monovalente ya que Totosaus, Montejano, Salazar, & Guerrero (2002) evidencian la diferente respuesta entre esas y las divalentes.

CONCLUSIONES

Las propiedades reológicas y de la resistencia del gel fueron mayores para los SHMs que las de la goma de flamboyán y los hidrolizados solos y en las concentraciones evaluadas, sólo el sistema de PH sin NaCl fue un gel débil, pero CFG y HMS presentaron un estado sol, independientemente de la presencia de sal. Ambas propiedades funcionales fueron influenciadas por el grado de hidrólisis de proteínas, presentando una mayor capacidad a un menor grado de hidrólisis y una mayor capacidad de gelificación a un grado de hidrólisis mayor.

BIBLIOGRAFÍA

Avanza, M. V., Puppo, M. C., & Añón, M. . C. (2004). Propiedades reológicas de geles de proteínas de amaranto.

Betancur-Ancona, D., Martínez-Rosado, R., Corona-Cruz, A., Castellanos-Ruelas, A., Jaramillo-Flores, M. E., & Chel-Guerrero, L. (2009). Functional properties of hydrolysates from *Phaseolus lunatus* seeds. *International Journal of Food Science & Technology*, 44(1), 128–137. doi:10.1111/j.1365-2621.2007.01690.x

Chel-Guerrero, L., Domínguez-Magaña, M., Martínez-Ayala, A., Davila-Ortíz, G., & Betancur-Ancona, D. (2012). Lima Bean (*Phaseolus lunatus*) Protein Hydrolysates with

ACE-I Inhibitory Activity. *Food and Nutrition Sciences*, 03(04), 511–521. doi:10.4236/fns.2012.34072

Farahnaky, A., Askari, H., Majzoobi, M., & Mesbahi, G. (2010). The impact of concentration, temperature and pH on dynamic rheology of psyllium gels. *Journal of Food Engineering*, 100(2), 294–301. doi:10.1016/j.jfoodeng.2010.04.012

Koocheki, A., & Razavi, S. M. a. (2009). Effect of Concentration and Temperature on Flow Properties of Alyssum homolocarpum Seed Gum Solutions: Assessment of Time Dependency and Thixotropy. *Food Biophysics*, 4(4), 353–364. doi:10.1007/s11483-009-9134-7

Picout, D. R., & Ross-Murphy, S. B. (2003). Rheology of biopolymer solutions and gels. *TheScientificWorldJournal*, 3, 105–21. doi:10.1100/tsw.2003.15

Richardson, R. K., Morris, E. R., Ross-Murphy, S. B., Taylor, L. J., & Dea, I. C. M. (1989). Characterization of the perceived texture of thickened systems by dynamic viscosity measurements. *Food Hydrocolloids*, 3(3), 175–191. doi:10.1016/S0268-005X(89)80002-5

Spahn, G., Santiago, L. G., Baeza, R., & Pilosof, A. M. (2006). Características Viscoelásticas y Texturales de Geles Mixtos de Proteínas de Suero Lácteo y l-carragenina. *Brazilian Journal of Food Technology*, 23–28.

Steffe, J. F. (1992). *Rheological methods in food process engineering* (Second edi., p. 418). East Lansing: Freeman Press.

Totosaus, A., Montejano, J., Salazar, J. A., & Guerrero, I. (2002). A review of physical and chemical protein-gel induction. *International Journal of Food Science & Technology*, 37, 589–601.

Tabla 1. Variables estadísticamente significativas (p<0,05) para las distintas respuestas estudiadas

Respuesta	Coefficiente	A	B	C	A*B	A*C	B*C	A*B*C
G´ GCF	60.41	32.37	8.37	-4.62	5.37	-3.62	2.875	0.87
G´ HP1	769.66	779.25	169.25	-460.25	NS	-423.5	NS	NS
G´ HP2	390.50	416.75	NS	-250.5	NS	-209.25	NS	NS
G´ SHM1	2424.25	600.75	719.0	NS	378.5	NS	NS	NS
G´ SHM2	2096.08	198.12	NS	-333.12	NS	NS	NS	NS
F Gel GCF	1.18	0.88	0.18	-0.11	0.22	NS	0.05	0.03
F Gel HP1	1.30	0.91	0.79	-0.60	0.63	NS	-0.29	NS
F Gel HP1	1.20	0.75	0.64	-0.76	0.49	-0.3163	-0.42	-0.31
F Gel SHM1	7.79	0.41	1.41	-0.10	-0.02	0.065	0.01	-0.01
F Gel SHM2	7.84	0.55	0.60	-0.26	-0.06	0.0763	0.07	-0.08

A=% sólidos, B=pH, C= NaCl. NS= No significativo P<0,05

Tabla 2.- Valores característicos del comportamiento viscoelástico de geles obtenidos con los diferentes hidrocoloides analizados (5°C).

Condiciones de la Muestra			GCF		H1 (2% GH)		H2 (8.3% GH)		H1:GCF		H2:GCF	
H:G (%)	pH	NaCl (mM)	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max
10:5	3	0	0.96	1.20	0.58	0.8	0.48	0.48	0.77	0.51	0.78	0.43
10:5	3	50	0.96	1.24	-	-	-	-	0.76	0.48	0.87	0.53
10:5	9	0	1.18	1.15	0.24	0.3	0.27	0.27	0.71	0.46	0.67	0.44
10:5	9	50	1.15	1.16	0.33	0.8	0.31	0.31	0.68	0.44	0.77	0.48
15:5	3	0	0.93	1.00	0.25	0.3	0.25	0.25	0.65	0.46	0.71	0.48
15:5	3	50	0.97	1.03	0.27	0.3	0.31	0.31	0.64	0.44	0.73	0.43
15:5	9	0	1.14	0.95	0.19	0.2	0.2	0.2	0.60	0.43	0.66	0.48
15:5	9	50	1.19	0.99	0.22	0.3	0.24	0.24	0.58	0.41	0.66	0.47
12.5:5	6	25	1.13	1.18	0.3	0.4	0.28	0.28	0.70	0.68	0.76	0.46

Tabla 3.- Dureza de los geles formados con los sistemas hidrocoloides hidrolizado de *P. lunatus*: Goma carboximetilada de flamboyant (Kgf X10⁻³).

Condiciones Experimentales		GCF		HP1		SHM1		HP2		SHM2	
pH	NaCl (mM)	(%)	D	%	D	H:G %	D	%	D	H:G %	D
3	0	4	0.65	10	0.64	10:5	6.27	10	0.68	10:5	7.33
3	50	4	0.42	10	ND	10:5	5.90	10	ND	10:5	6.33
9	0	4	0.67	10	1.23	10:5	9.10	10	1.19	10:5	8.53
9	50	4	0.24	10	0.10	10:5	8.80	10	0.08	10:5	8.00
3	0	6	1.93	15	1.20	15:5	7.00	15	1.20	15:5	8.25
3	50	6	1.77	15	0.60	15:5	6.90	15	0.53	15:5	7.50
9	0	6	2.71	15	5.00	15:5	9.75	15	4.97	15:5	9.33
9	50	6	2.64	15	2.50	15:5	9.70	15	1.32	15:5	8.50
6	25	5	0.79	12.5	1.10	12.5:5	7.50	12.5	1.10	12.5:5	7.40

ND: No determinado debido a que no se formó el gel

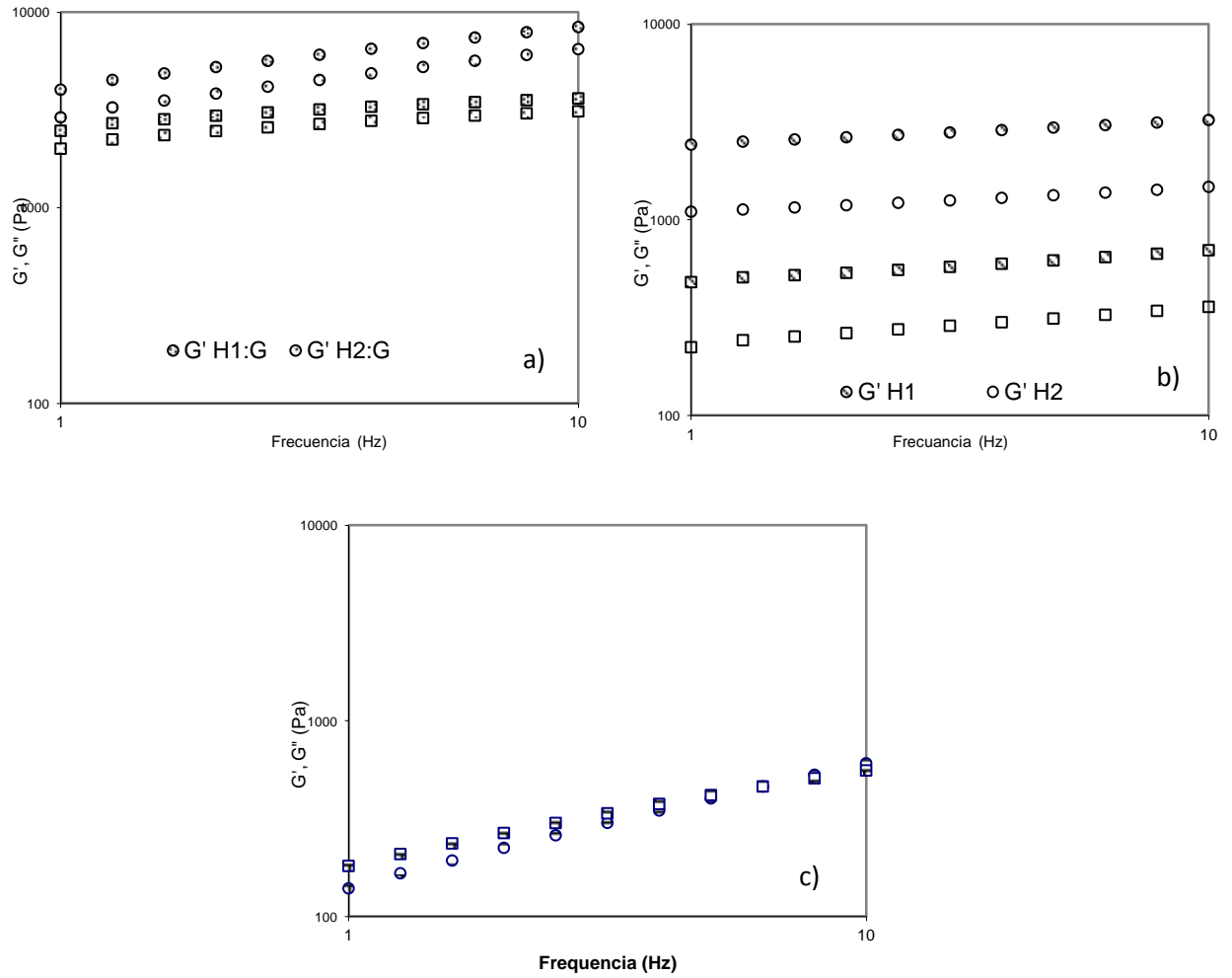


Figure 1 Comportamiento de los modulos de elástico y viscoso de los geles de obtenidos con los diferentes hidrocoloides estudiados que mejores propiedades sólidas presentaron, 5 °C, pH=9, no NaCl. ● G' , ■ G'' , a) SHM1 y SHM2; b) HP1 and HP2; c) GCF

PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS Y FUNCIONALES EN NUEVE VARIEDADES DE ALMIDÓN DE PAPAS NATIVAS (*Solanum phureja*)

Martínez Patricia, Málaga Alexandra, Betalleluz Indira, Linares Laura, Ureña Milber, Velezmoro Carmen.

Departamento de Ingeniería de Alimentos, Facultad de Industrias Alimentarias, Universidad Nacional Agraria La Molina. Av. La Molina s/n La Molina, Lima, Perú.
e-mail: pmartinezt@lamolina.edu.pe

Solanum phureja es una variedad de papa nativa, cultivada desde la época preinca, que crece a una altitud entre 3700-4450 msnm, generalmente cultivada y consumida por el mismo agricultor. El almidón es un carbohidrato de reserva sintetizado por plantas superiores y constituye la principal fuente de energía en la mayor parte de organismos vivos. Su presencia en raíces y tubérculos como yuca, papa, arracacha, tanto como en semillas y cereales contribuye principalmente a cambiar las propiedades de textura de algunos alimentos y como materia prima en aplicaciones industriales como espesante, estabilizante, gelificante, adhesivo y agente de retención de agua (Rondán-Sanabria y Finardi-Filho, 2009). El almidón es una materia prima muy utilizada en la industria alimentaria debido a sus propiedades tales como su baja temperatura de gelatinización y su baja tendencia a la retrogradación (Zaidul *et al.*, 2007). Las variaciones en las propiedades de las suspensiones de almidón podrían ser causados por diferentes factores, tales como el tamaño del gránulo de almidón (Kaur *et al.*, 2007), el contenido de fósforo y de amilosa (Liu *et al.*, 2003), el complejo amilosa-lípido y la estructura de la amilopectina (Noda *et al.*, 2005). El objetivo de este trabajo fue proporcionar conocimientos acerca de las propiedades fisicoquímicas y funcionales del almidón de estas papas nativas, a fin de evaluar la posibilidad de usarlo en la industria alimentaria.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestras

Las papas nativas fueron adquiridas de agricultores de Pampacorral (Cusco, Perú). Las variedades evaluadas fueron Puka ambrosio (PA), Combe (CO), Perwanita (PER), Kalisqero (KQ), Qello virondos (QEV), Yana churos (YACH), Pitikiña (PI), Yana kusi (YAKU) y Solischa (SOL).

Extracción de almidón

El almidón fue extraído con agua destilada de acuerdo con la metodología de Liu *et al.* (2003). Obtenido el almidón, éste fue tamizado a través de una malla de 125 µm y empacados en bolsas plásticas selladas herméticamente.

Humedad

El contenido de humedad fue determinado en 2 g de almidón en una placa hasta peso constante en una estufa a 130 °C con circulación de aire durante 3 h (AOAC, 1990).

Amilosa y amilopectina

Para la determinación de amilosa y amilopectina se utilizó el método espectrofotométrico descrito por McGrance *et al.* (1998) que determina el contenido de amilosa en el almidón.

Poder de hinchamiento, capacidad de absorción de agua y solubilidad

Se utilizó el método modificado de Sathe y Salunkhe, (1981). Se prepararon suspensiones de almidón (1%) y se calentaron a 60, 70, 80 y 90 °C. Luego se centrifugó a 4000 rpm por 50 minutos, se separó el sobrenadante para cuantificar el porcentaje de solubles; y de la pasta sedimentada. Se cuantificó el porcentaje de hinchamiento, así como el índice de absorción.

Claridad

Se utilizó la metodología de Bello-Pérez (1995). Se prepararon dispersiones de almidón (1%) con agua desionizada y se colocaron en tubos de ensayo con tapón de rosca; los que se calentaron a 100 °C por 30 minutos, agitándolos cada 5 minutos. Posteriormente, se enfriaron los tubos a temperatura ambiente y los geles se transfirieron a celdas de 1 cm para determinar el porcentaje de transmitancia (%T) a 650 nm en un espectrofotómetro, previamente ajustado a cero con agua desionizada.

Sinéresis (Retrogradación)

Se prepararon dispersiones de almidón al 2% (b.s). Se calentaron a 90 °C por 30 minutos y con agitación constante; luego se enfriaron rápidamente. Las muestras se almacenaron por 7 días a 4 °C. Se determinó la sinéresis al día 1, 2, 3, 4 y 7 y la cantidad de agua liberada (expresada como porcentaje de la masa de la muestra) después de haber centrifugado la muestra a 3000 rpm por 15 minutos.

Comportamiento reológico y viscosidad aparente

Se empleó la metodología reportada por Bello-Pérez *et al.* (2002) con modificaciones. Se prepararon dispersiones de almidón (4%), se calentaron a 95 °C y agitación por 15 minutos, luego se enfriaron a temperatura ambiente. La viscosidad aparente de la suspensión

fría fue medida a 25 °C usando el reómetro Brookfield RV DV III con el spindle SCA-27 a 7.0 rpm. Para el análisis reológico, la velocidad de corte se incrementó desde 0.6 rpm hasta 7.0 rpm y se utilizó la ley de Potencia para determinar el comportamiento reológico.

Análisis de perfil de textura (TPA)

Los geles de almidón fueron analizados mediante un TPA, descrito por Rondán-Sanabria y Finardi-Filho (2009), con ciertas modificaciones y usando el texturómetro QTS Controller (Brookfield Laboratories). Los geles formados fueron directamente usados en el TPA, cada gel fue penetrado con un accesorio cilíndrico de 25.4 mm de diámetro (TA11). Se obtuvieron dos curvas de fuerza con una velocidad de 10 mm/s y se calcularon la dureza, cohesividad, adhesividad, elasticidad y gomosidad.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Amilosa y amilopectina

El contenido de amilosa, en promedio, de las variedades de almidón de papas nativas evaluadas fue 26.8% y el contenido de amilopectina, en promedio, fue 73.2%; que son diferentes a los obtenidos para almidón de maíz (28.3% y 71.7%) (Betancur-Ancona *et al.*, 2001), de makal (22.4% y 77.6%) (Torruco-Uco y Betancur-Ancona, 2007) y de maca (20.5% y 79.5%) (Rondán-Sanabria y Finardi-Filho, 2009). El almidón de la variedad YACH presentó un contenido de amilosa (29.1%) ligeramente mayor al promedio, y por consiguiente un contenido de amilopectina (70.9%) ligeramente menor. Según Charles *et al.* (2005), el contenido de amilosa y amilopectina, así como el contenido de proteínas y lípidos, son determinantes en ciertas características estructurales y funcionales del almidón, y por lo tanto condicionan que éste pueda ser añadido a un alimento específico para mejorar sus características y apariencia. Asimismo, Singh *et al.* (2003) mencionan que almidones con bajo contenido de amilosa muestran alto poder de hinchamiento y baja solubilidad cuando son calentados en exceso de agua.

Poder de hinchamiento, capacidad de absorción de agua y solubilidad

El poder de hinchamiento, la capacidad de absorción de agua y la solubilidad mostraron estar directamente correlacionadas con el incremento de la temperatura, similar correlación reportaron Torruco-Uco y Betancur-Ancona (2007) así como Rondán-Sanabria y Finardi-Filho (2009) para almidones de makal y maca, respectivamente. En las variedades estudiadas, no se encontraron diferencias en el poder de hinchamiento, capacidad de absorción de agua y solubilidad de los gránulos de almidón, tal como se muestra en las

Figuras 1, 2 y 3. Sin embargo, a 90 °C el almidón de la variedad PI mostró los mayores valores de poder de hinchamiento, capacidad de absorción de agua y solubilidad. El poder de hinchamiento encontrado fue de 28.5 g agua/g almidón, similar al reportado por Torruco-Uco y Betancur-Anconca (2007) de 28.6 g agua/g almidón en almidón de makal; estos resultados son menores que el reportado por Betancur-Anconca *et al.* (2001) para almidón de yuca (58.8 g agua/g almidón). La capacidad de absorción de agua y la solubilidad para el almidón de la variedad PI fueron 22.7 g agua/g almidón y 20.2%, respectivamente. Este último resultado es menor al reportado por Torruco-Uco y Betancur-Anconca (2007) de 32.8% para almidón de makal y al reportado por Betancur-Anconca *et al.* (2001) de 53.8%.

Claridad

La claridad es un parámetro clave para determinar la aplicación de los almidones en productos alimenticios debido a que pueden dar brillantez u opacidad al producto final (Torruco-Uco y Betancur-Anconca, 2007). Las variedades PA, KQ y PI presentaron transmitancia (%T) de 93.9, 94.1 y 93.2 %, respectivamente; lo que demuestra que son más translúcidos que el almidón de maíz comercial (22.4%) (Betancur-Anconca *et al.*, 2001) e incluso que el almidón de makal (36.8%) (Torruco-Uco y Betancur-Anconca, 2007). Hoover *et al.* (1996) mencionan que el grado de transmitancia está directamente afectado por el poder de hinchamiento, lo que coincide con los resultados obtenidos en el almidón de la variedad PI, que presentó el mayor poder de hinchamiento y también un valor alto de claridad en su pasta.

Sinéresis (Retrogradación)

La sinéresis caracteriza la estabilidad del almidón en refrigeración, en la Figura 4 se muestran los valores obtenidos en los almidones de las variedades de papa evaluadas. Los valores más bajos de sinéresis a 4°C los presentaron los almidones de las variedades CO y YACH, 3.8 y 4.6%, respectivamente. Estos valores son similares a los reportados por Rondán-Sanabria y Finardi-Filho (2009) pero para almidones de maca retrogradados a -10 °C. Asimismo, Gunaratne y Hoover, (2002) y Singh *et al.* (2003) mencionan que los almidones que presentan alta sinéresis se debe a su alto contenido de amilosa, pues ésta influencia las propiedades de gelatinización y retrogradación.

Comportamiento reológico y viscosidad aparente

Las suspensiones de almidón de las variedades de papa *Solanum phureja* mostraron un comportamiento no newtoniano, específicamente pseudoplástico ($n < 1$). Con respecto a la viscosidad aparente, se presentaron diferencias significativas entre el almidón de la variedad

PER (5267.9 cP) y el de la variedad CO (33080.4 cP) a 7.0 rpm y 25 °C. La variedad y la zona de cultivo tienen una influencia significativa en la viscosidad aparente de las suspensiones de almidón. La alta viscosidad de los almidones podrían ser aprovechadas para aplicaciones en la industria alimentaria en la que se desee aumentar el poder espesante (Aprianita et al., 2009).

Análisis de perfil de textura (TPA)

Las propiedades de textura evaluados en el TPA se presentan en la Tabla 1. Los geles de almidón correspondientes a las variedades evaluadas no presentaron fracturabilidad, los valores de cohesividad variaron entre 0,54-0,63, los de elasticidad entre 9.07- 9.56 y los de gomosidad entre 1.30-3.42 N. La dureza del almidón gelatinizado ha sido asociada con la matriz de amilosa y el efecto de llenado de los gránulos hinchados (Kaur *et al.*, 2007). Con respecto a esta propiedad, se encontraron diferencias entre el almidón de la variedad SOL (2.18 N) y el de la variedad PI (5.62 N). Kaur *et al.* (2007) reportaron valores de dureza más bajos para los geles de almidón de papa de las variedades Kufri Ashoka, Kufri Dewa y Kufri Kunden (0.16-0.28 N) en comparación con los valores encontrados en esta investigación. Rondán-Sanabria y Finardi-Filho (2009) encontraron un valor de 4.12 N para la dureza de almidón de maca, valor similar al encontrado para el almidón de la variedad QEV.

CONCLUSIONES

El bajo porcentaje de exudación presentado por los almidones de las variedades CO y YACH sugieren que podrían ser usados como espesantes, estabilizantes o gelificantes en alimentos refrigerados. La alta claridad que presentaron los almidones de las variedades PA, KQ y PI sugiere que podrían ser aplicados en alimentos como espesantes, debido a que no afectarían el color del producto terminado. Por otro lado, la variedad CO que presentó la menor sinéresis y la mayor viscosidad aparente (en las condiciones medidas), sugiere que podría tener una aplicación industrial en la que se desee un alto poder espesante. Finalmente, mayores estudios y aplicaciones en alimentos serían de gran ayuda para determinar usos específicos de almidones de esta papa nativa, *Solanum phureja*, a fin de utilizar almidones nativos (sin modificación) en la industria alimentaria; y por consiguiente se daría un gran valor agregado a esta variedad de papa.

AGRADECIMIENTO

Esta investigación fue parcialmente financiada por el Proyecto de Innovación Tecnológica de la Universidad Nacional Agraria La Molina (IT-UNALM).

REFERENCIAS

- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. N-984.25. Association of Analytical Chemistry. Vol 2. Editorial Board. U.S.A.
- Aprianita, A., Purwandari, U., Watson, B. & Vasiljevic, T. 2009. Physico-chemical properties of flours and starches from selected commercial tubers available in Australia. *International Food Research Journal* 16: 507-520.
- Bello-Pérez, L. 1995. Claridad de los geles de almidón. En: Manual de métodos de caracterización de carbohidratos (pp. 57). Quito, Ecuador. Escuela Politécnica Nacional.
- Bello-Pérez, L., Jiménez, A., Contreras, S., Romero, R. & Solorza, J. 2002. Propiedades Químicas y Funcionales del Almidón Modificado de Plátano *Musa Paradisiaca* L. (Var. Macho). México. Vol. 36, número 002. 169-180.
- Betancur-Ancona, D. A., Chel-Guerrero, L. A., Camelo-Matos, R. I. & Dávila-Ortiz, G. 2001. Physicochemical and functional characterization of baby lima bean (*Phaseolus lunatus*) starch. *Starch/Stärke*, 53, 219-226.
- Charles, L. A., Chang, H. Y., Ko, C. W., Shiroth, K. & Huang, C. T. 2005. Influence of amylopectin structure and amylose content on the gelling properties of five cultivars of *Cassava* starches. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 2717–2725.
- Gunaratne, A., & Hoover, R. 2002. Effect of heat-moisture treatment on the structure and physicochemical properties of tuber and root starches. *Carbohydrate Polymers*, 49, 425-437.
- Hoover, R., Sailaja, Y., & Sosulski, F. 1996. Characterization of starches from wild and long grain brown rice. *Food Research International*, 29, 99–107.
- Kaur, L., Singh, J., McCarthy, O. & Singh, H. 2007. Physico-chemical, rheological and structural properties of fractionated potato starches. *Journal of Food Engineering* 82, 383-394.
- Liu, Q., Weber, E., Currie, V. & Yada, R. 2003. Physicochemical properties of starches during potato growth. *Carbohydrate Polymers* 51, 213-221.
- McGrance, S., Cornell, H. & Rix, C. 1998. A simple and rapid colorimetric method for the determination of amylose in starch products. *Starch/Stärke* 50, 158-163.
- Noda, T., Takigawa, S., Matsuura-Endo, C., Kim, S., Hashimoto, N., Yamauchi, H., Hanashiro, I. & Takeda, Y. 2005. Physicochemical properties and amylopectin structures of large, small, and extremely small potato starch granules. *Carbohydrate polymers* 60, 245-251.
- Rondán-Sanabria, G. & Finardi-Fhilo, F. 2009. Physical-chemical and functional properties of maca root starch (*Lepidium meyenii* Walpers). *Food Chemistry* 114, 492-498.
- Sathe, S. K. & Salunkhe, D. K. 1981. Isolation, partial characterization and modification of the greath northern bean (*Phaseolus vulgaris*) starch. *Journal of Food Science*, 46, 617-621.

Singh, N., Singh, J., Kaur, L., Sodhi, S. N. & Gill, S. B. 2003. Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. *Food Chemistry*, 81, 129-231.

Torruco-Uco, J. & Betancur-Ancona, D. 2007. Physicochemical and functional properties of makal. *Food Chemistry* 101, 1319-1326.

Zaidul, I., Yamauchi, H., Matsuura-Endo, C., Suzuki, T. & Noda, T. 2007. Correlation between the compositional and pasting properties of various potato starches. *Food Chemistry* 105, 164-172.

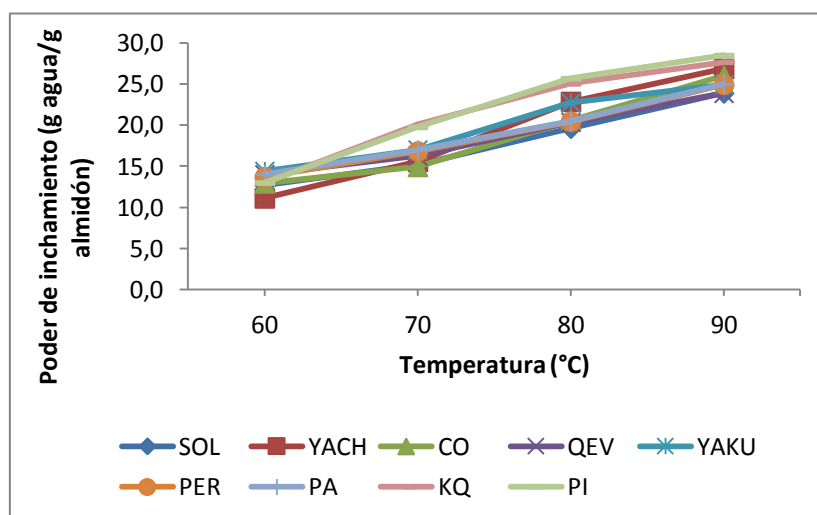


Figura 1. Poder de hinchamiento (g agua/g almidón) en almidones de papa *Solanum phureja*

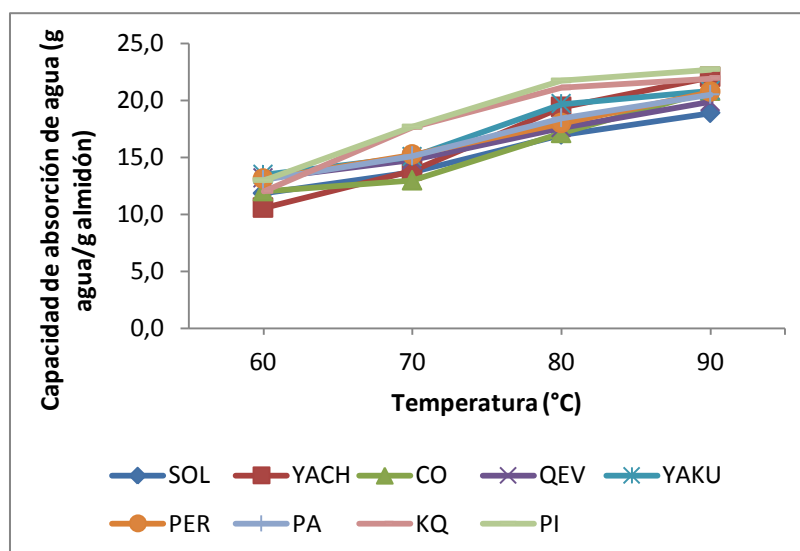


Figura 2. Capacidad de absorción de agua (g agua/g almidón) en almidones de papa *Solanum phureja*

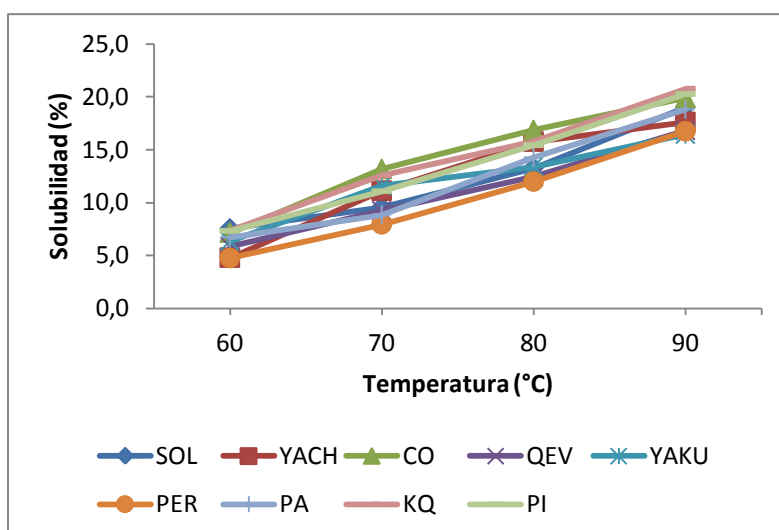


Figura 3. Solubilidad (%) en almidones de papa *Solanum phureja*

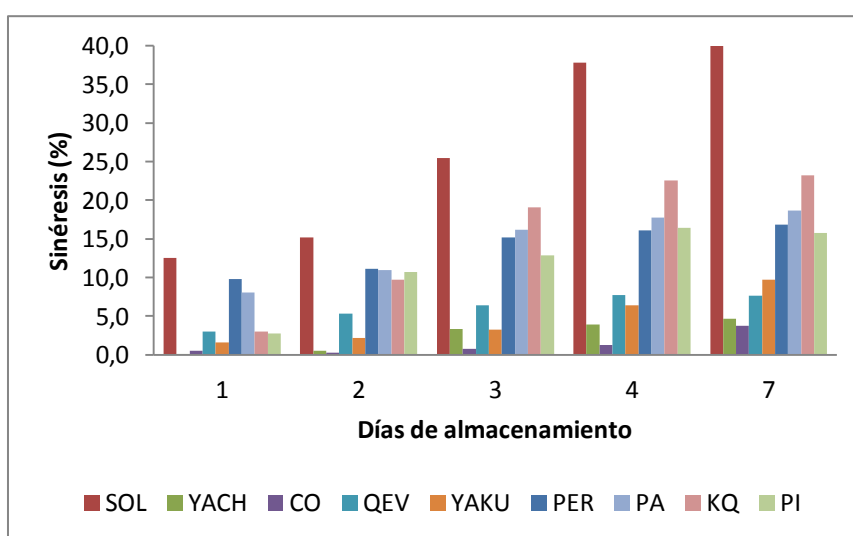


Figura 4. Sinéresis (%) de almidones de papa *Solanum phureja* en refrigeración

Tabla 1. Propiedades de textura de los geles de almidón de papa nativa *Solanum phureja*

Variedad	Dureza (N)	Cohesividad	Elasticidad (mm)	Adhesividad (Ns)	Gomosidad (N)
SOL	2.18	0.60	9.07	-2.51	1.30
YACH	4.75	0.59	9.22	-3.67	2.82
CO	4.38	0.57	9.12	-1.74	2.76
QEV	4.13	0.60	9.27	-2.13	2.59
YAKU	4.76	0.63	9.15	-2.09	2.76
PER	5.19	0.62	9.35	-2.29	3.45
PA	4.83	0.59	9.39	-1.58	2.94
KQ	4.78	0.60	9.56	-1.98	2.83
PI	5.62	0.54	9.33	-3.34	3.42

MALTODEXTRINAS ENZIMÁTICAMENTE RESISTENTES OBTENIDAS POR PIROCONVERSIÓN E HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA DE ALMIDÓN DE YUCA (*Manihot esculenta*)

Rocío Toraya-Avilés, Maira Segura-Campos, David Betancur-Ancona

Facultad de Ingeniería Química. Universidad Autónoma de Yucatán, Periférico Norte, Km. 33.5, Chuburná de Hidalgo Inn, Mérida, Yucatán, C.P. 97288, bancona@uady.mx

INTRODUCCIÓN

El almidón es la principal fuente de energía para los seres humanos y se encuentra en diversas fuentes como cereales, leguminosas, frutas, tubérculos, etc. Entre estas, las raíces de Yuca (*Manihot esculenta*) son consideradas la segunda fuente de almidón en el mundo, ya contienen más almidón por peso seco que cualquier otro cultivo alimentario y su proceso de obtención es más sencillo que el de los cereales; además es un cultivo muy flexible y resistente. Su almidón se usa principalmente en forma nativa; sin embargo, la industria prefiere almidones con propiedades funcionales y nutrimentales versátiles para satisfacer necesidades específicas. Para ello, estos pueden ser modificados a través de métodos químicos, físicos y bioquímicos, causando la alteración o ruptura de algunas o todas las moléculas y permitiendo realzar o inhibir propiedades como la viscosidad, solubilidad, poder de hinchamiento, gelificación, digestibilidad, entre otras. Entre los métodos de modificación se encuentran la piroconversión y la hidrólisis enzimática, que al aplicarse secuencialmente sobre moléculas de almidón nativo permiten la obtención de compuestos conocidos como maltodextrinas enzimáticamente resistentes (MER) (Aristizabl *et al.*, 2007; Balagopalan, 2002). Éstas tienen un gran potencial como ingrediente alimentario por sus propiedades funcionales (alta solubilidad, baja viscosidad, resistencia a temperaturas elevadas, formación de soluciones claras y estables) pero principalmente por ser indigeribles o de baja digestibilidad, por lo cual poseen un aporte calórico bajo en relación con el almidón nativo y propiedades fisiológicas similares a las de la fibra soluble (Prosky y McCleary, 2001). Con base en lo antes mencionado, en este trabajo se elaboró una maltodextrina enzimáticamente resistente obtenida por piroconversión e hidrólisis enzimática de almidón de yuca, se evaluaron sus características fisicoquímicas y nutrimentales y se incorporó en la elaboración de un producto de panificación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se inició con la extracción del almidón nativo de Yuca (Hernández *et al.*, 2008) a partir de ejemplares frescos adquiridos en un ejido productor de Oxkutzcab, Yucatán. Este almidón fue sometido posteriormente a diferentes tratamientos de piroconversión (Laurentin *et al.*, 1996) que se realizaron de acuerdo a un diseño factorial 2^3 con 4 réplicas del tratamiento central. Los factores y sus niveles fueron: relación almidón/HCl 2.2 M (80:1 y 160:1, p/v), temperatura (90 °C y 110 °C) y tiempo (1 h y 3 h), como variable respuesta se utilizó la cantidad de almidón indigerible (AI). Se seleccionó como el mejor tratamiento a la pirodextrina con mayor contenido de AI y menor diferencia de color (ΔE) con respecto al almidón nativo de *M. esculenta*. Éstas se sometieron a hidrólisis enzimática (Ohkuma *et al.*, 1997) de acuerdo a un diseño factorial 2^2 con 4 réplicas del tratamiento central. Los factores y sus niveles fueron: concentración enzima-sustrato (0.01 y 0.05 %, v/v) y tiempo de reacción (5 min y 15 min), como variable respuesta se utilizó el número de equivalentes de dextrosa (ED); siendo el mejor tratamiento aquel donde se consiguió la MER con el número de ED más bajo. A la pirodextrina y MER obtenidas en el mejor tratamiento se les evaluaron propiedades funcionales, entre ellas, gelatinización (Ruales *et al.*, 1994), absorción de agua (Anderson *et al.*, 1969), solubilidad y poder de hinchamiento (Schoch, 1964; modificado por Sathe y Salunkhe, 1981), así también propiedades nutrimentales, entre ellas, almidón disponible (Holm *et al.*, 1986), indigerible (Tovar, 1992) y fibra dietética total determinada de acuerdo al método 2001.03 de la AOAC (2005). Se evaluó el índice glicémico de la MER (Granfeldt y Bjorck, 1991) y ésta fue incorporada en la formulación de 2 prototipos de pan blanco o pan de caja, donde sustituyeron al azúcar en un 50 y 100 %, respectivamente. A estos panes, junto con un pan testigo, se les realizó una evaluación sensorial mediante una escala hedónica estructurada de siete puntos descriptores (Anzaldúa-Morales, 2005). Los datos obtenidos fueron procesados mediante estadística descriptiva para obtener medidas de tendencia central y de dispersión. Los resultados obtenidos de los tratamientos de piroconversión, de hidrólisis enzimática y la evaluación sensorial también fueron procesados mediante análisis de varianza a un nivel de significancia del 5 %, según los métodos reportados por Montgomery (2011). La prueba de Duncan se aplicó para determinar las diferencias entre las medias de los tratamientos. También se realizó el análisis de regresión a través del programa estadístico Statgraphics plus 5.1.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las pirodextrinas de *M. esculenta* presentaron valores de AI en un rango de 30.16 % a 48.76 %. El análisis de varianza de los datos indicó que tanto la interacción temperatura-tiempo como la de almidón/HCl-temperatura-tiempo tuvieron un efecto significativo ($p < 0.05$) para obtener la mayor cantidad de AI. Los tratamientos 2, 4 y 7 fueron los que registraron los mayores valores de almidón indigerible; 42.51 %, 48.76 % y 45.98 %, respectivamente. Estos fueron estadísticamente diferentes a los presentados por los demás tratamientos ($p < 0.05$). Los valores de ΔE presentados por dichos tratamientos fueron de 10.25, 4.71 y 1.89, respectivamente. Por lo tanto, se seleccionó como mejor tratamiento al número 7, que implicó usar una relación baja de almidón/HCl (160:1), temperatura baja (90 °C) y tiempo prolongado de reacción (3 h). La pirodextrina del tratamiento 7 se sometió a hidrólisis enzimática obteniendo MER con valores de ED en un rango de 24.45 % a 39.23 %. El análisis de varianza de los datos indicó que únicamente el factor de concentración de la enzima tuvo un efecto significativo ($p < 0.05$) sobre el número de ED obtenidos. El tratamiento 3 fue el que registró el menor porcentaje de ED (24.45 %); éste fue significativamente diferente al resto de los tratamientos ($p < 0.05$). En relación a las propiedades funcionales de los mejores tratamientos, el almidón pirodextrinizado presentó valores de absorción de agua entre 0.16 y 1.47 g de agua/g de gel, lo cual indica una leve capacidad al compararlo con el almidón nativo de yuca (42-71 g de agua/g de gel) (Moorthy, 2002). La MER no mostró esta capacidad en ninguna de las temperaturas evaluadas. Con respecto a la solubilidad, la MER presentó valores elevados (99.8-100 %) en todas las temperaturas empleadas (25 °C – 90 °C), alcanzando su máximo a partir de los 60 °C. La pirodextrina mostró una solubilidad más baja que la MER a 25 °C y 60 °C (56 y 93 %, respectivamente), a las demás temperaturas se encontraron valores de 100 % de solubilidad. En lo referente al poder de hinchamiento, las pirodextrinas mostraron cierta capacidad a temperaturas bajas (25 °C y 60 °C) a diferencia de la MER, cuya capacidad fue nula. A partir de los 70 °C, la pirodextrina no reportó esta propiedad y continuó ausente en la MER. Por otra parte, no se observaron picos de gelatinización o de transición en los termogramas realizados a la pirodextrinas y MER, lo cual fue un indicativo de la pérdida de la estructura cristalina nativa.

Con respecto a sus propiedades nutrimentales, se pudo observar la presencia de un contenido importante de almidón indigerible en ambos compuestos y de fibra dietética total, así como un descenso considerable de la fracción de almidón disponible (Figuras 1 y 2) con respecto a lo reportado por Betancur (2001) para almidón nativo de *M. esculenta* (93.9 %),

ésto se debe principalmente al proceso de piroconversión, el cual permite la formación de un impedimento estérico en el sitio de acción de las enzimas, debido a la generación de enlaces glucosídicos β 1-2 y β 1-3 a expensas de los enlaces α 1-4 y α 1-6, lo cual hace que estos compuestos sean menos susceptibles a la actividad de las enzimas digestivas. El índice glicémico (IG) estimado para la MER fue 59 %, lo cual la clasifica como un ingrediente de IG moderado de acuerdo a la escala que utiliza como estándar a la glucosa (Noriega, 2004). Se puede destacar que el índice glicémico obtenido para ésta representa una reducción del 46.4 % del IG que Whelan (2008) reporta para las maltodextrinas y maltosa (≈ 110) sin modificaciones, las cuales son de rápida digestión. Con base en la prueba afectiva aplicada a los panes, se pudo situar a las tres muestras evaluadas cerca del nivel de agrado “me gusta poco”, no existiendo diferencia estadísticamente significativa entre las medias de los tres panes. Este resultado es favorable, ya que esto indicaría que la sustitución de sacarosa por MER en la fórmula de pan blanco es viable y permitiría incorporar a este producto las propiedades de la fibra dietética soluble sin afectar la aceptación por parte de los consumidores.

CONCLUSIONES

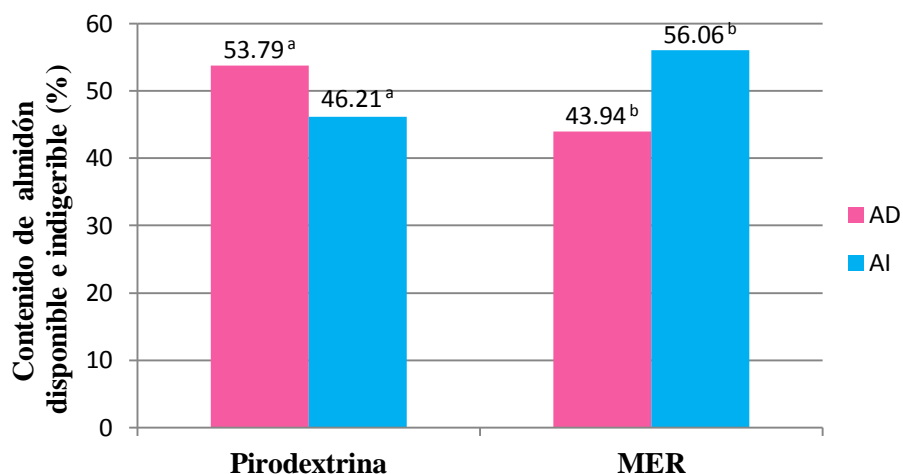
La interacción temperatura-tiempo así como la de almidón/HCl-temperatura- tiempo fueron los factores que más afectaron la obtención de almidón indigerible en las pirodextrinas de *M. esculenta*. Las mejores condiciones de piroconversión fueron: almidón/HCl (160:1), temperatura (90 °C) y tiempo de reacción (3 h), ya que se obtuvo un buen contenido de almidón indigerible (45.98 %) y la menor diferencia de color ($\Delta E=1.89$). El factor concentración de enzima tuvo el mayor efecto en los ED obtenidos en la hidrólisis enzimática. El menor porcentaje de ED conseguido fue 24.45 %. Tanto en la pirodextrina como en la MER obtenidas en condiciones experimentales de los mejores tratamientos, se tuvo un aumento de la porción indigerible respecto al almidón nativo y en detrimento de la fracción digerible. Para la pirodextrina se obtuvo 53.79 % de AD, 46.21 % de AI y 78.86 % de fibra dietética total y para la MER fue menor el contenido de AD (43.94 %) y mayor su fracción indigerible (56.06 %) y la fibra dietética total con 86.62 %. Se observó que las reacciones de piroconversión e hidrólisis enzimática además de tener un efecto importante sobre las características nutrimentales del almidón nativo de yuca también afectaron sus propiedades funcionales. En comparación con el almidón nativo, la pirodextrina obtuvo una leve capacidad de absorción de agua (0.16-1.47 g de agua/g de gel). La MER no presentó esta

propiedad en ninguna de las temperaturas evaluadas. La solubilidad aumentó en la pirodextrina (56-100%) pero fue aún mejor en la MER (99.8-100 %). Con respecto al poder de hinchamiento, las pirodextrinas mostraron cierta capacidad a temperaturas bajas (25 y 60 °C) y fue nula al aumentar la temperatura. La MER no presentó esta propiedad. Tampoco se encontró algún pico endotérmico que identifique la transición de gelatinización en los termogramas realizados a la pirodextrina y a la MER. El índice glicémico (IG) estimado para la MER fue 59 % en individuos sanos, lo cual la clasifica como un ingrediente de IG moderado tomando como estándar a la glucosa. La evaluación sensorial de los dos prototipos de pan blanco con MER los ubicó cerca del nivel de agrado “me gusta poco”, al igual que el pan blanco testigo; sin encontrar diferencia significativa ($p>0.05$) entre los niveles de agrado de las 3 muestras.

BIBLIOGRAFÍA

- Anderson, R. A, Conway, H.F., Pfeifer, V.F., y Griffin, E.L. (1969). Gelatinization of corn grits by roll and extrusion cooking. *Cereal Science Today*, 14, 4-12.
- Anzaldúa - Morales, M. (2005). *La evaluación sensorial de los alimentos*. Zaragoza, España: Editorial Acribia.
- AOAC Official Method 2001.03 Dietary fiber containing supplemented resistant maltodextrin (RMD) (2005).
- Aristizabal, J., Sánchez, T. y Mejía, D. (2007). *Guía técnica para producción y análisis de almidón de yuca*. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación, Roma.
- Balagopalan, C. (2002). Cassava utilization in food, feed and industry. En: *Cassava: Biology, Production and Utilization*. Hillocks, R. J., Thresh J. M. & Bellotti A. (Edits.). C. International, New York, 301-318.
- Betancur, D. A. (2001). *Caracterización molecular, nutricia y funcional de almidones de Phaseolus lunatus y Mucuna pruriens*. Tesis. D.F., México: Insituto Politécnico Nacional.
- Granfeldt, Y., y Björck, I. (1991). Glycemic response to starch in pasta: a study of mechanisms of limited enzyme availability. *Journal of Cereal Sciences*, 14, 47-61.
- Hernández, M., Torruco, J.G., Chel, L. y Betancur, D. (2008). Caracterización fisicoquímica de almidones de tubérculos cultivados en Yucatán, México. *Ciencia y Tecnología de los alimentos*, 28 (3), 718-726.
- Holm, J., Björck, I., Drews. A., Asp, N.G. (1986). A rapid method for the analysis of starch. *Starch/Stärke*, 38, 224-226.
- Laurentin, A.I., Pérez, E. y Tovar, J. (1996). Efectos de la irradiación con microondas y la dextrinización por calor sobre la digestión in vitro del almidón de lenteja (*Lens culinaris*). En *Memorias de la Conferencia Internacional de Almidón. Propiedades Fisicoquímicas, Funcionales y Nutricionales* (págs. 275-281). Quito, Ecuador.

- Moorthy, S. N. (2002). Physicochemical and Functional Properties of Tropical Tuber Starches: A review. *Starch/Stärke*, 54: 559-592.
- Montgomery, D. (2011). *Diseño y análisis de experimentos* (2da Ed.). México: Limusa Wiley.
- Noriega, E. (2004). El índice glicémico. *Cuadernos de Nutrición*, 27 (3), 117-124.
- Ohkuma, K., Hanno, Y., Inada, K., Matsuda, I. y Katta, Y. (1997). Indigestible dextrin, U.S. Patent 5.620.873.
- Prosky, L. y McCleary, B. V. (2001). *Advanced Dietary Fiber Technology*. Blackwell Science, U.S.A.
- Ruales, J. y Nair, B. (1994). Properties of starch and dietary fiber in raw and processed quinoa (*Chenopodium quinoa*, Wild) seeds. *Plant Foods for Human Nutrition*, 45 (3), 223-246.
- Sathe, S.K. y Salunkhe, D.K. (1981). Isolation, partial characterization and modification of the great northern bean (*Phaseolus vulgaris*) starch. *Journal of Food Science*, 46 (4), 617-621.
- Schoch, J.T. (1964). Swelling power and solubility of starch granules. En *Methods in Carbohydrates Chemistry*. Eds. R.L. Whistler, R.J. Smith, and M.L. Wolfrom (págs. 106-108). New York, USA: Academic Press.
- Tovar, J. (1992). Bioavailability of starch in processed legumes. Importance of physical inaccessibility and retrogradation. *Scandinavian Journal of Nutrition*, 36, 164-172.
- Whelan, W. J. (2008). The wars of carbohydrates, part 6: What a name! *IUBMB Life*, 60: 555-556.



^{a-b} Letras diferentes en barras de mismo color indican diferencia significativa ($P < 0.05$).

Figura 1. Contenido de almidón disponible e indigerible determinados a los mejores tratamientos de las pirodextrinas y MER de *M. esculenta*.

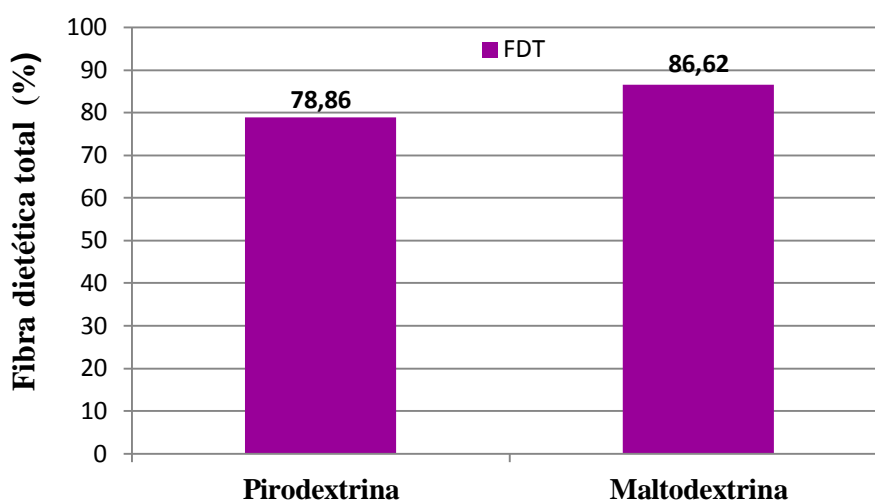


Figura 2. Contenido de fibra dietética total determinados a los productos experimentales.

ENCAPSULACIÓN DE HIDROLIZADOS PROTEÍNICOS DE *Phaseolus lunatus* CON ACTIVIDAD INHIBITORIA DE LA ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA

Jorge Carlos Ruiz Ruiz (2); Maira Rubí Segura Campos (1); David Abram Betancur Ancona (1); Luis Antonio Chel Guerrero (1)*.

(1) Facultad de Ingeniería Química, Universidad Autónoma de Yucatán. Periférico Norte. Km. 33.5, Tablaje catastral 13615, Col. Chuburná de Hidalgo Inn, Mérida, Yucatán, México. C.P. 97203. Teléfono: 52 999 946-09-56, Fax. 52 999 946-09-94. *mail: cguerrer@uady.mx

(2) Departamento de Ingeniería Química-Bioquímica, Instituto Tecnológico de Mérida, Av. Tecnológico km. 4.5 S/N. Mérida, Yucatán, México. C.P. 97118. Teléfono: 52 999 964-5000, 964-5001 Fax: 52 999 944-8181.

INTRODUCCIÓN

Las proteínas que tomamos a través de la dieta nos aportan los aminoácidos necesarios para el desarrollo y el mantenimiento de las células y los tejidos de nuestro organismo. En la actualidad, las proteínas alimentarias se investigan no sólo desde el punto de vista nutricional o funcional, sino como materia prima para la obtención de péptidos, ya que toda fuente de proteínas alimentarias es susceptible de aportar péptidos funcionales (Korhonen, 2002). En los últimos años, debido a la gran relevancia que estos péptidos han obtenido en el mercado, se han desarrollado técnicas para la obtención de nuevos péptidos bioactivos a partir de proteínas alimentarias mediante digestión enzimática *in vitro*, empleando enzimas proteolíticas de origen microbiano. De esta manera, proteínas de distinta procedencia han sido utilizadas para el aislamiento de péptidos a partir de hidrolizados enzimáticos, siendo interesante destacar que dependiendo de la fuente proteica, del tipo de enzima usado y de las condiciones de procesado, la actividad biológica y los péptidos obtenidos es distinta. Entre las proteínas de origen vegetal de las que se han aislado péptidos bioactivos encontramos las proteínas de soja, de trigo, de maíz, de arroz, de cebada y de girasol (Wang and González, 2005).

El mecanismo antihipertensivo más estudiado como actividad de los péptidos bioactivos es la inhibición de la actividad de la enzima convertidora de angiotensina (ECA). La ECA es una enzima que cataliza la conversión de la angiotensina I (decapéptido) en angiotensina II (octapéptido). La angiotensina II es un compuesto de elevada potencia vasoconstrictora. Su acción provoca la contracción rápida de las arteriolas y, por tanto, el incremento de la presión arterial, ya que estimula la secreción de aldosterona por las glándulas suprarrenales, hormona que induce la excreción de potasio y la retención de sodio y

agua y provoca el incremento del volumen extracelular, y la neutralización de la producción de renina. La renina libera el decapeptido angiotensina I del sistema renina-angiotensina. Este sistema es, quizás, el más importante de los diferentes mecanismos vasoconstrictores y vasodilatadores implicados en la regulación de la presión sanguínea (Ondetti and Cushman, 1982). La hipertensión arterial (HTA) es uno de los principales factores de riesgo para padecer enfermedad cardiovascular, cerebrovascular y falla renal, que son importantes causas de mortalidad en México. En tan solo seis años, entre 2000 y 2006, la prevalencia de HTA incremento 19.7% hasta afectar a 1 de cada 3 adultos mexicanos (31.6%). Diversos estudios han identificado como factores que contribuyen a la aparición de HTA la edad, una alta ingesta de sodio, dietas elevadas en grasas saturadas, el tabaquismo, estilo de vida sedentario y la presencia de enfermedades crónicas como obesidad, dislipidemias y diabetes entre otros factores (Barquera et al., 2010).

El potencial efecto hipotensivo de los péptidos inhibidores de la ECA depende de su capacidad para alcanzar intactos los órganos donde van a realizar su función. Son muchos los estudios realizados en los que se evalúa la actividad IECA de estos péptidos, pero es difícil establecer una relación directa entre la capacidad de inhibir la ECA *in vitro* y la actividad antihipertensiva *in vivo*. El estudio de la biodisponibilidad de los péptidos bioactivos es fundamental a la hora de diseñar alimentos funcionales con propiedades fisiológicas. Se sabe que dipéptidos y tripéptidos pueden transportarse a través de la mucosa intestinal, aunque también hay evidencias de que péptidos de mayor tamaño pueden absorberse en el intestino delgado. Se ha demostrado, por tanto, que algunos péptidos con actividad IECA y antihipertensiva son capaces de absorberse en el tracto gastrointestinal acumulándose en diversos órganos, por lo que podrían ejercer su mecanismo de acción sistémicamente. Sin embargo, se postula que determinados péptidos antihipertensivos podrían no absorberse en el tracto intestinal, ejerciendo una función directa en el lumen intestinal, o bien podrían ejercer su función mediante la interacción con receptores que se encuentran en la pared del intestino (Matsui et al., 2002). Una vez absorbidos, el elevado número de peptidasas que se encuentran en la sangre hace que el tiempo durante el que ciertos péptidos permanecen estables en el plasma sea muy corto. Sin embargo, existen algunas evidencias de que péptidos con actividad IECA pueden absorberse en el tracto digestivo y ser transportados por el torrente circulatorio sin ser hidrolizados por las proteasas sanguíneas (Vermeirssen et al., 2004). La microencapsulación permitiría obtener sistemas de liberación controlada o sostenida de sustancias con actividad biológica, como los hidrolizados proteínicos ricos en péptidos

activos, dicha liberación tendría el potencial de responder a diferentes mecanismos como cambios de pH, temperatura, fuerza osmótica, etc.

Considerando lo anterior el objetivo del presente trabajo fue evaluar la encapsulación de hidrolizados obtenidos a partir de concentrados proteínicos de la leguminosa *Phaseolus lunatus*, para dicha encapsulación se empleó una mezcla de alginato de sodio con goma modificada de la leguminosa *Delonix regia*. Se evaluaron mediante sistemas *in vitro* la actividad inhibitoria de la ECA de los hidrolizados y la liberación controlada de los mismos, en condiciones gástricas e intestinales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para la obtención del concentrado proteínico de la leguminosa *Phaseolus lunatus* se empleó el método reportado por Betancur-Ancona et al. (2004), que consistió en el fraccionamiento húmedo de la harina de *P. lunatus* para separar el almidón y los residuos fibrosos. La hidrólisis del concentrado proteínico se efectuó de acuerdo al método reportado por Megías et al. (2004). El grado de hidrólisis se evaluó determinando el número de grupos amino libres que reaccionaron con el reactivo o-ftaldialdehído (Nielsen et al., 2001). La actividad *in vitro* inhibitoria de la ECA se determinó empleando la metodología propuesta por Hayakari et al. (1978). La extracción de la goma de la leguminosa *Delonix regia* se llevó a cabo por remoción mecánica del endospermo y posterior disolución en etanol (Morochi et al., 1999). La goma de *D. regia* se modificó químicamente mediante carboximetilación (Bahamdan and Daly, 2006). Para encapsular el hidrolizado de *P. lunatus* con la mezcla (50:50) de alginato y goma modificada de *D. regia* a una concentración del 3%, se empleó el método de gelación iónica, utilizando como agente entrecruzante el cloruro de calcio (Betancur-Ancona et al., 2011). Para evaluar la encapsulación se utilizó un modelo 2² con cuatro puntos centrales (Tabla 1), donde los factores y niveles a evaluar fueron cloruro de calcio (1 y 3 mM) y pH (4 y 10). Como variable de respuesta se determinó el contenido de proteína (hidrolizado) encapsulado. El estudio *in vitro* de liberación controlada se efectuó simulando las condiciones gástricas (pH 1.2, 37 °C) e intestinales (pH 6.8, 37 °C) (Takagi et al., 2004). El análisis estadístico de los resultados se llevó a cabo de acuerdo a lo reportado por Montgomery (2004).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se obtuvo un grado de hidrólisis del 12.4%, un grado de hidrólisis extensivo como el obtenido se asocia no solo con la obtención de un producto que puede ser empleado como suplemento o ingrediente en regímenes de alimentación especial; sino que la modificación proteolítica genera péptidos los cuales exhiben actividad biológica. Dicho hidrolizado fue encapsulado empleando una mezcla (50:50) de alginato de sodio y goma carboximetilada de *D. regia* a una concentración del 3%. Las capsulas formados presentaron una morfología esférica (Figura 1). El contenido de proteína (hidrolizado) encapsulado varió entre 212.7 a 313.4 mg/mL; de acuerdo con el análisis de los datos obtenidos pudo establecerse que la concentración del agente entrecruzante (CaCl_2) y el pH influyeron de manera significativa en el contenido de proteína, observándose el mayor contenido en el tratamiento 3 (CaCl_2 1.0 mM, pH 10) y el menor en los tratamientos centrales (CaCl_2 2.0 mM, pH 7) (Figura 2). Durante el estudio *in vitro* en condiciones gástricas se observó la liberación de proteína en todos los tratamientos (Tabla 2). El tratamiento 2 liberó únicamente el 10.5% de su contenido indicando la estabilidad de las capsulas, por el contrario el tratamiento 3 liberó el 73.1% de su contenido. En condiciones intestinales simuladas, el tratamiento 1 liberó el 60.1% de su contenido y el tratamiento 3 el 20.2%. Lo observado en el tratamiento 1, es el comportamiento más conveniente, ya que se desea una máxima liberación de la proteína en condiciones intestinales. Lo anterior indicaría que las mejores condiciones para efectuar el encapsulamiento serían a bajas concentraciones de agente entrecruzante y bajos valores de pH. La actividad inhibitoria de la ECA se reporta en valores de IC_{50} , es decir la cantidad de proteína necesaria para inhibir el 50% de la actividad de la ECA (Tabla 2). Se entiende que a menor valor de IC_{50} mayor inhibición de la enzima. El tratamiento 3 presento el mayor IC_{50} en condiciones gástricas ya que liberó casi todo su contenido de proteína (hidrolizado), en tanto que en condiciones intestinales su valor de IC_{50} aumento, ya que la cantidad de proteína que liberó fue mucho menor. Por el contrario el tratamiento 1 presentó un valor bajo de IC_{50} en condiciones gástricas y un valor elevado en condiciones intestinales, ya que la mayoría de su proteína la libera en dichas condiciones.

CONCLUSIONES

La mezcla de alginato de sodio con goma carboximetilada de *D. regia* fue efectiva para encapsular los hidrolizados de *P. lunatus*. Son necesarios más estudios para optimizar las condiciones de encapsulación y evaluar la eficiencia de liberación y de inhibición de la

ECA en sistemas vivos. Sin embargo las capsulas obtenidas podrían emplearse como un sistema de liberación controlada de sustancias con actividad biológica, planteando así su potencial aplicación en el diseño de sistemas alimentarios de tipo funcional.

BIBLIOGRAFÍA

Bahamdan, A. and Daly, W.H. (2006). Poly(oxyalkylene) grafts to guar gum with applications in hydraulic fracturing fluids. *Polymers for Advanced Technologies*. 17(9-10): 679-681.

Barquera, S., Campos-Nonato, I., Hernandez-Barrera, L., Villalpando, S., Rodriguez-Gilbert, C., Durazo-Arvizu, R., Aguilar-Salinas, C.A. (2010). Hypertension in Mexican adults: results from the National Health and Nutrition Survey 2006. *Salud Pública de México*, 52: S63-S71.

Betancur-Ancona D, Gallegos-Tintoré S, Chel-Guerrero L (2004) Wet fractionation of Phaseolus lunatus seeds: partial characterization of starch and protein. *J Sci Food Agric* 84:1193-201.

Betancur-Ancona, D., Pacheco-Aguirre, J., Castellanos-Ruelas, A., Chel-Guerrero, L. (2011). Microencapsulation of papain using carboxymethylated flamboyant (*Delonix regia*) seed gum. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 12(1): 67-72.

Hayakari, M., Kondo, Y., Izumi, H. (1978). A rapid and simple spectrophotometric assay of angiotensin-converting enzyme. *Analytical Biochemistry*, 84(2): 361-369.

Korhonen H. (2002). Technology options for new nutritional concepts. *International Journal of Dairy Technology*, 55: 79-88.

Matsui, T., Yukiyoishi, A., Doi, S., Sugimoto, H., Yamada, H., Matsumoto, K. (2002). Gastrointestinal enzyme production of bioactive peptides from royal jelly protein and their antihypertensive ability in SHR. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 13: 80-86.

Megías, C., Yust, M., Pedroche, J., Lquari, H., Girón-Calle, J., Alaiz, M., Millán, F., Vioque, J. (2004). Purification of an ACE inhibitory peptide after hydrolysis of sunflower (*Helianthus annuus* L.) protein isolates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 1928-1932.

Montgomery, D. (2004). *Diseño y análisis de experimentos*, Limusa-Wiley, México D.F., México.

Morochi, D., San Martin, E., Ordoñez, D. (1999). Estudio sobre la extracción y caracterización de la goma de flamboyán (*Delonix regia*). *Ciencia y Tecnología de los Alimentos*, 1: 59-61.

Nielsen, P.M., Petersen, D., Dambmann, C. (2001). Improved method for determining food protein degree of hydrolysis. *Journal of Food Science*, 66(5): 642-643.

Ondetti, M.A. and Cushman, D.W. (1982). Enzymes of the renin-angiotensin system and their inhibitors. *Annual Review of Biochemistry*. 51: 283-308.

Takagi, K., Teshima, R., Okunuki, H., Sawada, J. (2003). Comparative study of *in vitro* digestibility of food proteins and effect of preheating on the digestion. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 26(7): 969-973.

Vermeirssen, V., Van Camp, J., Verstraete, W. (2004). Bioavailability of angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides. *British Journal of Nutrition*. 92: 357-366.

Wang, W. and González, E. (2005). A new frontier in soy bioactive peptides that may prevent age-related chronic diseases. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 4: 63-78.

TABLAS

Tabla 1. Diseño factorial 2² empleado para la encapsulación del hidrolizado de *P. lunatus* con la mezcla de alginato de sodio y la goma carboximetilada de *D. regia*.

Tratamiento	CaCl ₂ (mM)	pH	Contenido de proteína encapsulado (%)
1	1.0	4	71.7 ^c
2	3.0	4	67.3 ^b
3	1.0	10	78.4 ^d
4	3.0	10	71.8 ^c
5	2.0	7	53.1 ^a
6	2.0	7	53.3 ^a
7	2.0	7	51.8 ^a
8	2.0	7	52.0 ^a

Letras diferentes indican diferencia estadística significativa (P < 0.05).

Tabla 2. Liberación de proteína e IC₅₀ en condiciones gástricas e intestinales simuladas.

Tratamiento	Liberación de proteína (%)		IC ₅₀ (mg/mL)	
	Condiciones gástricas	Condiciones intestinales	Condiciones gástricas	Condiciones intestinales
1	16.4 ^c	60.1 ^c	3.8 ^a	2.9 ^c
2	10.5 ^a	39.4 ^b	4.1 ^b	3.3 ^b
3	73.1 ^d	20.2 ^a	3.1 ^c	3.8 ^a
4	14.2 ^b	40.3 ^b	3.9 ^a	3.8 ^a
CP	17.9 ^c	40.7 ^b	3.8 ^a	3.7 ^a

Letras diferentes indican diferencia estadística significativa (P < 0.05).

FIGURAS

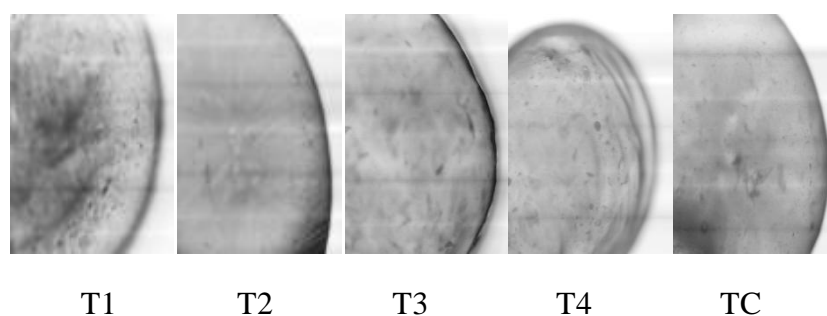


Figura 1. Morfología de las cápsulas obtenidas con la mezcla de alginato de sodio y goma carboximetilada de *D. regia*. Tratamientos 1, 2 y 3 (T1, T2, T3). Tratamiento central (TC).

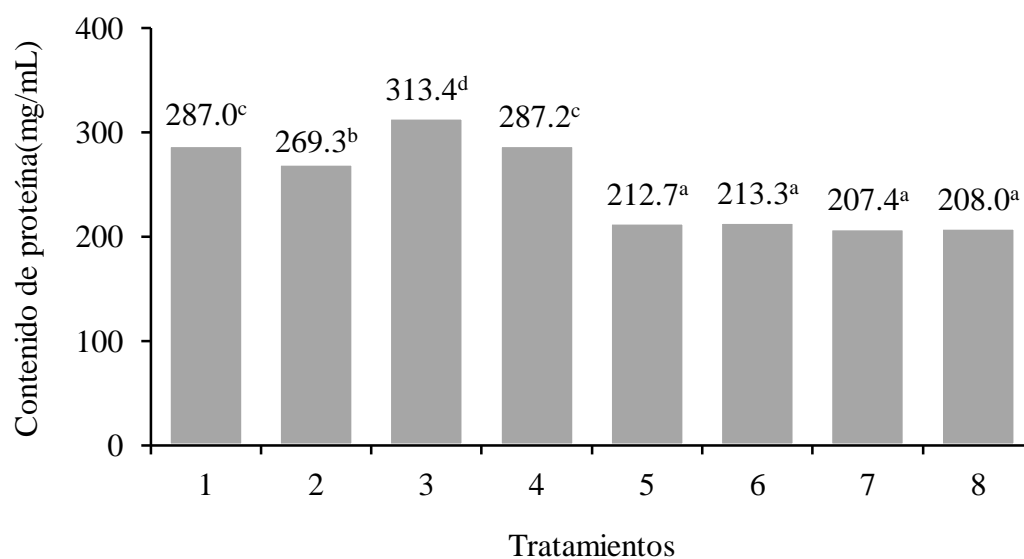


Figura 2. Influencia de la concentración de CaCl_2 y el pH en el contenido de proteína encapsulado. Letras diferentes indican diferencia estadística significativa ($P < 0.05$).

FRACCIONES PEPTÍDICAS DE FRIJOL TERCIOPELO (*Mucuna pruriens*): POTENCIAL INHIBIDOR DEL SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA Y COMPOSICIÓN AMINOACÍDICA

Castillo-Yam, E., Betancur-Ancona, D.A., Segura-Campos, M.R.

Facultad de Ingeniería Química, Universidad Autónoma de Yucatán. Periférico Norte. Km. 33.5, Tablaje Catastral 13615, Col. Chuburná de Hidalgo Inn, Mérida, Yucatán, México. CP. 97203, E-mail: maira.segura@uady.mx.

INTRODUCCIÓN

La obesidad es un problema de salud mundial cuya incidencia ha ido en aumento en los últimos años. A las complicaciones que se presentan con la obesidad se les denomina Síndrome Metabólico e incluye múltiples alteraciones como la diabetes tipo II, hipertensión arterial, enfermedades cardíacas y alteraciones en los niveles de triglicéridos y colesterol. La hipertensión arterial es una condición patológica asociada a la aparición de eventos vasculares; es un problema crónico “silencioso” que suele detectarse algún tiempo después de su inicio. Debido a su frecuencia en pacientes obesos y al riesgo inherente de la patología, su control es imprescindible una vez que el problema ha sido detectado. En el tratamiento de la hipertensión arterial (HTA), se han postulado 3 posibles enfoques para la inhibición farmacológica del Sistema Renina-Angiotensina (RAS): en primer lugar, la inhibición de la ECA-I; el segundo tratamiento se basa en la interferencia directa de la acción de la Ang II y, finalmente, la inhibición de la renina (Gradman y Kad, 2008). En la actualidad, la industria alimentaria busca mejorar la calidad nutrimental así como adicionar propiedades funcionales a los alimentos, con el propósito de contribuir con el estado de salud de los consumidores y disminuir la aparición de enfermedades, principalmente aquellas relacionadas al síndrome metabólico. En el desarrollo de estas alternativas se exploran productos de origen vegetal para disminuir los costos de elaboración. Por lo anterior, el objetivo del presente estudio fue evaluar el potencial inhibidor del sistema renina-angiotensina así como la composición aminoacídica de fracciones peptídicas de *M. pruriens*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Granos de frijol terciopelo (*M. pruriens*) fueron adquiridos de ejidos productores del estado de Campeche. Dichos granos fueron descascarillados y molidos para obtener una harina a partir de la cual se obtuvo el concentrado proteínico mediante el método reportado por Betancur y col. (2004), con algunas modificaciones. Dicho concentrado se evaluó en su

composición proximal de acuerdo a los procedimientos oficiales descritos por la A.O.A.C. (1997) que comprende humedad, proteína cruda, grasa cruda, fibra cruda y extracto libre de nitrógeno. Posteriormente, se hidrolizó enzimáticamente mediante la acción individual y secuencial de las enzimas pepsina y pancreatina a 90 min, de acuerdo al método señalado por Megías y col. (2004), utilizando una suspensión de concentrado proteínico al 5% (p/v) y una relación enzima:sustrato 1:10 (v/v). El grado de hidrólisis (GH) se determinó de acuerdo al método de Nielsen y col. (2001) y el potencial biológico de los hidrolizados proteínicos se evaluó al determinar la actividad inhibidora de la ECA-I (Hayakari y col., 1978) así como la actividad inhibidora de la renina (Li y Aluko, 2010). Finalmente, se determinó el perfil de aminoácidos de los hidrolizados proteínicos utilizando el método propuesto por Alaiz y col. (1992), mediante HPLC de fase reversa y para la determinación del triptófano el procedimiento planteado por Yust y col. (2004). Todos los resultados fueron procesados mediante estadística descriptiva utilizando medidas de tendencia central (media) y dispersión (desviación estándar). Los datos obtenidos de la hidrólisis del concentrado proteínico y de las actividades biológicas se evaluaron mediante análisis de varianza y una comparación de medias por el método de Duncan para establecer las diferencias entre los tratamientos. Todos estos análisis se efectuaron utilizando el paquete computacional Statgraphics Plus Versión 5.1 y de acuerdo a los métodos señalados por Montgomery (2005).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La composición proximal del concentrado proteínico de *M. pruriens* se muestra en la Tabla 1. El concentrado proteínico presentó una cantidad de proteína, grasa cruda y fibra cruda similar a la reportada por Tovar (2011), el contenido de cenizas fue mayor al reportado por dicho autor. Bressani (2002) señala que existe una variación considerable en los niveles de minerales para este género.

La hidrólisis enzimática del concentrado proteínico de *M. pruriens* registró valores de GH de 15.35, 17.8 y 21.36% para el sistema pepsina, pancreatina y pepsina-pancreatina, respectivamente. De acuerdo con la clasificación propuesta por Pedroche y col. (2003), los tres hidrolizados se clasificaron como extensivos.

Se han estudiado una amplia variedad de biopéptidos antihipertensivos obtenidos de diversas fuentes proteínicas, que han presentado actividad inhibitoria moderada para ECA-I (rangos micromolares) mientras que las constantes de inhibición para péptidos sintéticos presentan rangos nanomolares (Foltz y col., 2009). La actividad inhibitoria de la ECA-I de

los hidrolizados proteínicos de frijol terciopelo registraron valores de IC₅₀ en un rango de 8.04-203.64 µg/mL de proteína (Figura 1).

Las concentraciones de proteína requerida para inhibir en un 50% la actividad de la ECA-I (IC₅₀) registradas en el presente estudio fueron menores a las reportadas por Tovar (2011) para el hidrolizado de pepsina a 10 min (2,630 µg/mL de proteína) y pancreatina a 120 min (4,300 µg/mL de proteína), siendo las condiciones de hidrólisis los factores principales que generaron dicha variación en el potencial de inhibición.

Por otro lado, Li y Aluko (2010) reportan valores IC₅₀, en concentraciones cercanas a los nanomoles en inhibidores sintéticos de renina. Algunos estudios de hidrolizados proteínicos de linaza reportan actividad inhibitoria de renina moderada con valores de IC₅₀ que oscilan entre 1,220 y 2,810 µg/mL de proteína (Li y Aluko, 2010), mientras que en hidrolizados de chícharos y semillas de cáñamo (IC₅₀=810 µg/mL de proteína) también se ha reportado la presencia de péptidos inhibidores de renina (Udenigwe y Aluko, 2011). Los valores de inhibición de renina registrados en el presente estudio (Figura 2) fueron menores a los reportados por Li y Aluko (2010) y Udenigwe y Aluko, (2011) poniendo de manifiesto su mayor potencial biológico. De acuerdo con dichos autores, existe una correlación entre la inhibición enzimática del RAS *in vitro* y la actividad hipotensora de hidrolizados de semillas de cáñamo en estudios con ratas espontáneamente hipertensas a dosis de 200 mg/kg de peso corporal de hidrolizado proteínico (Udenigwe y Aluko, 2011). Lo anterior, pone de manifiesto el efecto hipotensor de los hidrolizados proteínicos de *M. pruriens*.

La mayoría de los péptidos inhibidores de ECA-I son secuencias relativamente cortas que contienen de 2-12 aminoácidos. Los péptidos IECA más efectivos contienen tirosina, fenilalanina, triptófano o prolina en el extremo –COOH. Además, aminoácidos alifáticos como la leucina, isoleucina y valina así como también la carga positiva de la lisina y arginina en el extremo –COOH contribuyen a la potencia inhibitoria debido a que los biopéptidos cargados positivamente pueden interactuar con sitios aniónicos uniéndose alostéricamente a la ECA-I (Hernández-Ledesma *et al.*, 2011).

Por otra parte, Li y Aluko (2010) sugieren que la presencia de aminoácidos con carga positiva también contribuyen a una mayor inhibición de la actividad de renina. Otros estudios demuestran que la presencia de aminoácidos hidrofóbicos de bajo peso molecular en el extremo –NH₂ (isoleucina, leucina, valina y alanina) y aminoácidos aromáticos (triptófano, fenilalanina y tirosina) son requeridos en el extremo –COOH para potenciar su acción contra la renina humana. Estos hallazgos indican una similitud estructural en los péptidos IECA e

inhibidores de renina, aunque no se ha encontrado asociación en las actividades inhibitoras de éstos (Udenigwe y Aluko, 2011).

El perfil de aminoácidos de los hidrolizados proteínicos de *M. pruriens* indica que la tirosina es el aminoácido mayoritario en el sistema pepsina (35.53 g/100 g de proteína), pancreatina (45.85 g/100 g de proteína) y pepsina-pancreatina (50.49 g/100 g de proteína). Sin embargo, el hidrolizado de pepsina registró un mayor contenido de lisina (5.76 g/100 g de proteína) y arginina (4.3849 g/100 g de proteína) lo cual sugiere su mayor bioactividad (Tabla 2).

CONCLUSIONES

La inhibición enzimática del RAS *in vitro* de los hidrolizados proteínicos de *M. pruriens* sugiere su potencial uso como ingredientes en alimentos funcionales. La hidrólisis enzimática con pepsina del concentrado proteínico de *M. pruriens* registró el mayor potencial inhibitor de la ECA-I y renina. La relación entre la estructura y la actividad biológica de los hidrolizados puso de manifiesto la importancia en los inhibidores biológicos de péptidos ricos en aminoácidos hidrofílicos. El potencial efecto biológico de los péptidos de *M. pruriens* dependerá de la biodisponibilidad de los mismos la cual estará determinada por las barreras potenciales de la digestión y absorción gastrointestinal. Aún queda mucho camino para poder hacer conclusiones definitivas en este campo, sobre todo por la necesidad e importancia del estudio del comportamiento de estos compuestos bioactivos en la naturaleza del ser humano. Por lo tanto, para asegurar el efecto biológico de los péptidos es importante realizar estudios *in vitro* e *in vivo* que confirmen su estabilidad, capacidad de absorción y mecanismo de acción con la finalidad de incrementar y diversificar sus aplicaciones nutraceuticas y farmacéuticas.

BIBLIOGRAFÍA

- Alaiz, M., Navarro, J.L., Girón, J., Vioque, E. (1992). Amino acid analysis by high-performance liquid chromatography after derivatization with diethyl ethoxymethylenemalonate. *Journal of Chromatography*, 591, 181-186.
- AOAC International. (1997). *Official Methods of Analysis of AOAC International*. Washinton, D.C. William Horwitz Editor.
- Betancur, A.D., Gallegos, T.S., Chel, G.L. (2004). Wet fractionation of *Phaseolus lunatos* seeds: partial characterization of starch and protein. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84, 1193-1201.

- Bressani, R. (2002). Factors influencing nutritive value in food grains legumes: *Mucuna* compared to other grain legumes. En Flores, M., Eilittä, M., Myhrman, R., Carew, L., Carsky, R., Food and Feed from *Mucuna* current uses and the way forward. Proceedings of an international workshop: (164-188). Tegucigalpa, Honduras.
- Foltz, M., van der Pijl, P., Duchateau, G. (2009). Current in vitro testing of bioactive peptides is not valuable. *The Journal of Nutrition*, 117-118. doi:10.3945/jn.109.116228
- Gradman, A.H., Kad, R. (2008). Renin inhibition in hypertension. *Journal of the American College of Cardiology*, 51 (5). doi: 10.1016/j.jacc.2007.10.027
- Hayakari, M., Kondo, Y., Izumi, H. (1978). A rapid and simple spectrophotometric assay for Angiotensin- converting enzyme. *Analytical Biochemistry*, 84, 361-369.
- Hernández-Ledesma, B., Contreras, M.M., Recio, I. (2011). Antihypertensive peptides: production, bioavailability and incorporation into foods. *Advances in Colloids and Interface Science*, 165, 23-35.
- Li, H, Aluko, R. (2010). Identification and inhibitory properties of multifunctional peptides from pea protein hydrolysate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 11471-11476.
- Megías, C., Yust, M.M., Pedroche, J., Lquari, H., Girón-Calle, J., Alaiz, M., Millan, F., Vioque, J. (2004). Purification of an ACE inhibitory peptide alters hydrolysis of sunflower (*Helianthus annuus L.*) protein isolates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52 (7) 1928-1932.
- Montgomery, D.C. (2012). Diseño y análisis de experimentos. Limusa Wiley.
- Nielsen, P.M., Petersen, D., Dambmann, C. (2001). Improved method for determining food protein degree of hydrolysis. *Journal of Food Science*, 66 (5), 642-646. Doi 10.1111/j.1365-2621.2001.tb04614.x
- Pedroche, J., Yust, M., Girón-Calle, J., Vioque, J., Alaiz, M., Millán, F. (2003). Plant protein hydrolysates and Tailor-made foods. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 2 (1) 233-235
- Tovar Benítez, T. (2011). Tecnofuncionalidad y biofuncionalidad de hidrolizados proteínicos de frijol terciopelo (*Mucuna pruriens*). Tesis de maestría. Universidad Autónoma de Yucatán. Mérida, Yucatán.
- Udenigwe, C., Aluko, R. (2011). Food protein-derived bioactive peptides: production, processing, and potencial health benefits. *Journal of Food Science*, 00 (0) R1-R14. doi: 10.1111/j.1750-3841.2011.02455.x
- Yust, M., Pedroche, J., Girón-Calle, J., Vioque, J., Millán, F., Alaiz, M. (2004). Determination of tryptophan by high-performance liquid chromatography of alkaline hydrolysates with spectrophotometric detection. *Food Chemistry*, 85, 317-320.

TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1. Composición proximal del concentrado proteínico de *M. pruriens* (% base seca). *ELN: Extracto libre de nitrógeno. (n=2), media \pm DE.

Componente	Proteína cruda	Grasa cruda	Fibra cruda	Cenizas	ELN*
Concentrado proteínico	53.24 \pm 0.08	17.08 \pm 0.22	1.85 \pm 0.48	13.34 \pm 0.22	14.49 \pm 0.56

Tabla 2. Perfil de aminoácidos de los hidrolizados proteínicos de *M. pruriens*

Aminoácido	g/100 g de proteína		
	Pepsina	Pancreatina	Pepsina- pancreatina
Ácido aspártico	10.18	11.43	10.31
Ácido glutámico	8.48	7.92	7.51
Serina	7.98	5.91	5.32
Histidina	4.08	2.11	2.25
Glicina	4.48	5.18	3.23
Treonina	8.01	2.10	2.67
Arginina	4.38	2.28	2.37
Alanina	2.35	2.99	1.60
Prolina	0.37	0.58	0.52
Tirosina	35.53	45.85	50.49
Valina	No detectado	No detectado	No detectado
Metionina	No detectado	No detectado	No detectado
Cisteína	2.40	3.74	2.5
Isoleucina	2.32	3.38	2.52
Triptófano	1.38	0.43	2.59
Leucina	1.31	1.47	1.41
Fenilalanina	1.00	0.91	0.43
Lisina	5.76	3.74	4.27

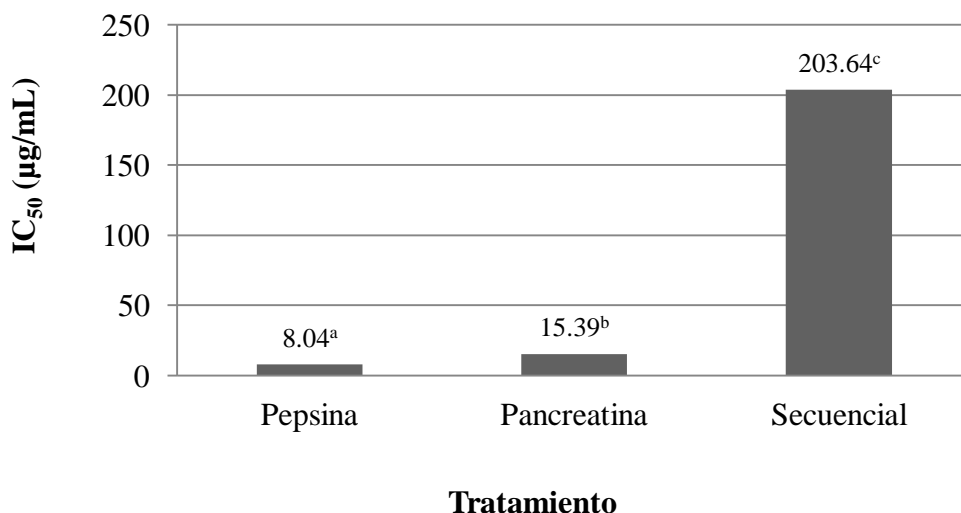


Figura 1. Valores de IC₅₀ registrados al evaluar la actividad inhibitoria de la ECA-I de hidrolizados proteínicos de *Mucuna pruriens*. ^{a-c} Letras diferentes indican diferencia estadística significativa (p<0.05).

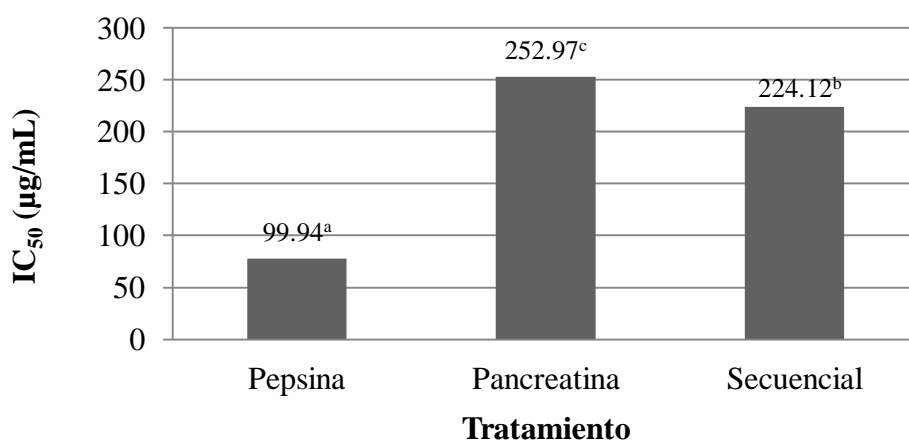


Figura 2. Valores de IC₅₀ registrados al evaluar la actividad inhibitoria de la renina de hidrolizados proteínicos de *Mucuna pruriens*. ^{a-c} Letras diferentes indican diferencia estadística significativa (p<0.05).

PESQUISA, DESENVOLVIMENTO E INOVAÇÃO: EXPERIÊNCIA COM O PACAMÃ.

Léa Silvia Sant'Ana¹, Camila Baptistella Yazbek², Lilian Viana Teixeira³, Ronald Kennedy Luz³, Edgar de Alencar Teixeira³, Daniel Vieira Crepaldi⁴.

^{1,3,4} Doutores e ² Estudante de Nutrição

^{1,2} UNESP- Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, SP, Brasil

³ UFMG- Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brasil

⁴ IBAMA- Instituto Brasileiro de Meio Ambiente, Belo Horizonte, MG, Brasil

INTRODUÇÃO

A gastronomia vem sobressaindo na área de pesquisa, desenvolvimento e inovação (PDI). A inovação na gastronomia pode envolver: serviço, gestão, estética, criatividade, tecnologia e produtos. A comercialização de espécies consumidas em regiões restritas para uma maior fatia da população vem sendo incentivada nos últimos anos, sendo o Brasil um país com grande participação neste mercado.

O pacamã (*Lophosilurus alexandri*) é uma espécie endêmica da bacia do Rio São Francisco com potencial para a aquicultura (Shibata, 2003). Essa espécie apresenta uma carne de qualidade excelente, bom rendimento de filés, poucos espinhos e boa aceitação do seu sabor (Luz et al., 2011). A espécie vem sendo utilizada em projetos de aquicultura, com pacote tecnológico já estabelecido.

O rio São Francisco é um dos mais importantes rios brasileiros: é o maior que corre totalmente dentro do Brasil e o quarto maior rio da América do Sul, com 2.700 quilômetros de extensão, passa por cinco estados: Minas Gerais, Bahia, Pernambuco, Alagoas e Sergipe (Rio São Francisco, 2013). O rio possui cânions, regiões navegáveis e uma população com grande riqueza de tradições históricas.

Um projeto de PDI esta sendo desenvolvido para a espécie, utilizando peixes provenientes de aquicultura e selvagem, com elaboração de preparações culinárias. A estética e a criatividade também são consideradas na elaboração destas preparações. O objetivo do projeto é divulgar a espécie para obtenção de indicação geográfica.

MATERIAL E MÉTODOS

Pacamãs provenientes do rio São Francisco, MG e de um projeto de aquicultura, UFMG, MG foram utilizados para a elaboração de preparações culinárias.

A primeira etapa do projeto envolveu a elaboração de produtos para utilização em serviços de alimentação. Foram elaboradas as seguintes preparações: Filé de pacamã com crosta crocante, pacamã a portuguesa (em postas) e pacamã assado recheado com farofa.

A segunda etapa foi de enfoque gastronômico, sendo utilizado o pacamã defumado. A defumação foi realizada da forma tradicional. Peixes de aproximadamente 1 Kg foram submetidos a salga úmida (300 g de sal/ 1 de água) por 2 horas e a seguir foram colocados no defumador por 5 horas, iniciando a defumação a temperatura de 50°C até alcançar 90°C, permanecendo nesta temperatura até o final do processo. A partir do produto defumado foram preparados: Torta recheada com pacamã defumado e uvas passas, terrine de pacamã defumado com geleia de amora e caldo de pacamã defumado.

Finalmente com os resíduos da filetagem foi elaborado hambúrguer de pacamã, para atender ao público infantil.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os produtos regionais estão associados a uma herança gastronômica, e tem características sensoriais peculiares, sendo transmitidos de gerações a gerações (Almli, 2011). Assim, os produtos desenvolvidos neste projeto podem ser utilizados como forma de aumentar o turismo regional, principalmente por ser o pacamã uma espécie endêmica. Na figura 1 estão apresentadas algumas preparações culinárias. Por outro lado a gastronomia mineira reconhecida no país está em processo de expansão fora do país, como demonstrado pela intensa participação da mesma na Feira de Livros de Frankfurt, despertando a curiosidade do público alemão (UAI, 2013).

As indicações geográficas (IG) são iniciativas formais de reconhecimento da qualidade proveniente de um processo histórico da organização e construção social de regras, para definir e controlar Direitos de Propriedade Intelectual (Sant'Ana; Souza, 2011). O Brasil tem incentivado nos últimos anos a obtenção de indicações geográficas de produtos de pescado, sendo que o primeiro produto a obter denominação de origem no país foi um crustáceo.

CONCLUSÕES

A característica endêmica da espécie, aliada às tradições culturais da região pode favorecer a obtenção de uma indicação de procedência. A divulgação de preparações

culinárias para diversos segmentos de mercado (serviços de alimentação, gastronomia e alimentação infantil) é uma das estratégias para alcançar este objetivo.

REFERÊNCIAS

Almli, V.L., Verbeke, W., Vanhocker, F., Naes, T., Hersleth, M. General image and attribute perceptions of traditional food in six European countries. *Food Quality and Preference*, v. 21, p. 129-138, 2011.

Luz, R. K.; Pedreira, M. M.; Teixeira, E. A. Effect of water flow rate and feed training on “pacamã” (Siluriforme: Pseudopimelodidae) juvenile production. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 63, n. 4, p. 973-979, 2011.

Ministério Da Pesca E Aquicultura (2011).

<http://www.mpa.gov.br/index.php/aquiculturampa/informacoes/potencial-brasileiro> Acesso 18 de Outubro 2013.

Rio São Francisco. In: Britannica Escola Online. Enciclopédia Escolar Britannica, 2013. Web, 2013. Disponível em: <<http://escola.britannica.com.br/article/483545/rio-Sao-Francisco>>. Acesso em: 16 de outubro de 2013.

Sant'ana, L. S.; Souza, M. C. M. Qualidade no setor de bebidas. In: Venturini Filho, W. G. *Indústria de bebidas: Inovação, gestão e produção*. São Paulo: Blücher, 2011. cap. 16, p. 337-349.

Shibata, O. A. Family Pseudopimelodidae. In: Reis, R. E.; Kullander, S. O.; Ferraris, Jr., C. J. *Check List of the Freshwater Fisher of South and Central America*. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2003. p. 401-405.

UAI. Minas divulga sua cozinha em Frankfurt e desperta a curiosidade do público alemã http://divirtase.uai.com.br/app/noticia/gastronomia/2013/10/12/noticia_gastronomia,147351/minas-divulga-sua-cozinha-em-frankfurt-e-desperta-curiosidade-dos-alem.shtml Acesso em: 18 de outubro de 2013.

Apoio financeiro: PIBIC/Reitoria/UNESP.

Preparações culinárias com pacamã

(A)Preparações para serviços de alimentação



Filé de pacamã com crosta crocante



Pacamã a portuguesa

(B)Preparações para gastronomia



Terrine de pacamã defumado
com geleia de amora



Caldo de pacamã defumado

Figura 1- Preparações culinárias do pacamã: (A) Serviços de alimentação e (B) Gastronomia

VALOR NUTRICIONAL DE UMA NOVA ESPÉCIE DE PEIXE

Léa Silvia Sant´Ana¹, Adriane Aiko Iwamoto², Daniel Vieira Crepaldi³, Lilian Viana Teixeira⁴, Edgar de Alencar Teixeira⁴, Ronald Kennedy Luz⁴.

^{1,3,4} Doutores e ² Estudante de Mestrado em Aquicultura

^{1,2} UNESP- Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, SP, Brasil

³ IBAMA- Instituto Brasileiro de Meio Ambiente, Belo Horizonte, MG, Brasil

⁴ UFMG- Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brasil

INTRODUÇÃO

O desequilíbrio na razão n- 3 e n- 6 nas dietas é caracterizado basicamente pela baixa ingestão de ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa n- 3 e simultaneamente uma alta ingestão de n- 6 (Strobel et al., 2012). Os nutricionistas aconselham a aumentar a ingestão de n- 3 na dieta humana, reduzindo a razão n- 6/ n-3. A diminuição da razão é essencial para prevenção de doenças do coração através da redução dos lipídios no plasma, e também contribuem com uma menor incidência de câncer, além do que, os ácidos graxos da série n- 3 são considerados anti-inflamatórios (Dal Bosco et al., 2012; Mobraten et al., 2013).

A população do Brasil possui elevado consumo diário de ácidos graxos n- 6, provenientes de sementes oleaginosas e baixo consumo de peixes (9 kg/per capita/ano). O consumo de peixes pode equilibrar favoravelmente a relação n- 6/ n- 3, especialmente pelo aumento das concentrações de ácido eicosapentaenoico (EPA) e ácido docosaenoico (DHA).

O pacamã (*Lophosilurus alexandri*) é uma espécie endêmica da bacia do Rio São Francisco com potencial para a aquicultura (Shibata, 2003). Essa espécie apresenta uma carne de qualidade excelente, bom rendimento de filés, poucos espinhos e boa aceitação do seu sabor (Luz et al., 2011).

A composição química dos peixes cultivados e selvagens é influenciada pela dieta (Lei et al., 2013). No geral, peixes da aquicultura apresentam maior conteúdo lipídico que selvagens (Haard, 1992) e a sua composição em ácidos graxos é mais constante, pois são menos afetados pelas variações sazonais (Cahu et al., 2004).

Como não existe dados sobre a composição química do pacamã o objetivo deste trabalho é avaliar os teores de proteínas, lipídios totais e ácidos graxos poli-insaturados em peixes de aquicultura e selvagens.

MATERIAL É MÉTODOS

Material

Foram capturados 14 peixes com peso médio $1367,14 \text{ g} \pm 825,60$ e comprimento médio $48,21 \text{ cm} \pm 10,42$, provenientes do rio São Francisco, região de Januária, MG, Brasil e 30 pacamãs de aquicultura da UFMG, Belo Horizonte, MG, Brasil, com peso médio de $420,00 \text{ g} +48,00$ e $29,75 \text{ cm} + 1,25$ de comprimento.

Análises de composição química

Para as análises de composição química foram utilizados 05 exemplares de cada modo de produção. As análises de umidade e de cinzas foram definidas por secagem em estufa a 105°C (950.46) e mufla a 550°C (938.08), respectivamente (AOAC, 2005). A proteína bruta foi determinada pelo método semimicro Kjeldahl (940.25), sendo o valor de proteína obtido pela multiplicação do fator 6,25 (AOAC, 2005).

Determinação de lipídeos totais e de ácidos graxos

Os lipídeos totais foram determinados, de acordo com metodologia proposta (948.15) pela AOAC (2005). Os ácidos graxos foram extraídos pelo método de Folch et al. (1957) e os lipídeos foram esterificados segundo o procedimento descrito por Hartman e Lago (1973).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados demonstram que os peixes de aquicultura possuem maiores teores de proteínas, lipídeos e cinzas quando comparados com os peixes selvagens (Tabela 1).

A relação inversa entre os teores de lipídeos e umidade é observada, sendo que os menores teores de lipídeos dos peixes selvagens são compensados por maiores teores de umidade nestes peixes.

Em relação a razão n- 6/ n- 3 os peixes selvagens possuem uma razão mais favorável (Tabela 1), fato que pode ser explicado pela utilização de sementes oleaginosas na ração, principalmente farelo de soja e farelo de trigo.

A soma de EPA+DHA demonstra que os peixes de aquicultura possuem quantidades duas vezes mais elevadas que os peixes selvagens (Tabela 1). Estes valores podem contribuir com a melhor qualidade da alimentação de populações com baixa ingestão de n-3 como descrito por Karapanogiotidis et al.(2010). A American Heart Association preconiza que para uma alimentação saudável é necessária a ingestão diária de 250 a 500 mg de EPA+DHA (Davis, McMurry, 2010). Os resultados demonstram que o consumo de 100g de pacamã fornecem 20% e 37% das necessidades diárias de EPA+DHA, respectivamente para peixes

selvagens e de aquicultura. Embora não forneça quantidades suficientes de EPA + DHA o incentivo ao consumo de peixes, principalmente espécies nativas, pode contribuir com uma adequação das dietas do brasileiro.

REFERÊNCIAS

- AOAC. Official methods of analysis. 17th ed. Arlington, 2005.
- Cahu, C.; Salen, P.; Lorgeril, M. Farmed and wild fish in the prevention of cardiovascular diseases: Assessing possible differences in lipid nutritional values. *Nutrition Metabolism & Cardiovascular Diseases*, v. 14, p. 34-41, 2004.
- Dal Bosco A.; Mugnai C.; Mourvaki E.; Castellini C. Seasonal changes in the fillet fatty acid profile and nutritional characteristics of wild Trasimeno Lake goldfish (*Carassius auratus* L.). *Food Chemistry*, v.132, p. 830-834, 2012.
- Davus, C., McMurry, K. Dietary guidelines for americans: heart disease and stroke. American Heart Association. 8 p., 2010.
- Haard, N. F. Control of chemical composition and food quality attributes of cultured fish. *Food Research International*, v. 25, p. 289-307, 1992.
- Hartmann, L.; Lago, R. C. A. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. *Laboratory Practices*, London, v. 22, p. 475-477, 1973.
- Karapanogiotidis, I.T., Yakupitiyage, A., Little, D.C., Bell, M.V, Mente, E. The nutritional values of lipids in various tropical aquatic animals from rice-fish farming systems in northeast Thailand. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 23, p. 1-8, 2010.
- Lei, L.; Li, J.; Luo, F.; Fan, Y.; Zhang, B.; Ye, J.; Ye, H.; Sun, Y. Predictable effects of dietary lipid sources on the fatty acids composition of four 1-year-old wild freshwater fish from Poyand Lake. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 61, p. 210-218, 2013.
- Luz, R. K.; Pedreira, M. M.; Teixeira, E. A. Effect of water flow rate and feed training on “pacamã” (Siluriforme: Pseudopimelodidae) juvenile production. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 63, n. 4, p. 973-979, 2011.
- Mobraten, K.; Haug, T.; Kleiveland, C. R.; Lea, T. Omega-3 and omega-6 PUFAs induce the same GPR120-mediated signaling events, but with different kinetics and intensity in Caco-2 cells. *Lipids in Health and Disease*, v. 12, n. 101, p. 01-07, 2013.
- Shibata, O. A. Family Pseudopimelodidae. In: Reis, R. E.; Kullander, S. O.; Ferraris, Jr., C. J. Check List of the Freshwater Fisher of South and Central America. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2003. p. 401-405.
- Strobel, C.; Jahreis, G.; Kuhnt K.; Survey of n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids in fish and fish products. *Lipids in Health and Disease*, v. 11, n. 144, p. 01-10, 2012.

Tabela 1- Composição química e ácidos graxos poli-insaturados de pacamãs de aquicultura e selvagens

Composição Química	Aquicultura*	Selvagem*
Umidade (g/100 g de peixe)	78,98 ± 0,56	81,17 ± 0,20
Cinzas (g/100 g de peixe)	1,15 ± 0,02	1,02 ± 0,04
Proteínas (g/100 g de peixe)	17,96 ± 0,70	16,97 ± 0,62
Lipídeos Totais (g/100 g de peixe)	2,66 ± 0,36	1,40 ± 0,72
n- 3 (mg/100g de peixe)	142 ± 16,43	92 ± 34,92
n- 6 (mg/100g de peixe)	442 ± 60,58	144 ± 58,56
n- 6/n- 3 (mg/100g de peixe)	3,19 ± 0,53	1,57 ± 0,05
∑ EPA + DHA (mg/100g de peixe)	112 ± 16,43	60 ± 20,00

* Diferenças significativas em todas as análises (p<0,05). Valores se referem à média+ desvio padrão (n=5). EPA= Ácido eicosapentaenoico e DHA= Ácido docosaexaenoico.

NEOFobia EM RELAÇÃO ÀS NOVAS TECNOLOGIAS DE ALIMENTOS: UM ESTUDO DE CASO NO BRASIL

Márcia Cristina Teixeira Ribeiro Vidigal¹, Valéria Paula Rodrigues Minim¹, Rêmio Teixeira Moreira¹, Douglas Fernando Balbino¹, Luis Antonio Minim¹

¹Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa - UFV, Viçosa, CEP 36570-000, Minas Gerais, Brasil.

E-mail: marcia.vidigal@ufv.br (VIDIGAL, M.C.T.R.), vprm@ufv.br (MINIM, V.P.R.), remio.moreira@ufv.br (MOREIRA, R.T.), douglas.balbino@ufv.br (BALBINO, D.F.), lminim@ufv.br (MINIM, L.A.)

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, novas tecnologias de alimentos estão promovendo inovações no setor de alimentos e o número de novos alimentos aumentou consideravelmente. Neste contexto, muitas pesquisas têm sido dedicadas às novas tecnologias. Uma das razões para tal interesse é a gama de benefícios que estas novas tecnologias de alimentos podem trazer para o setor de alimentos e para o consumidor (SCHNETTLER et al., 2013). Embora as tecnologias tenham surgido em resposta às necessidades do mercado e a demanda muito mais rigorosa por parte dos consumidores, eles estão cada vez mais cautelosos em relação às novas tecnologias, devido aos riscos e à falta de benefícios percebidos (FREWER et al., 2011).

Atualmente, os consumidores estão expostos a várias aplicações das tecnologias emergentes, incluindo modificação genética (transgênicos), irradiação de alimentos e nanotecnologia (SIEGRIST, 2008; ROLLIN et al., 2011). Porém, cautela e aversão por parte dos consumidores foram encontradas para uma ampla gama de tecnologias de alimentos em diversos países (CARDELLO, 2003; SIEGRIST, 2008, FREWER et al., 2011, ROLLIN et al., 2011). A técnica de preservação, irradiação de alimentos, apesar de ser considerada segura e eficaz por parte da comunidade científica, não foi aceita pelos consumidores (RONTELTAP et al., 2007). Os alimentos geneticamente modificados tendem a ser mais aceitos pelos consumidores norte-americanos do que pelos consumidores europeus e japoneses (GASKELL et al., 2004). Para outras tecnologias, como a nanotecnologia aplicada ao setor de alimentos, a percepção do público e sua atitude ainda não está clara (DUDO et al., 2011; GRUÈRE, 2012).

A atitude do consumidor diante das novas tecnologias determinará seu sucesso ou fracasso no mercado. Desta forma, avaliar a aceitação das novas tecnologias ao invés de arriscar uma reação negativa do público é o mais sensato (van KLEEF et al., 2005; FREWER et al., 2011). A indústria de alimentos e instituições de pesquisa, que desenvolvem novas

tecnologias e, conseqüentemente, novos conceitos de alimentos, devem promover uma pesquisa mais interdisciplinar, incluindo um exame da psicologia (KÖSTER, 2009).

As inovações na indústria de alimentos muitas vezes não são bem recebidas pelo mercado, em parte devido a um fenômeno conhecido como neofobia, que é a rejeição que algumas pessoas apresentam por alimentos novos ou desconhecidos. Pessoas neofóbicas tendem a exibir atitudes negativas e apresentar menor expectativa em relação ao sabor dos alimentos (BARRENA & SANCHÈZ, 2012). Ter personalidade neofóbica é um fator preditor para a falta de aceitação de novos alimentos (HENRIQUES et al., 2009). Neste sentido, Pliner & Hobden (1992) desenvolveram a escala de neofobia alimentar para avaliar as reações dos consumidores em relação aos novos alimentos étnicos ou culturais, porém é menos adequada para determinar a receptividade aos alimentos produzidos por diferentes tecnologias. Portanto, uma nova ferramenta psicométrica foi desenvolvida por Cox e Evans (2008) para identificar a neofobia em relação à tecnologia de alimentos: *Food Technology Neophobia Scale* (FTNS). Este instrumento foi construído para estabelecer os limites de aceitação de alimentos produzidos por novas tecnologias por meio da identificação dos segmentos da população que têm maior ou menor neofobia. A capacidade de determinar os grupos que estão dispostos a aceitar alimentos inovadores pode ser útil, principalmente quando tais alimentos proporcionam benefícios (EVANS et al., 2010).

Nesse contexto, esse trabalho teve como objetivo avaliar a percepção dos consumidores brasileiros em relação às novas tecnologias por meio da escala de neofobia em relação à tecnologia de alimentos (FTNS–Food Technology Neophobia Scale), traduzida e validada para a língua portuguesa.

MATERIAIS E MÉTODOS

Amostra

A entrevista foi realizada em locais públicos da cidade metropolitana de Belo Horizonte (Minas Gerais), Brasil. O número de pessoas entrevistadas foi obtido usando a equação de amostra aleatória simples para populações infinitas ($N > 10.000$. Belo Horizonte tem 2.395.785 habitantes, censo de 2010) (Equação 1), considerando-se 95% de confiança e erro estimado de 5% com p e q iguais a 0,5 (MINIM, 2013). Portanto, foi constituída uma amostra aleatória, estatisticamente significativa, composta por 389 consumidores, para a realização da pesquisa.

$$n = \frac{Z^2 p \cdot q}{E^2} \quad (\text{Equação 1})$$

em que:

n = tamanho da amostra; p = proporção de ocorrência da variável em estudo na população; q = considerando a característica representada por “p”, este é a proporção de não-ocorrência (p = 1-q); Z = valor da variável z para o nível de confiabilidade adotado; e E = precisão da amostra ou erro máximo admitido

Estudo da neofobia por tecnologias de alimentos (FTNS)

A versão original (em inglês) do instrumento elaborado por Cox & Evans (2008) foi desenvolvida na forma de um questionário contendo 13 itens, os quais são apresentados na forma de afirmações, em que o respondente deve expressar a sua opinião utilizando uma escala de concordância. Este questionário foi traduzido e validado para a língua portuguesa por Vidigal et al. (2013), utilizando a técnica *back-translation* (PRIETO, 1992) (Tabela 1).

A versão portuguesa do questionário FTNS foi aplicado para avaliar a neofobia de consumidores brasileiros. Durante a entrevista, foi solicitado aos participantes que respondessem o questionário composto pelas treze questões usando uma escala não estruturada ancorada nos extremos 1 ("discordo totalmente") e 7 ("concordo totalmente"). A parte final do questionário coletou informações gerais, como sexo, idade, estado civil, renda familiar e escolaridade.

Análise estatística

A classificação dos indivíduos quanto à neofobia em relação à tecnologia de alimentos é obtida pela soma dos valores individuais de cada item, que variam de 13 a 91. Para realização das análises estatísticas, as pontuações das questões 6, 7, 8 e 13 foram invertidas, para que valores mais altos correspondam a maior neofobia. A análise de variância (ANOVA) foi utilizada para determinar o efeito principal do gênero, idade, estado civil e classe social. Os entrevistados foram divididos em três grupos representando baixa (13-35,01), média (35,02-59,07) e alta (59,08-91) neofobia em relação às tecnologias de alimentos (FTNGs: Neofílicos, Neutros, Neofóbicos, respectivamente), para facilitar a interpretação dos resultados. A faixa correspondente a cada grupo foi definida a partir da média da FTNS (47,04) mais ou menos um desvio padrão (12,03). A fim de comparar o gênero, idade, escolaridade e classe social entre grupos de neofobia (FTNGs), foi utilizado o teste do qui-quadrado, estabelecendo-se em 0,05 o nível de significância. Para todas as análises utilizou-se o programa SPSS (*Social Package Statistical Science*) versão 15.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O perfil sócio-econômico dos participantes está apresentado na Tabela 2. A idade média dos respondentes foi de 31 anos (variação de 17-79 anos), 41,4% eram do sexo masculino e 58,6% do sexo feminino. Quanto ao estado civil, 38,8% relataram ser casados ou declararam união estável. Em relação à renda familiar, a maioria dos participantes (88,9%) relataram ter renda inferior a 12 salários mínimos. Um total de 59,6% dos participantes possuíam curso superior completo, sendo que 16,7% deles têm pós-graduação.

A pontuação média da neofobia em relação à tecnologia de alimentos dos respondentes brasileiros foi de 47,04 ($\pm 12,03$) (Tabela 1). A soma dos valores individuais de cada item obtida pelos participantes variou de 13,0-86,4. Cox & Evans (2008) e Evans et al. (2010) relataram um valor médio de 55,00 (faixa de 21-88) quando desenvolveram a FNTS e 54,35 ($\pm 10,08$; faixa de 25-81) e 53,62 ($\pm 11,27$; faixa de 25-81) durante a revalidação do questionário, ambos realizados na Austrália. Martin et al. (2012) reportaram que o nível de neofobia em relação a tecnologia de alimentos de consumidores canadenses foi de 58,5 ($\pm 6,21$; faixa de 21-91). O maior valor da soma dos itens representa a menor receptividade dos consumidores para novas tecnologias, sendo assim, os respondentes brasileiros são relativamente menos neofóbicos que os australianos e canadenses.

A neofobia em relação à tecnologia de alimentos não foi significativamente influenciada pelo gênero, estado civil e número de membros que compõem a família ($p > 0,05$) (Tabela 2). Houve efeito significativo da idade, nível de escolaridade e renda ($p < 0,05$) na pontuação da FTNS. O grupo de indivíduos com idade superior a 36 anos, os de baixa escolaridade e aqueles de menor renda foram significativamente mais neofóbicos. Geralmente, um comportamento mais prudente é encontrado em pessoas de maior idade que buscam alimentos mais seguros e conhecidos. A menor receptividade para novas tecnologias dos respondentes de baixo poder aquisitivo e escolaridade pode ser devido à falta de conhecimento sobre novos alimentos e tecnologias. Evans et al. (2010) reportaram diferença significativa nas pontuações FTNS apenas para o nível de educação. Os participantes com menor nível de escolaridade também apresentaram maior neofobia. Para estes autores, as pessoas com maior grau de instrução parecem estar mais abertas aos novos produtos e às novas tecnologias.

CONCLUSÃO

Esse estudo foi a primeira tentativa de usar o questionário FTNS em um país de língua portuguesa fornecendo dados interessantes para a sua efetiva aplicação. A neofobia em relação à tecnologia de alimentos foi influenciada por fatores sócio-econômicos. O grupo de indivíduos com idade superior a 36 anos, os de baixa escolaridade e aqueles de menor renda foram significativamente mais neofóbicos, indicando que a neofobia pode estar associada a falta de conhecimento/informação sobre as tecnologias. Desta forma, os consumidores devem ser informados sobre tecnologia utilizada durante a produção dos alimentos, a fim de aumentar a sua confiança nos novos produtos. Portanto, compreender a neofobia pode ser um diferencial para indústria de alimentos, sendo útil no desenvolvimento de novos produtos e na elaboração de estratégias de marketing.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABEP - Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa. Critério de Classificação Econômica Brasil. 2011
- Cardello, A.V. Consumer concerns and expectations about novel food processing technologies: Effects on product liking. *Appetite*, v. 40, p. 217–233, 2003.
- Cox, D.N., Evans, G. Construction and validation of a psychometric scale to measure consumers' fears of novel food technologies: the Food Technology Neophobia Scale. *Food Quality & Preference*, v. 1, p. 704–710, 2008.
- Dudo, A., Choi, C-H., Scheufele, D.A. Food nanotechnology in the news. Coverage patterns and thematic emphases during the last decade. *Appetite*, v. 56, p. 78–89, 2011.
- Evans, G., Cox, D.N. Australian consumers' antecedents of attitudes towards foods produced by novel technologies. *British Food Journal*, v. 108, n. 11, p. 916–930, 2006.
- Frewer, L.J., Bergmann, K., Brennan, M., Lion, R., Meertens, R., Rowe, G., Siegrist, M., Vereijken, C. Consumer response to novel agri-food technologies. Implications for predicting consumer acceptance of emerging food technologies. *Trends in Food Science & Technology*, v. 22, p. 442–456, 2011.
- Gaskell, G., Allum, N., Bauer, M., Durant, J., Allansdottir, A., Bonfadelli, H., et al. Biotechnology and the European public. *Nature Biotechnology*, v. 18, p. 935-938, 2000.
- Gruère, G.P. Implications of nanotechnology growth in food and agriculture in OECD countries. *Food Policy*, v. 37, p.191–198, 2012.
- Henriques, A.S., King, S.C., Meiselman, H.L. Consumer segmentation based on food neophobia and its application to product development. *Food Quality and Preference*, v. 20, n. 2, p. 408 83-91, 2009.
- Köster, E.P. Diversity in the determinants of food choice: A psychological perspective. *Food Quality and Preference*, v. 20, n. 2, p. 70-82, 2009.

- Matin, A.H., Goddard, E., Vandermoere, F., Blanchemanche, S., Bieberstein, A., Marette, S., Roosen, J. Do environmental attitudes and food technology neophobia affect perceptions of the benefits of nanotechnology? *International Journal of Consumer Studies*, v. 36, p. 149–157, 2012.
- Minim, V.P.R. *Análise sensorial: estudos com consumidores*. Viçosa: Editora. UFV, 2013. p. 332.
- Pliner, P., Hobden, K. Development of a scale to measure the trait of food neophobia in humans. *Appetite*, v. 19, p. 105–120, 1992.
- Prieto, A.J. A method for translation of instruments to other languages. *Adult Education Quaterly*, v.43, n.1, p.1-14, 1992.
- Rollin, F., Kennedy, J., Wills, J. Consumers and new food technologies. *Trends in Food Science & Technology*, v. 22, n. 2–3, p. 99–111, 2011.
- Ronteltap, A., Van Trijp, J.C.M., Renes, R.J., Frewer, L.J. Consumer acceptance of technology based food innovations: lessons for the future of nutrigenomics. *Appetite*, v. 49, p. 1–17, 2007.
- Schnettler, B., Crisóstomo, G., Sepúlveda, J., Mora, M., Lobos, G., Miranda, H., Grunert, K.G. Food neophobia, nanotechnology and satisfaction with life. *Appetite*, v. 69, p. 71–79, 2013.
- Siegrist, M. Factors influencing public acceptance of innovative food technologies and products. *Trends in Food Science & Technology*, v. 19, p. 603-608, 2008.
- van Kleef, E., van Trijp, H.C.M., Luning, P. Consumer research in the early stages of new product development: A critical review of methods and techniques. *Food Quality & Preference*, v. 16, p. 181–201, 2005.
- Vidigal, M.C.T.R., Minim, V.P.R., Moreira, R.T., Pires, A.C.S., Ferreira, M.A.M., Gonçalves, A.C.A., Minim, L.A. Tradução e validação para a língua portuguesa da escala de neofobia em relação à tecnologia de alimentos: Food Technology Neophobia Scale. *Revista Ciência Rural*, 2013. Aceito para publicação.

Tabela 1. Versão inglesa e portuguesa do questionário *Food Technology Neophobia Scale (FTNS)*: média e desvio padrão dos itens.

Items	Inglês	Português	Média	Desvio Padrão
1	New food technologies are something I am <i>uncertain</i> about.	Eu não estou totalmente familiarizado com novas tecnologias empregadas na produção e/ou processamento de alimentos.	4,43	1,91
2	New foods are <i>not healthier</i> than traditional foods.	Novos alimentos não são mais saudáveis do que os alimentos tradicionais.	3,71	2,02
3	The benefits of new food technologies are often grossly <i>overstated</i> .	As afirmações sobre os benefícios de novas tecnologias empregadas na produção e/ou processamento de alimentos são frequentemente muito exageradas.	3,86	1,90
4	There are plenty of tasty foods around so we <i>do not</i> need to use new food technologies to produce more.	Já existem inúmeros alimentos saborosos no mercado, então nós não precisamos de novas tecnologias para produzir mais alimentos.	2,10	1,65
5	New food technologies <i>decrease</i> the natural quality of food.	Novas tecnologias empregadas na produção e/ou processamento de alimentos reduzem a qualidade natural dos alimentos.	3,42	2,04
6	New food technologies are <i>unlikely</i> to have long term <i>negative</i> health effects. *	Novas tecnologias empregadas na produção e/ou processamento de alimentos provavelmente não trarão, a longo prazo, efeitos negativos à saúde.*	4,33	1,86
7	New food technologies give people <i>more</i> control over their food choices.*	Novas tecnologias empregadas na produção e/ou processamento de alimentos proporcionam às pessoas um maior controle sobre as suas escolhas alimentares. *	3,26	1,95
8	New products using new food technologies can help people have a balanced diet. *	Novos produtos que utilizam novas tecnologias de alimentos podem ajudar as pessoas a terem uma dieta equilibrada. *	2,89	1,78
9	New food technologies may have long term <i>negative</i> environmental effects.	Novas tecnologias empregadas na produção e/ou processamento de alimentos podem causar, a longo prazo, efeitos negativos ao meio ambiente.	3,75	1,91
10	It can be risky to switch to new food technologies too quickly.	Pode ser arriscado mudar rapidamente para novas tecnologias empregadas na produção e/ou processamento de alimentos.	4,23	1,91
11	Society should <i>not depend</i> heavily on technologies to solve its food problems.	A sociedade não deve depender demais de tecnologias para resolver os seus problemas alimentares.	4,14	2,14
12	There is no sense trying out high-tech food products because the ones I eat are already good enough.	Não faz sentido experimentar alimentos produzidos a partir de alta tecnologia, porque os que eu consumo já são bons o suficiente.	2,54	1,79
13	The media usually provides a <i>balanced</i> and <i>unbiased</i> view of new food technologies. *	A mídia geralmente fornece uma visão equilibrada e imparcial das novas tecnologias empregadas na produção e/ou processamento de alimentos. *	4,37	2,04
			47,04	12,03

* questões que necessitam reverter as notas.

Tabela 2. Neofobia em relação à tecnologia de alimentos por gênero, idade, estado civil, tamanho da família, escolaridade e renda familiar.

Variáveis	Classificação	Total dos respondentes (%)	Média (Desvio Padrão)	% de participantes em cada FTNGs			χ^2
				Neofílico	Neutro	Neofóbico	
Gênero	Masculino	58,6	47,52 ($\pm 12,78$)	16,15	67,08	16,77	2,027 ^{ns}
	Feminino	41,4	46,70 ($\pm 11,49$)	10,09	81,14	8,77	
Idade	<25 anos	36,0	46,55 ($\pm 10,27$) ^{a,b}	12,86	76,43	10,71	11,097 [*]
	26-35 anos	32,6	45,30 ($\pm 12,53$) ^b	19,70	68,94	11,36	
	>36 anos	31,4	49,59 ($\pm 13,05$) ^a	12,82	64,96	22,22	
Estado civil	Solteiro	57,1	45,85 ($\pm 12,27$)	16,67	70,27	13,06	6,851 ^{ns}
	União estável	38,8	48,90 ($\pm 11,12$)	11,26	72,85	15,89	
	Viúvo	1,3	46,06 ($\pm 21,04$)	40,00	40,00	20,00	
	Divorciado	2,8	46,10 ($\pm 13,25$)	27,27	54,55	18,18	
Tamanho da família	1-2 membros	43,4	46,50 ($\pm 13,12$)	17,75	67,46	14,79	4,647 ^{ns}
	3-4 membros	42,2	47,44 ($\pm 10,75$)	11,52	75,76	12,73	
	5 ou mais membros	14,4	47,52 ($\pm 12,31$)	18,18	63,64	18,18	
Nível de Escolaridade	Baixo	40,6	49,91 ($\pm 10,57$) ^a	6,96	74,68	18,35	15,388 [*]
	Alto	59,4	45,08 ($\pm 12,58$) ^b	20,78	67,53	11,69	
Renda	A	11,1	46,54 ($\pm 11,04$) ^b	16,67	70,83	12,50	18,192 [*]
	B1	22,4	45,66 ($\pm 10,73$) ^b	17,86	76,19	5,95	
	B2	16,5	46,41 ($\pm 12,77$) ^b	14,29	76,19	9,52	
	C	45,4	47,65 ($\pm 12,82$) ^b	15,22	65,94	18,11	
	DE	4,6	52,38 ($\pm 11,17$) ^a	2,78	72,22	25,00	

* significativo ao nível de 5% de probabilidade.

^a Alta escolaridade: graduação ou pós-graduação. Baixa escolaridade: ensino fundamental, ensino médio, escola profissional ou equivalente.

^b Renda média familiar: Classificação da Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa (ABEP, 2011).

PROPIEDADES FUNCIONALES DE HIDROLIZADOS DE PROTEÍNA DE PESCADO PROCESADOS MEDIANTE EL USO DE UN SISTEMA DE REACCIÓN ACELERADA POR MICROONDAS.

Liceaga, Andrea M¹., Tahergorabi, R.²

¹Assistant Professor, Protein Chemistry Laboratory; ²Postdoctoral Fellow
Purdue University, Department of Food Science, 745 Agriculture Mall Drive, West Lafayette, IN
47907-2009, USA

Tel.: +1-765-496-2460; Fax: +1-765-494-7953.

E-Mail: aliceaga@purdue.edu (A. Liceaga)

RESUMEN

El efecto de un sistema de reacción acelerada por microondas (MW) se utilizó para preparar hidrolizados de proteína de pescado en comparación con un sistema de tratamiento térmico convencional (TC). Filetes de carpa asiática (*Hypophthalmichthys molitrix*) se homogenizaron 5 min con 2 veces volumen de agua destilada. La mezcla homogénea se dividió en porciones iguales a las cuales se les incorporó Alcasase™ (0.072 U/g de proteína). Una parte de las muestras se incubaron con el uso de MW durante 2, 5, 7, 10 y 15 min. La otra porción de muestras fueron incubadas usando TC a base de baño de agua a 50°C durante 15, 30, 45 y 60 min. Al término de la incubación, ambos tratamientos fueron pasteurizados para inactivar la enzima y centrifugados 15 min a 16,300 × g. Cada muestra se analizó para estimar el grado de hidrólisis (DH), índice de actividad de emulsificación (EAI), estabilidad de emulsión (ES), capacidad de espumado (FC) y estabilidad de espumado (FS). Los resultados indicaron que con MW-15 min, se obtuvo un 38.8% DH, más alto que el grado de hidrólisis obtenido con TC-90 min (36.4% DH). Asimismo, la EAI de MW-15 min fue mayor (P<0.05) que todos los demás tratamientos, demostrando una fuerte propiedad de emulsificación. El EAI más bajo fue del TC-90, seguido por MW-2. En cuanto a la capacidad de espumado (FC), MW-15 sostuvo el valor más alto (54%), seguido de MW-5, TC-45 y TC-90 (todos con un 50%FC). Los tratamientos TC-30, TC-60 presentaron un 0% de capacidad de espumado. Este estudio indica que la proteólisis asistida con un tratamiento por microondas mejora las propiedades funcionales de las proteínas de pescado además de disminuir considerablemente el tiempo de procesado. A largo plazo, el uso de microondas en este tipo de hidrolizados puede también disminuir los costos del proceso.

INTRODUCCION

Producción de hidrolizados de proteína de pescado (HPP) se refiere al proceso mediante el cual se fragmentan enlaces peptídicos de proteínas mediante el uso de ácidos o procesos enzimáticos. En el caso de HPP derivados de procesos enzimáticos, estos han adquirido importancia debido a su alto valor nutricional e incremento en propiedades funcionales por la producción de péptidos de cadena corta así como amino ácidos libres durante la hidrólisis enzimática. Sin embargo, el a veces alto costo de la hidrólisis enzimática puede ser una barrera para la aplicación industrial [1]. Es por esta razón que la utilización de procesos que agilicen o aceleren el proceso enzimático es deseada. La utilización de un proceso de intensificación por microondas es capaces de generar mayores rendimientos con menos tiempo de reacción. Otra ventaja de este tipo de proceso es el hecho de la rapidez con que se genera el calor necesario para dichas reacciones enzimáticas, comparado con métodos térmicos convencionales. El uso de intensificación por microondas para la producción de HPP no ha sido reportado en literatura.

La carpa plateada (*Hypophthalmichthys molitrix*) es considerada una especie subutilizada e invasora responsable de daños ambientales y económicos en el sistema del Rio Mississippi en los estados Unidos de América. Esta especie está clasificada como fauna nociva por el Departamento de Pesquerías y Fauna Salvaje de los Estados Unidos [2]. Es por eso que existen motivos para incrementar la cosecha y aprovechamiento de esta especie nociva.

El objetivo de este estudio es desarrollar HPP derivados de carpa plateada mediante el uso de intensificación por microondas y comparar las propiedades funcionales de estos HPP a las de HPP derivados de procesos térmicos convencionales.

MATERIALES Y METODOS

Carpa plateada (*Hypophthalmichthys molitrix*) fue capturada de las aguas del Rio Wabash (Lafayette, IN, USA) y transportada al laboratorio en hielo. Los pescados fueron fileteados y congelados (-20 °C) hasta su uso. La enzima Alcalase™ 2.4 L (EC 3.4.21.14, P - 4860, 2.4 U/G), L-leucina, ácido 2,4,6-trinitrobenzenesulphonic (TNBS), se obtuvieron de Sigma-Aldrich, (St. Louis, MO, USA).

Preparación de HPP

Los HPP se prepararon de acuerdo a Liceaga-Gesualdo y Li-Chan [3]. Filetes (500 g) fueron descongelados a 4°C la noche anterior, lavados con agua destilada fría y homogenizados

(CB15Waring Commercial, Torrington, CT) con dos veces el volumen de agua (p/v). El líquido se hidrolizó con Alcalase (0.072 U/g de proteína en el musculo de pescado) con diferentes tiempos de incubación para ambos tratamientos (convencional y microondas, respectivamente). Para el tratamiento térmico convencional (TC), las muestras se calentaron a la temperatura indicada a base de baño de agua a 50°C durante 15, 30, 45 y 60 min (CH-15, CH-30, CH-45 and CH-60). Las otras muestras fueron incubadas con el uso de un sistema de reacción acelerada por microondas (CEM Corporation MARS, Matthews, NC) en ocho contenedores de capacidad de 25 mL cada uno, 40% ciclo de trabajo, 800 W durante 2, 5, 7, 10 y 15 minutos (MW-2, MW-5, MW-7, MW-10 y MW-15). Sensores de temperatura de fibra óptica se utilizaron para medir el promedio de temperatura dentro de los contenedores y la cámara de microondas. La temperatura del instrumento se ajustó entre 45-50°C.

Al término de la incubación, ambos tratamientos fueron pasteurizados para inactivar la enzima y centrifugados 15 min a $16,300 \times g$. El sobrenadante de cada muestra se reservó en congelación a $-20 \pm 2^\circ\text{C}$. Cada muestra se analizó para estimar el grado de hidrólisis (DH), índice de actividad de emulsificación (EAI), estabilidad de emulsión (ES), capacidad de espumado (FC) y estabilidad de espumado (FS).

Grado de hidrólisis

El grado de hidrólisis (DH) se obtuvo mediante el método de TNBS adaptado de Adler-Nissen [4] y con modificaciones por Liceaga-Gesualdo y Li-Chan [3]. Alícuotas (0.5 mL) en triplicado de cada tiempo de hidrólisis se diluyeron 10 veces en agua destilada, mezclaron con 24% ácido tricloroacético (TCA) y centrifugaron a $12,100 \times g$ durante 15 min. El sobrenadado (0.2 mL) se mezcló con 2 mL de 0.2 M borato de sodio (pH 9.2) y 1 mL de 4.0 mM TNBS. La mezcla se incubó en la obscuridad a temperatura ambiente durante 30 min, seguido por la adición de 1 mL 2 M NaH_2PO_4 con 18 mM Na_2SO_3 . La absorbancia de la solución se midió a 420 nm usando un espectrofotómetro UV-Vis (Beckmann, Irvine, CA). El DH se definió como la relación de porcentaje de enlaces peptídicos rotos (h) sobre el total número de enlaces presentes por unidad de peso (h_{tot}) y calculado usando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ (DH)} = \left[\frac{h}{h_{tot}} \right] \times 100$$

Para proteínas de pescado, el h_{tot} se considera como 8.6 meq/g [5]. Los equivalentes de hidrólisis (h) se calcularon mediante el incremento de grupos amino liberados.

Indice de Actividad Emulsificante (EAI)

EAI (m²/g sólidos) se determinó de acuerdo al método espectroturbidimétrico de Pearce y Kinsella [6] con modificaciones por Liceaga-Gesualdo y Li-Chan [3]. Un total de 3 mL de 5% (p/v) FPH en 0.1 M fosfato (pH 7.0) se añadieron a la micro-cámara con 1 mL de 100% aceite de canola. La muestra se homogenizó a 1800 rpm durante 1 min (Sorvall Omni Mixer, Norwalk, CT). Alícuotas de la emulsión se diluyeron 200 veces en tubos de ensayo con una solución de 0.3% SDS (sulfato dodecil de sodio). Absorbancia se leyó a 500 nm. EAI se expresó como:

$$EAI = \frac{2T}{\phi c}$$

Donde T = turbidez ($2.3 A/\tau$); A = absorbancia a 500 nm a los 0 minutos; τ = trayectoria de luz en metros; ϕ = volumen de la fase oleosa = 0.25; c = concentración de sólidos (0.5%) en la fase acuosa. Análisis se realizó por triplicado.

Capacidad de Espumabilidad (FC)

Muestra (0.3%) se homogenizó en 100 mL de agua destilada durante 1 min a 125 rpm (Sorvall Omni Mixer, Norwalk, CT). El volumen de la mezcla se midió en un cilindro graduado, expresando FC como el porcentaje de incremento de volumen después de homogenización. Análisis se realizó por triplicado.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados del grado de hidrólisis (**Tabla 1**) indicaron que con la aplicación de calor por microondas por 15 minutos (MW-15) se obtuvo un total de 38.8% DH, más alto que el grado de hidrólisis obtenido con el tratamiento térmico convencional a base de baño de agua durante 90 minutos (TC-90) con un 36.4% DH. Estos resultados demuestran la rapidez para efectuar la hidrólisis enzimática cuando la incubación de la enzima en el sustrato se lleva a cabo con la aplicación de un sistema de microondas. Con solo 15 min de reacción, se logró obtener una mayor hidrólisis de la proteína que necesito 90 min cuando la incubación se llevó a cabo en un baño de agua. Observaciones similares se han reportado para hidrolizados de proteína de suero de leche por Izquierdo et al. [7], donde la utilización de tratamientos enzimáticos por microondas resultó en un %DH mayor a aquellos hidrolizados obtenidos por un tratamiento térmico convencional.

En cuanto a las propiedades funcionales, la EAI de MW-15 min ($29.06 \text{ m}^2/\text{g}$) fue mayor ($P < 0.05$) que todos los demás tratamientos, demostrando una fuerte propiedad de emulsificación (**Figura 1**). El EAI más bajo fue del TC-90 y MW-2, ambos con una área muy pequeña de la interface estabilizada por gramo de proteína ($2.02 \text{ m}^2/\text{g}$). Es de suponer que en FPH-MW-15 con un grado de hidrólisis mayor (38.8% DH), la presencia de grupos hidrofóbicos ahora expuestos a la superficie en forma de péptidos logra reducir la tensión superficial entre las fases acuosa y oleosa facilitando la formación de una emulsión. Mientras que las muestras con menor % DH aún conservan mucha de la estructura nativa de la proteína, con grupos hidrofóbicos sepultados o poco expuestos en los péptidos. En cuanto a la capacidad de espumabilidad (FC), FPH de MW-15 sostuvo el valor más alto (54%), seguido de MW-5, TC-45 y TC-90 (todos con un 50%). Los tratamientos TC-30, TC-60 presentaron un 0% de FC. Estas observaciones demuestran como la hidrólisis de la proteína produce una amplia gama de péptidos que poseen una conformación alterada incluyendo balance de carga, cambios en la hidrofobicidad así como un menor peso molecular. Estas características contribuyen a la formación rápida de espumas que se establecen mediante interacciones de proteína-proteína [3].

CONCLUSIONES

Este estudio indica que la proteólisis asistida con un tratamiento por microondas puede mejorar las propiedades funcionales de las proteínas de pescado además de disminuir considerablemente el tiempo de procesado y a largo plazo, el uso de microondas en este tipo de hidrolizados puede también disminuir los costos del proceso. Los resultados de este estudio son preliminares y más investigación se requiere para determinar si en efecto el uso de microondas tiene un impacto positivo en las propiedades funcionales de hidrolizados de proteína, así como su eficacia para disminuir costos de producción.

BIBLIOGRAFIA

1. Kristinsson, H.G. and B.A. Rasco, *Fish protein hydrolysates: production, biochemical, and functional properties*. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2000. 40(1): p. 43-81.
2. ACRCC, A.C.R.C.C., *2011 Asian Carp Monitoring and Rapid Response Plan Interim Summary Reports*, 2012, Asian Carp Regional Coordinating Committee (ACRCC): Chicago, IL, USA.

3. Liceaga-Gesualdo, A. and E. Li-Chan, *Functional properties of fish protein hydrolysate from herring (Clupea harengus)*. Journal of Food Science, 1999. 64(6): p. 1000-1004.
4. Adler-Nissen, J., *Determination of the degree of hydrolysis of food protein hydrolysates by trinitrobenzenesulfonic acid*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1979. 27(6): p. 1256.
5. Adler-Nissen, J., *Control of the proteolytic reaction and of the level of bitterness in protein hydrolysis processes*. Journal of Chemical Technology and Biotechnology. Biotechnology, 1984. 34(3): p. 215-222.
6. Pearce, K.N. and J.E. Kinsella, *Emulsifying properties of proteins: evaluation of a turbidimetric technique*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1978. 26(3): p. 716-723.
7. Izquierdo, F.J., et al., *Effects of combined microwave and enzymatic treatments on the hydrolysis and immunoreactivity of dairy whey proteins*. International Dairy Journal, 2008. 18(9): p. 918-922.

Tabla 1. Porcentaje (grado) de hidrólisis (%DH) para proteínas de carpa plateada (HPP) bajo tratamiento de hidrólisis por medio de microondas (MW) y tratamiento convencional (TC) por medio de baño de agua a 50°C.

Tratamiento ²	%DH ¹
MW 2	9.14
MW 5	15.4
MW 7	19.6
MW 10	29.3
MW 15	38.8
TC 15	1.75
TC 30	14.6
TC 45	22.5
TC 60	30.4
TC 90	36.4

¹ Resultados son el promedio de tres observaciones.

² Tratamientos incluyen muestras hidrolizadas con Alcalase™ e incubación a base de (a) baño de agua a 50°C durante 15, 30, 45 y 60 min (CH-15, CH-30, CH-45 and CH-60), (b) uso de microondas (40% ciclo de trabajo, 800 W) durante 2, 5, 7, 10 y 15 minutos (MW-2, MW-5, MW-7, MW-10 y MW-15).

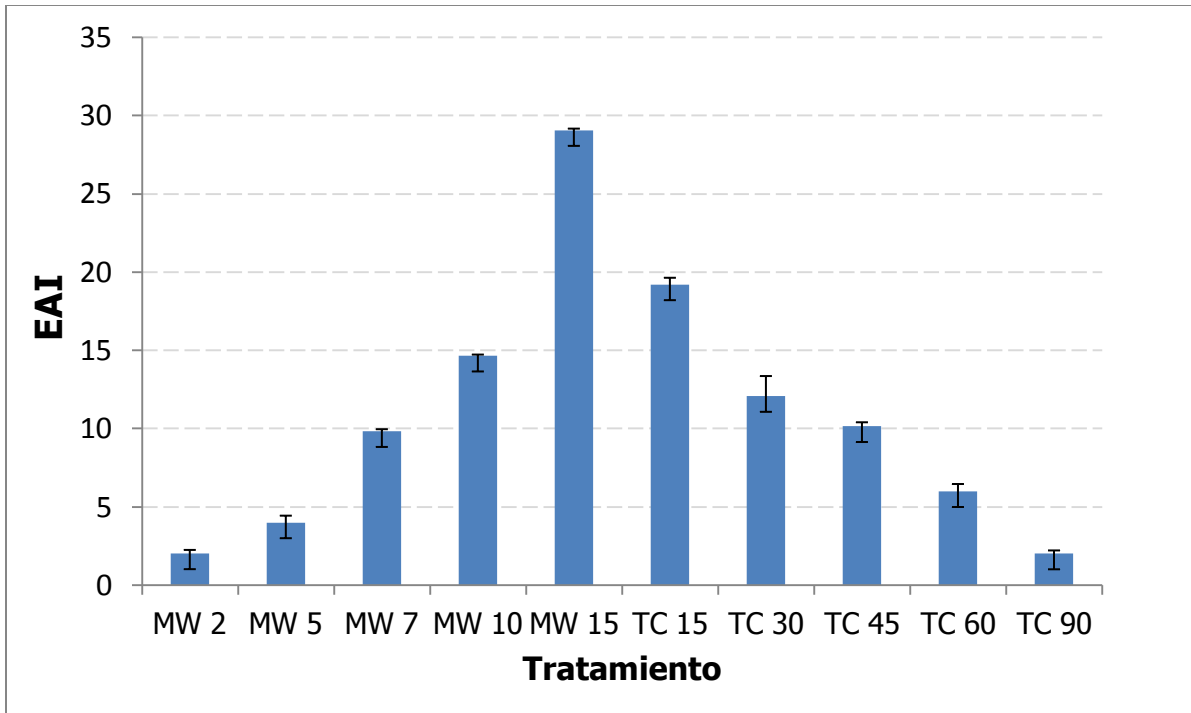


Figura 1. Resultados del índice de actividad de emulsificación (EAI) en m²/g sólidos para PPH. Resultados son el promedio de tres observaciones con desviación estándar. Ver leyenda para los tratamientos en Tabla 1.

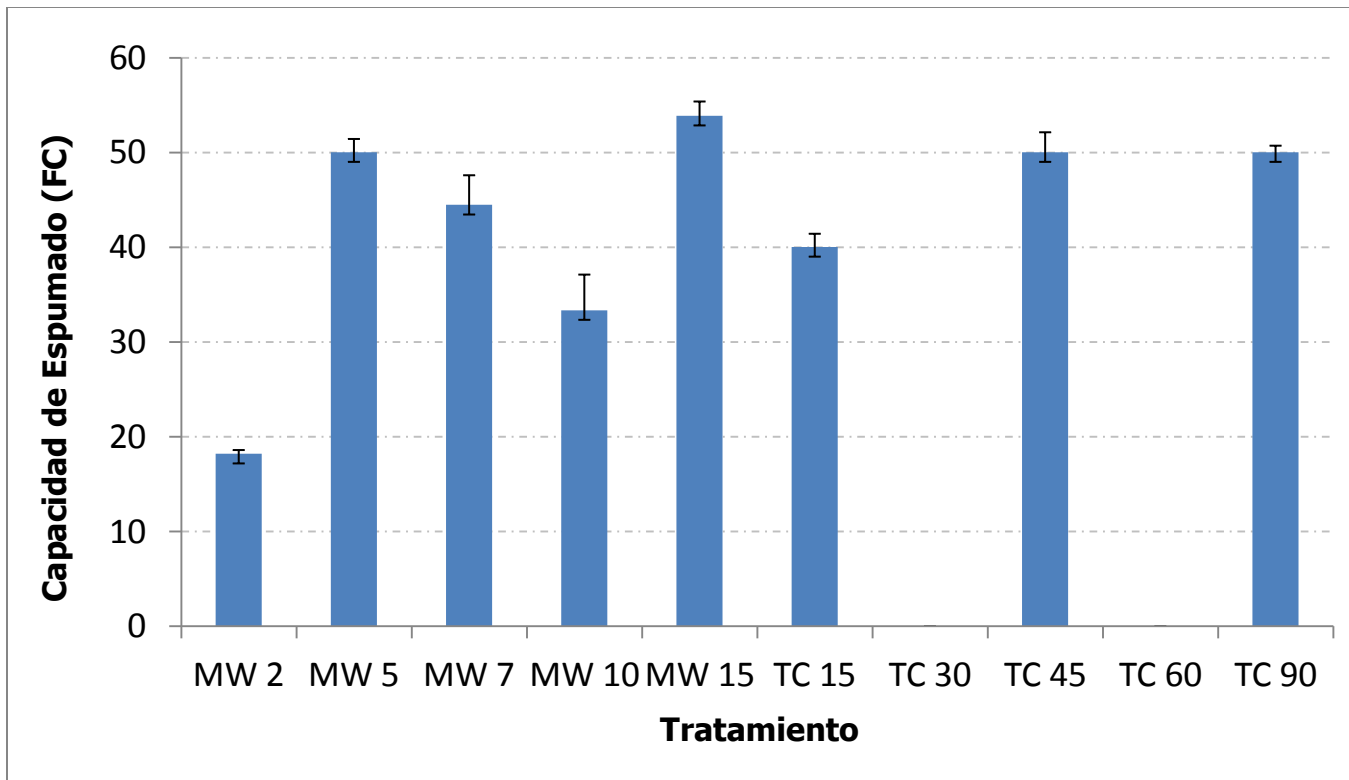


Figura 2. Resultados la capacidad de espumado (%FC) para PPH. Resultados son el promedio de tres observaciones con desviación estándar. Ver leyenda para los tratamientos en Tabla 1.

MIGRACIÓN DE CARVACROL DESDE LOS NANOCOMPOSITOS DE ACETATO BUTIRATO DE CELULOSA

R.I. Quintero¹, M.J. Galotto², A. Guarda², F. Rodríguez², A. Torres²

¹Universidad Tecnológica de Panamá. Facultad de Ciencias y Tecnología.

rosa.quintero@utp.ac.pa

²Centro para el Desarrollo de la Nanociencia y la Nanotecnología (CEDENNA), Universidad de Santiago de Chile. Facultad Tecnológica. Laboratorio de Envases.

INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas, el creciente aumento de los envases sintéticos ha generado importantes problemas ambientales debido a su acumulación y escasa degradabilidad, es por ello, que hoy día existe la necesidad de desarrollar materiales más amigables con el medioambiente y que presenten características similares a los envases tradicionales. De este modo los polímeros naturales y sus derivados se presentan como una alternativa frente a dicha problemática. Sin embargo, estos polímeros presentan pobres propiedades barrera, mecánico-térmicas, además de una elevada afinidad por el agua lo que limita su posible uso en el desarrollo de envases para alimentos. Es por ello que una alternativa que permitiría superar estos problemas sería la incorporación de organoarcillas dentro de su matriz polimérica, ya que esta incorporación ha resultado eficaz en lograr la modificación de propiedades de materiales plásticos tradicionales (Persico y col. 2009). Por su parte, el incorporar sustancias de origen natural como el carvacrol a los polímeros naturales puede impartir propiedades funcionales adicionales a este tipo de material. Es por este motivo que el empleo de sustancias con actividad antimicrobiana surge como un área de grandes perspectivas en el área de envases activos de alimentos. Sin embargo, la eficiencia de un envase con capacidad antimicrobiana depende, entre otros factores, de la cinética de liberación del compuesto activo. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue el estudio de la migración del carvacrol desde los nanocompositos de acetato butirato de celulosa preparados mediante la técnica disolución-evaporación.

MATERIALES Y METODOS

Materiales

Acetato butirato de celulosa (29,5 % m/m de acetil y 17 % m/m de butil, Mn 65000), suministrado por Sigma–Aldrich. Montmorillonita modificada (organoarcilla) conocidas

comercialmente como Cloisite® 30B (bis-hidroxi-etil-tallow metil amonio cuaternario) obtenida de Southern Clay Products Inc. (Texas, USA). Polietilenglicol ($\geq 99,9\%$), Carvacrol (5-isopropil-2-metilfenol, 98%), suministrado por Sigma-Aldrich (Santiago, Chile), cloroformo (grado técnico) por SoviQuim (Santiago, Chile). En este estudio se usaron 3 cepas de distintos microorganismos seleccionados por su relevancia en la industria alimentaria: bacteria Gram-positiva *Listeria innocua* ATCC 33090 (Colección Española de Cultivo Tipo), bacteria Gram-negativa *Escherichia coli* O157:H7 (obtenida del Instituto de Salud Pública OPS: EQAS-2003) y la levadura *Saccharomyces cerevisiae* CECT T73 (Colección Española de Cultivos Tipo).

Preparación de los nanocompositos

Los nanocompositos fueron preparados de acuerdo a la metodología disolución-evaporación propuesta por Rhim y col 2009 con modificaciones. Los nanocompositos consistieron de acetato-butirato de celulosa (CAB), Cloisite 30B (C30B), y carvacrol (Cv) como agente antimicrobiano.

Caracterización de los nanocompositos

Para determinar la dispersión de las láminas de organoarcillas en los nanocompositos se llevaron a cabo estudios de microscopia electrónica de transmisión (TEM) mediante un microscopio electrónico de transmisión PhillipsTecnai 12 Bio Twin (Eindhoven, Holanda) con un voltaje de aceleración de 80kV. Una pieza de muestra de 0,5 x 4 mm fue colocado dentro de una cápsula de gelatina conteniendo LR-White hasta su máxima capacidad. Se tapó la cápsula y se polimerizó en estufa a 50°C por 18 horas. Luego, fueron obtenidos cortes finos (50-60 nm) mediante un ultramicrotomo Sorvall MT-5000 y fueron colocados en grilla de cobre de 300 mesh.

Las mediciones de Velocidad de transmisión de vapor de agua (WVTR) se determinó en un equipo Mocon Permatran® W3/31 (Minneapolis, MN, EE.UU.), de conformidad con la norma ASTM F1249-90, teniendo como condiciones de trabajo 37,8 °C, 90 % RH y los resultados reportados en $[g / (m^2 \text{ día})]$ fueron el promedio de tres mediciones. La actividad antimicrobiana de los films se realizó de acuerdo al método descrito por Rhim y col. 2006 y conforme a la norma ASTM E 2149. 2001. Todas las muestras de films se cortaron en trozos pequeños, se pesaron (~ 0.5 g) y se esterilizaron con luz UV durante 2 minutos. Luego se introdujeron en un tubo de ensayo con una solución estéril y se adicionó 1 ml de inóculo previamente preparado (1.0×10^5 UFC/ml). Posteriormente se sembró 100 μ L en placas que

contenían agar Luria Bertani (*E. coli* y *L. innocua*), Levadura peptona dextrosa (*S. cerevisiae*) y fueron incubadas en una cámara de aeróbica a 37 °C (bacterias) y 28 ° C (levadura) durante 48 h. Por otra parte, para los estudios de migración se trabajó con muestras con una concentración inicial de migrante constante de aproximadamente 95000 mg/kg, las que se pusieron en contacto con dos simulantes de alimentos (etanol 10% v/v, etanol 50% v/v) a 25°C, 40°C y 55°C hasta alcanzar el estado de equilibrio. Para realizar la determinación de la migración específica, 100 cm² de muestra fueron sumergidas en 142 mL de simulante, en tubos de vidrio mediante el procedimiento de inmersión total de acuerdo a la norma ENV 1186. Se tomaron muestras de 1 ml de simulante a diferentes tiempos para su posterior análisis mediante cromatografía líquida de alta presión (HPLC).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para determinar la dispersión de las láminas de la organoarcilla en los nanocompositos se llevó a cabo estudios morfológicos mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM). La figura 1 muestra la microscopia TEM de los nanocompositos de CAB/30B con dos niveles de magnificación. Las líneas oscuras y las áreas brillantes representan la organoarcilla y la matriz de CAB, respectivamente. Todos los nanocompositos muestran la intercalación de las láminas de las organoarcillas junto a estructuras tactoides, los cuales son consistente con los patrones de difracciones obtenidos (datos no mostrados).

Por otra parte, la permeabilidad de vapor de agua (WVP) de los nanocompositos muestra en la una importante reducción entre 30 - 40 % comparada con el film de CAB (figura 2). El efecto de la estructura laminar de la arcilla sobre la permeabilidad a gas ha sido extensamente estudiada. Así, diversos autores han reportado la reducción en la permeabilidad de películas en presencia de arcilla. La alta relación de aspecto ha sido empleada para explicar la generación de un paso tortuoso el cual impide el movimiento de moléculas permeantes dentro del material, situación que se traduce en la reducción de la permeabilidad.

El seguimiento de la migración específica del carvacrol desde los nanocompositos en contacto directo con los diferentes simulantes de alimentos (etanol 10% v/v y etanol 50% v/v) se presenta en la Figura 3. Tal como se muestra en la figura la liberación de carvacrol en el simulante ETOH 50% v/v alcanza una migración en el equilibrio de 87 mg/dm² en aproximadamente 2 horas, mientras que para el ETOH 10% v/v la migración del carvacrol en el equilibrio fue de 31 mg/dm² en aproximadamente 12 horas. Esto se debe a una menor polaridad

de la solución ETOH 50% v/v comparada con la solución 10% ETOH, lo cual favorece la transferencia de masa del migrante desde el polímero hacia la fase líquida (Galotto y col. 2011b) debido a una mayor afinidad del carvacrol por esta solución. Las concentraciones de equilibrio en el simulante y en el polímero obtenidas de los resultados experimentales fueron usadas para estimar el coeficiente de partición, $K_{P/SA}$, a las condiciones especificadas. Los valores obtenidos de $K_{P/SA}$ para los diferentes film se presentan en la Tabla 1, de los resultados obtenidos, es posible observar que con el incremento de la concentración de etanol en la solución, el coeficiente de partición decrece, lo cual indica que está favorecida la difusión del carvacrol hacia el simulante, lo que es consistente con observado en la Figura 3.

En cuanto a los resultados obtenidos en las concentraciones del carvacrol (g/Kg) retenidas en los diferentes films, obtenidos después del proceso de migración se muestran en la figura 4. Se observó que en el simulante etanol 10% v/v, los films liberaron hasta un 40% del compuesto antimicrobiano, mientras que en el simulante etanol 50% v/v, se obtuvo una liberación del compuesto antimicrobiano de hasta un 86% en los films, siendo los films CAB/30B5%/Cv la que presentó una mayor liberación, lo que sugiere que la alta concentración del compuesto antimicrobiano y su afinidad química con este simulante favorece su liberación y no permite observar ningún efecto en el contenido de la arcilla en la cinética de liberación del compuesto antimicrobiano.

Finalmente los resultados de la actividad antimicrobiana de los nanocompositos de CAB se muestran en la figura 5. Se observa la completa reducción en el crecimiento microbiano de todos los microorganismos testeados.

CONCLUSIONES.

La incorporación de pequeñas cantidades de organoarcilla en los films de acetato butirato de celulosa produce estructuras intercaladas, produciendo cambios significativos en la propiedad barrera al vapor de agua. Los nanocompositos mostraron una reducción significativamente en la permeabilidad al vapor de agua con respecto al film control (sin organoarcilla).

La migración del carvacrol desde los films, dependió de su afinidad química con el simulante. Al disminuir la polaridad del simulante, se incrementó la afinidad del carvacrol por el simulante, por lo tanto la liberación del carvacrol fue mayor. En el estudio no se pudo evidenciar un efecto retardante de la organoarcilla en la migración del carvacrol, lo que se atribuyó a la alta concentración de agente antimicrobiano incorporado en los films.

En cuanto a la actividad antimicrobiana se observó un efecto inhibitor en el crecimiento de los microorganismos estudiados. Estos **resultados sugieren una futura aplicación de la nanotecnología en el desarrollo de envases biodegradables con una funcionalidad adicional.**

BIBLIOGRAFÍA

Galotto, M. J., Torres, A., Guarda, A., Moraga, N., Romero, J. (2011). Experimental and theoretical study of LDPE: Evaluation of different food simulants and temperatures. *Food Research International*, 44, 3072-3078.

Persico, P., Ambrogi, V., Carfagna, C., Cerruti, P., Ferrocino, I., Mauriello, G. (2009). Nanocomposite polymer films containing Carvacrol for antimicrobial active packaging. *Polymer Engineering and Science*, 49, 1447-1455.

Rhim, J.W., Hong, S.I., Ha, C.S., (2009). Tensile, water vapor barrier and antimicrobial properties of PLA/nanoclay composite films. *LWT-Food Science and Technology*, 42, 612-617.

Rhim, J.W., Hong, S.I., Park, H-M. and Ng, P.K.W. (2006). Preparation and characterization of chitosan-based nanocomposite films with antimicrobial activity. *Journal Agricultural and Food Chemistry* 54, 5814-5822.

TABLAS Y FIGURAS

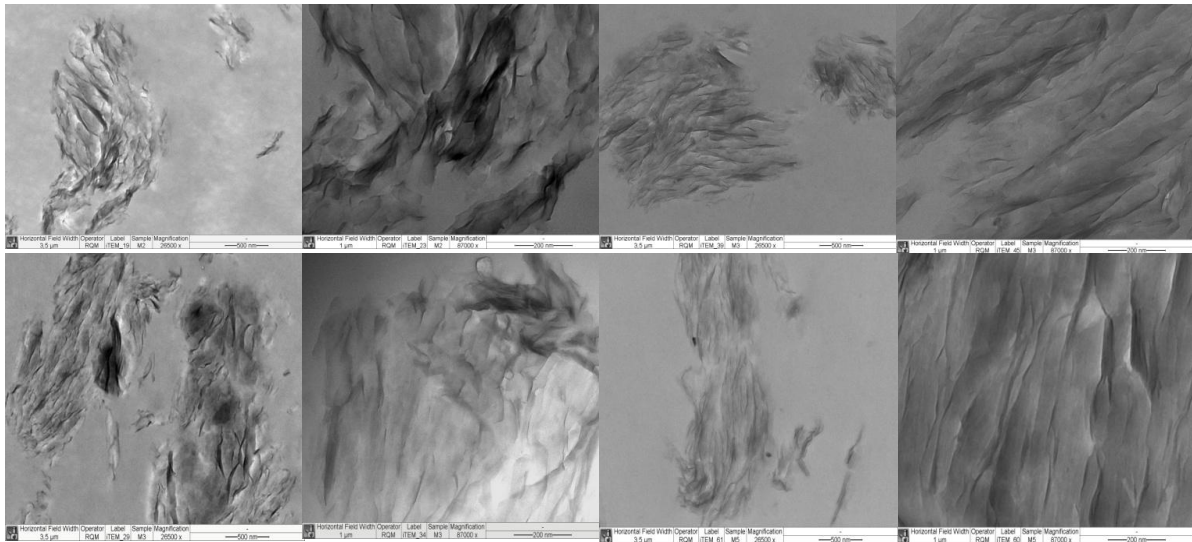


Figura 1. Micrografía TEM de los nanocompositos de CAB obtenidos (magnificación 26500x,87000x): a) CAB/30B3%, b) CAB/30B5%, c) CAB/30B3%/Cv, d) CAB/30B5%/Cv

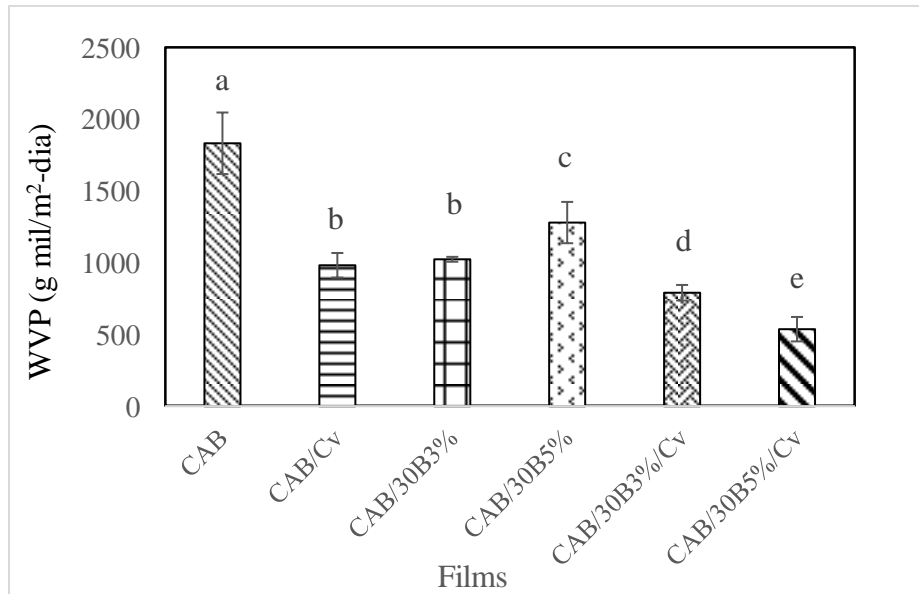


Figura 2. Permeabilidad a vapor de agua de los diferentes films de acetato butirato de celulosa.

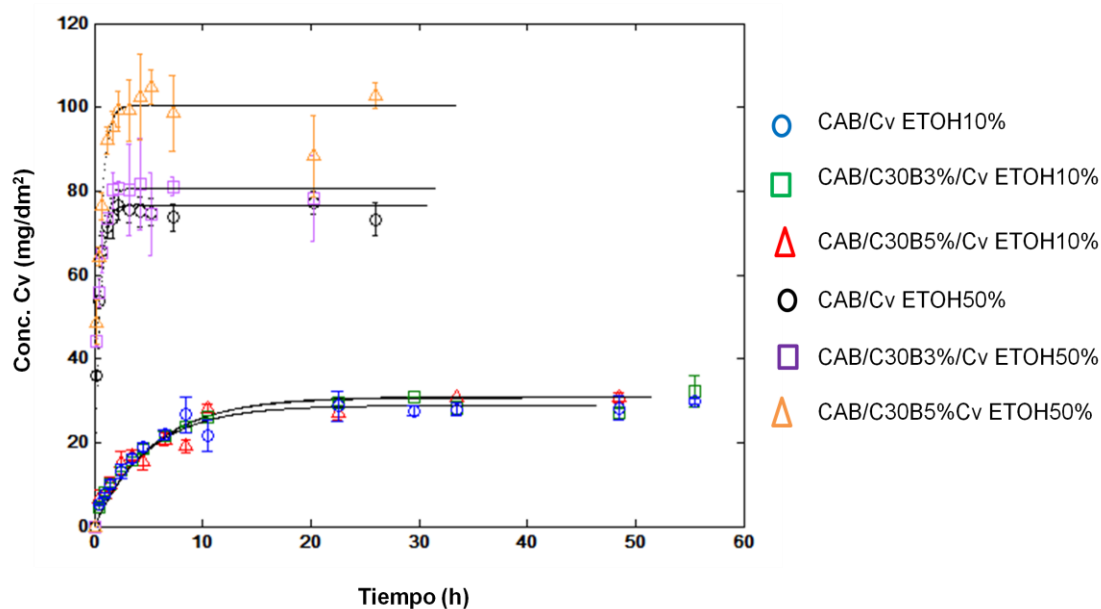


Figura 3. Efecto de los simulantes sobre la migración del carvacrol a 40 °C en los films de acetato butirato de celulosa.

Tabla 1. Coeficientes de partición, coeficiente de difusión y valores RMSE de Carvacrol en los films de CAB en diferentes simulantes a 40°C.

Films	Etanol 10% v/v				Etanol 50% v/v			
	C_{po} (mg/kg)	$K_{p/SA}$ experimental	D_p^* (m^2/s)	RMSE %	C_{po} (mg/kg)	$K_{p/SA}$ experimental	D_p^* (m^2/s)	RMSE %
CAB/Cv	90538	$770 \pm 2,1$	$2,0 E-14$	2,2	96682	$110 \pm 2,5$	$1,5 E-12$	1,8
CAB/C30B3%/Cv	92425	$780 \pm 1,6$	$2,2 E-14$	1,5	94698	$100 \pm 1,0$	$1,5 E-12$	2,5
CAB/C30B5%/Cv	88149	$825 \pm 2,0$	$2,3 E-14$	2,3	90914	$60 \pm 1,5$	$1,5 E-12$	1,3

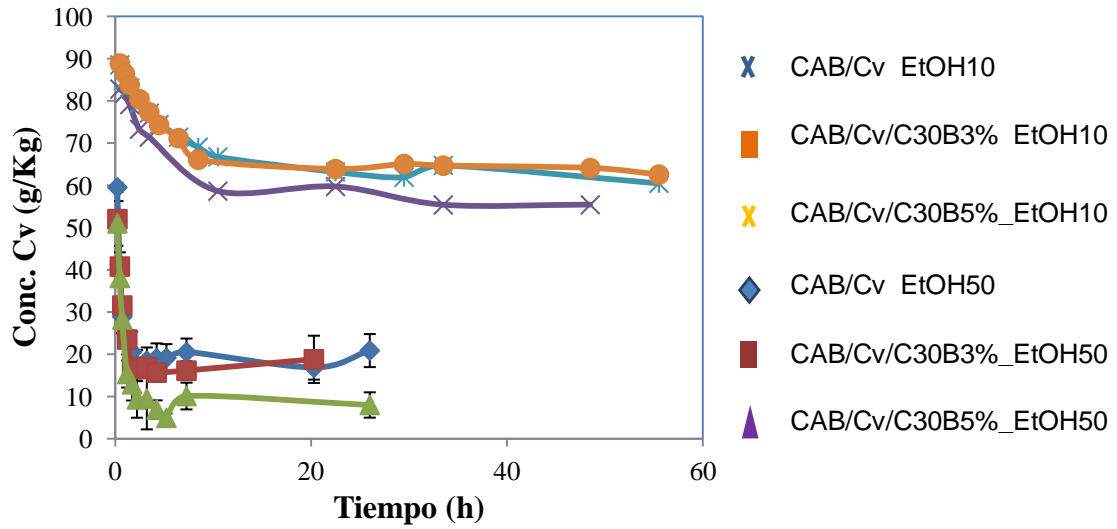


Figura 4. Concentración de carvacrol retenido en los diferentes films a 40°C en los simulantes (ETOH 10% v/v y ETOH 50% v/v).

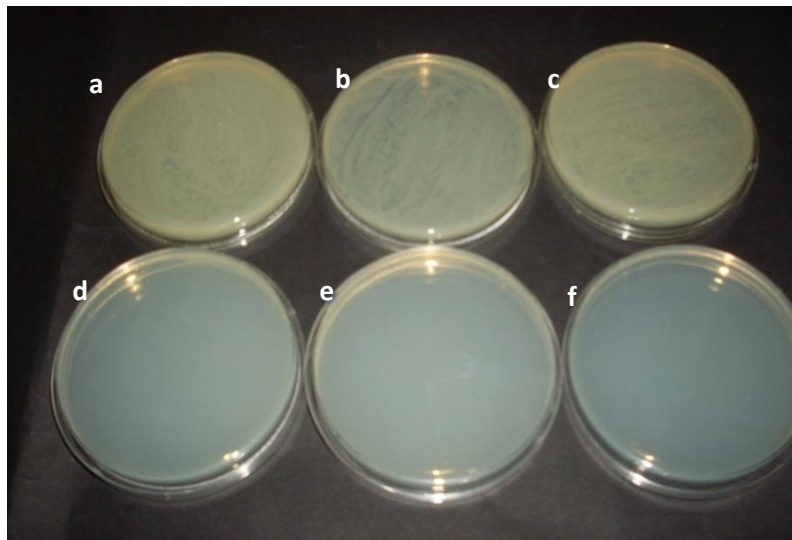


Figura 5. Fotografía de resultados de las pruebas antimicrobiana de los films frente a *E. coli* a) CAB, b) CAB/30B3%, c) CAB/30B5%, d) CAB/Cv e) CAB/30B3%/Cv, f) CAB/30B5%/Cv

EFFECTO DE LA LIPASA SOBRE LAS PROPIEDADES FÍSICAS DE BIZCOCHOS DE CONTENIDO REDUCIDO EN GRASA DURANTE EL ALMACENAMIENTO

J. Rodríguez-García¹ Sarabjit S Sahi²; I. Hernando¹

¹Grupo de Microestructura y Química de Alimentos. Departamento de Tecnología de Alimentos. Universitat Politècnica de València. Camino de Vera s/n., 46022 Valencia (España). ²Campden BRI, Chipping Campden, Glos GL55 6LD (Reino Unido). mihernan@tal.upv.es

INTRODUCCIÓN

La obesidad y el sobrepeso han alcanzado caracteres de epidemia a nivel mundial. La preocupación creciente por este problema ha impulsado diversas iniciativas para lograr que los ciudadanos adopten una alimentación saludable (AESAN, 2005). Una de las áreas de actuación por parte de los centros de investigación y la industria de alimentos es la reformulación de alimentos para mejorar su perfil nutritivo.

Los productos horneados se caracterizan por su elevado aporte calórico y su alto contenido en grasas y azúcares. Sin embargo, son productos muy valorados por los consumidores debido a sus características organolépticas y facilidad de preparación. Además, existe un elevado consumo de estos productos en la población infantil. Se han realizado estudios sobre el reemplazamiento de grasa en productos horneados empleando una amplia gama de sustitutos; polidextrosa, maltodextrina, derivados de la celulosa (hidroxipropilmetilcelulosa), proteínas microparticuladas y otros (Pateras, 1995). En bizcochos, la inulina es un ingrediente, que se ha utilizado para reemplazar la grasa con resultados satisfactorios (Devereux et al. 2003; Zahn et al. 2010).

La inulina es un hidrato de carbono polidisperso formado básicamente por enlaces β (2-1) fructosil-fructosa (Roberfroid y Delzenne, 1998). Debido a la naturaleza de su estructura, la inulina posee diversos beneficios nutricionales como ser una fibra dietética, aportar bajo valor calórico y ser un prebiótico (Franck, 2002). Además de sus óptimas propiedades nutricionales, la inulina se emplea como mimético de la grasa debido a su fácil aplicación tecnológica y su contribución a la textura y sabor deseados en el producto final (Niness, 1999).

La parte más difícil del reemplazamiento de la grasa por un sustituto es conseguir cubrir todas y cada una de sus funciones. Para ello, los sustitutos se emplean en combinación con otros ingredientes que ayudan a mejorar el resultado del producto final. Estos ingredientes pueden ser

enzimas, emulsificantes u otros aditivos. Actualmente, existe una amplia literatura sobre el uso de enzimas en productos horneados, ya que su utilización permite prescindir de aditivos, como los emulsificantes, y así conseguir etiquetas más limpias. Por ejemplo, se han realizado estudios sobre el uso de la lipasa en pan (Moayedallaie et al. 2010) y bizcochos (Guy y Sahi, 2006) donde se han observado mejoras en el volumen, textura y vida útil de los productos. La enzima lipasa genera sustancias tensoactivas que estabilizan las burbujas, ayudando a una mejor expansión de la miga y por tanto un mejor volumen y textura final (Guy y Sahi, 2006).

El objetivo del presente trabajo fue estudiar el efecto de la lipasa en las propiedades físicas (dureza, humedad y actividad de agua) de bizcochos con contenido reducido de grasa (0%, 50% y 70% de reemplazamiento de grasa por inulina) durante 14 días de almacenamiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales y preparación de las muestras

Los ingredientes usados en la preparación de los bizcochos fueron (porcentajes en base harina): harina blanca 100% (ADM Milling Ltd., Reino Unido), yema 27% y clara 54% de huevo pasteurizada (Framptons Ltd., Reino Unido), azúcar blanco 100% (British Sugar plc., Reino Unido), leche desnatada UHT 50% (Tesco, Reino Unido), aceite de girasol 46% (Olympics Oils, Ltd., Reino Unido), ácido cítrico 3% (VWR International Ltd., Reino Unido), bicarbonato sódico 4% (Brunner Mond, Reino Unido) y sal 1.5%. Se elaboraron tres tipos de bizcochos con tres niveles de reemplazamiento de grasa: 0%, 50% y 70%. Se empleó Frutafit HD® (inulina nativa de alta dispersión, Sensus, Holanda) como sustituto de grasa. Con el fin de lograr la dispersión adecuada de inulina el ratio inulina-agua fue 1-2, siguiendo las especificaciones del fabricante. La lipasa comercial (TS-E 1367) fue suministrada por Danisco A/S (Dinamarca) y se adicionó a dos concentraciones: 0.003% y 0.006%.

Los bizcochos se elaboraron según el método de Guy y Sahi (2006), con ligeras modificaciones. Los ingredientes se pesaron y atemperaron a 20 °C. El huevo y la leche se colocaron en una mezcladora (Hobart Manufacturing Company Ltd., Reino Unido). La enzima en polvo se mezcló con la harina. Los ingredientes secos se tamizaron y adicionaron a la mezcladora. Finalmente, se incorporó el aceite. El mezclado se llevó a cabo a velocidad 1 (60 rpm) durante 30 s, después a velocidad 2 (124 rpm) durante 60 s y para finalizar a velocidad 3 (255 rpm) durante 180 s. Se pesaron 300 g de masa en un molde recubierto por papel (145 mm x

75 mm) y se horneó en un horno rotatorio (Frederick Bone & Co. Ltd., Reino Unido) durante 45 min a 180 °C. Tras el horneado, los bizcochos se dejaron atemperar, se envasaron en bolsas de polipropileno y se almacenaron a 20 °C y 65 % HR. Los bizcochos se analizaron los días 1, 7 y 14, tras su almacenamiento.

Textura

Se realizó un análisis de perfil de textura (TA-TXT. plus Texture Analyzer, Micro System, Reino Unido). Se analizaron tres bizcochos de cada formulación y cada formulación se preparó por duplicado. De la zona central de los bizcochos se cortaron rebanadas de 15 mm de grosor, para realizar el análisis en el centro de dos de ellas. El test se realizó a una velocidad de 5 mm s⁻¹, con una compresión del 25% de la altura inicial de la muestra. El valor del umbral de fuerza fue de 5 g. La compresión se realizó con un cilindro de aluminio de 50 mm de diámetro. Tras los dos ciclos de compresión se determinó el parámetro de dureza.

Humedad y actividad de agua

La humedad de la miga se determinó usando un horno (Bs oven 250 Suze Gallenkamp, Reino Unido) a 103 °C durante 12 h. La actividad de agua se determinó usando un equipo AquaLAB 4TE (Decagon Devices Inc., USA). Para ambos análisis se empleó miga de la parte central de tres bizcochos de una formulación, los análisis se realizaron por duplicado para cada formulación.

Análisis estadístico

Se realizó un diseño de experimentos multifactorial categórico de tres factores: el tiempo de almacenamiento, el porcentaje de reemplazamiento de grasa y el porcentaje de adición de lipasa. El análisis estadístico de los resultados obtenidos, se llevó a cabo mediante un análisis de la varianza (ANOVA). Se calcularon las diferencias mínimas significativas (LSD) con un nivel de significación $P < 0.05$. Para ello se empleó el software informático Statgraphics Plus 5.1. (Statistical graph Co., Rockville, MD, EE.UU).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se observaron interacciones significativas ($P < 0.05$) entre los tres factores para el parámetro dureza (Figura 1) y para el parámetro humedad (Figura 2). Para la actividad de agua, solamente se encontraron interacciones significativas ($P < 0.05$) entre los factores tiempo de

almacenamiento y porcentaje de sustitución de grasa (Figura 3A). Se muestra el gráfico de medias de actividad de agua para el factor porcentaje de lipasa añadida, ya que no se observaron interacciones significativas de este factor con el resto de factores (Figura 3B).

Durante el almacenamiento la dureza de los bizcochos aumentó significativamente ($P < 0.05$) (Figura 1A y B) y la humedad y actividad de agua disminuyeron significativamente ($P < 0.05$) (Figura 2A y B y Figura 3A). El endurecimiento de los bizcochos durante su almacenamiento se asocia a cambios en la firmeza y humedad de la miga. Estos cambios se ha demostrado que están relacionados con dos procesos que ocurren a nivel de la miga; el proceso intrínseco de endurecimiento de las paredes de los alveolos y la migración de la humedad desde las zonas centrales de la miga hacia las zonas menos húmedas de la corteza (Guy, 1983).

El reemplazamiento del 50% y 70% de grasa por inulina afectó de manera significativa a la evolución de las propiedades físicas de los bizcochos durante el almacenamiento. Los bizcochos con menor contenido en grasa presentaron valores de dureza significativamente mayores ($P < 0.05$) durante todo el almacenamiento y además fueron endureciéndose más rápidamente que el bizcocho control (Figura 1A). Este efecto pudo deberse a la menor presencia de componente graso en la matriz del alimento; el componente graso se distribuye alrededor de los ingredientes, formando una capa continua que lubrica la matriz. Cuando el nivel de grasa disminuye la migración de agua desde los ingredientes que se habían hidratado hacia la superficie puede producirse de manera más acusada. Por otra parte, el reemplazamiento de grasa por inulina conllevó la adición de componente acuoso extra lo que provocó que la humedad y actividad de agua de estos bizcochos fuera significativamente mayor ($P < 0.05$) durante todo el periodo de almacenamiento (Figura 2A y C y 3A).

La adición de lipasa mejoró el perfil de dureza de los bizcochos durante el almacenamiento. El día 1 el bizcocho control fue significativamente ($P < 0.05$) menos duro que el resto de bizcochos (Figura 1B). Sin embargo, a lo largo de los días 7 y 14 de almacenamiento los bizcochos con lipasa mostraron niveles de dureza significativamente menores ($P < 0.05$) (Figura 1B). Además, se observó una disminución muy acusada de la dureza de bizcochos con 70% de reemplazamiento de grasa y 0.006% de lipasa (Figura 1C). La enzima lipasa hidroliza triglicéridos dando lugar a mono- o diglicéridos, glicerol y ácidos grasos libres; al incrementar el nivel de monoglicéridos se forman complejos amilosa-lípido que juegan un papel muy importante en el proceso de endurecimiento de la miga (Stojceska y Ainsworth, 2008). Por otro

lado a medida que aumentó la adición de lipasa, aumentaron los valores de humedad y actividad de agua de los bizcochos (Figura 2B y Figura 3B). Por lo tanto los bizcochos con lipasa mostraron una miga más tierna durante el almacenamiento.

Hay que señalar que no se observó crecimiento microbiano hasta el día 14 de almacenamiento, momento en el que todas las formulaciones comenzaron a desarrollar moho en su superficie.

CONCLUSIÓN

Durante el almacenamiento, los bizcochos se endurecieron y perdieron humedad debido a la migración de agua del centro del bizcocho a la superficie. Los bizcochos con menor contenido en grasa presentaron valores de dureza mayores debido a que cuando el nivel de grasa disminuye la migración de agua desde los ingredientes que se habían hidratado hacia la superficie se produce de manera más acusada. Los bizcochos con lipasa mostraron menor dureza debido a la formación de complejos amilosa-lípido que retrasan el envejecimiento de la miga. Por otra parte, la adición de lipasa incrementó la humedad y actividad de agua de los bizcochos, mejorando así las características físicas de estos productos durante los 14 primeros días de almacenamiento.

REFERENCIAS

- Aesan. (2005). Estrategia NAOS
- Devereux, H.M., Jones, G.P., McCormack y L. y Hunter, W.C. 2003. Consumer acceptability of low fat foods containing inulin and oligofructose. *International Journal of Food Science and Technology*, 68(5): 1850-1854.
- Franck, A. 2002. Technological functionality of inulin and oligofructose. *British Journal of Nutrition*, 87(S2): S287-S291.
- Guy, R.C.E. (1983). Factors affecting the staling of Madeira slab cake. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 34(5), 447-491
- Guy, R.C.E. y Sahi, S. S. (2006). Application of a lipase in cake manufacture. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(11), 1679-1687.
- Moayedallaie, S., Mirzaei, M. y Paterson, J. (2010). Bread improvers: Comparison of a range of lipases with a traditional emulsifier. *Food Chemistry*, 122(3), 495-499.
- Niness, K.R. (1999). Breakfastfoods and the health benefits of inulin and oligofructose. *Cereal Foods World*, 44(2), 79-81
- Pateras, I.M.C. (1995). Calorie cutting and lite bakery products. *Baking Industry Europe*, 44-49.

Roberfroid, M.B. y Delzenne, N.M. (1998). Dietary fructans. *Annual Review of Nutrition*, 18(1), 117-143.

Stojceska V. y Ainsworth P. (2008). The effect of different enzymes on the quality of high-fibre enriched brewer's spent grain breads. *Food Chemistry*, 110(4), 856-872

Zahn, S., Pepke F. y Rohm, H. 2010. Effect of inulin as a fat replacer on texture and sensory properties of muffins. *International Journal of Food Science & Technology*, 45(12): 2531-2537.

FIGURAS

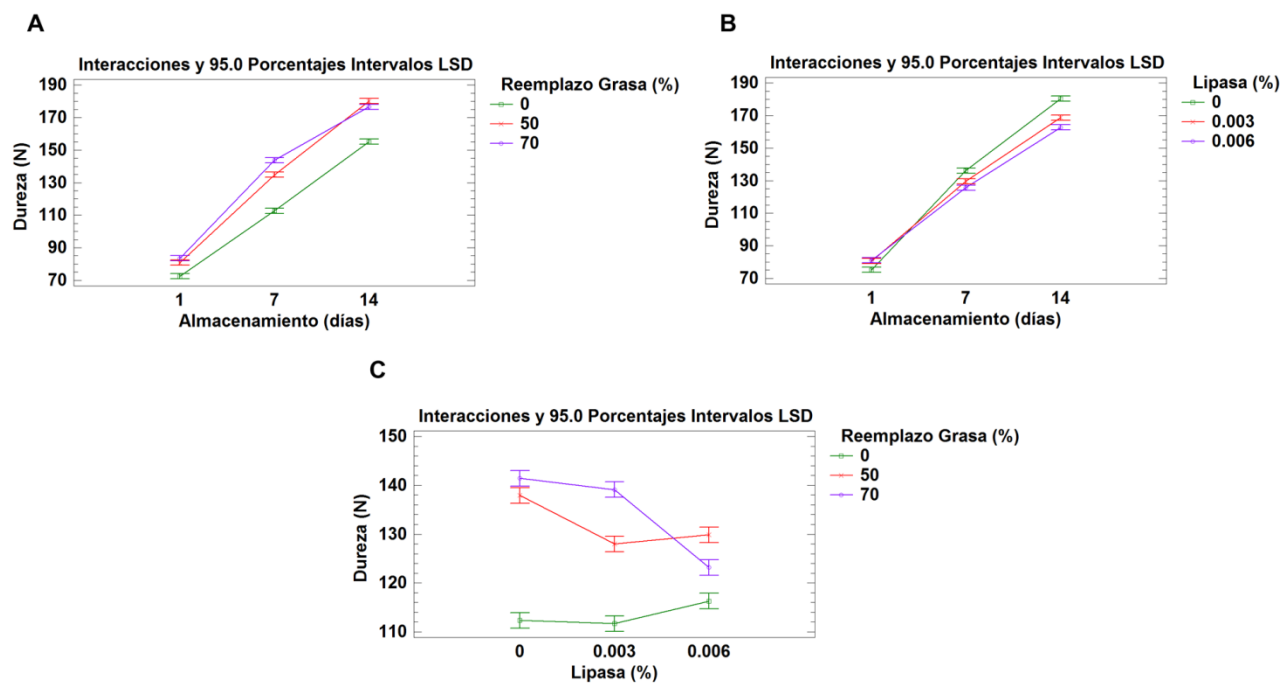


Figura 1. Gráficos de interacciones con intervalos LSD para el parámetro dureza. **A:** interacciones entre el tiempo de almacenamiento y el porcentaje de reemplazamiento de grasa para la dureza de los bizcochos, **B:** interacciones entre el tiempo de almacenamiento y el porcentaje de lipasa para la dureza de los bizcochos, **C:** interacciones entre el porcentaje de lipasa y el porcentaje de reemplazamiento de grasa para la dureza de los bizcochos.

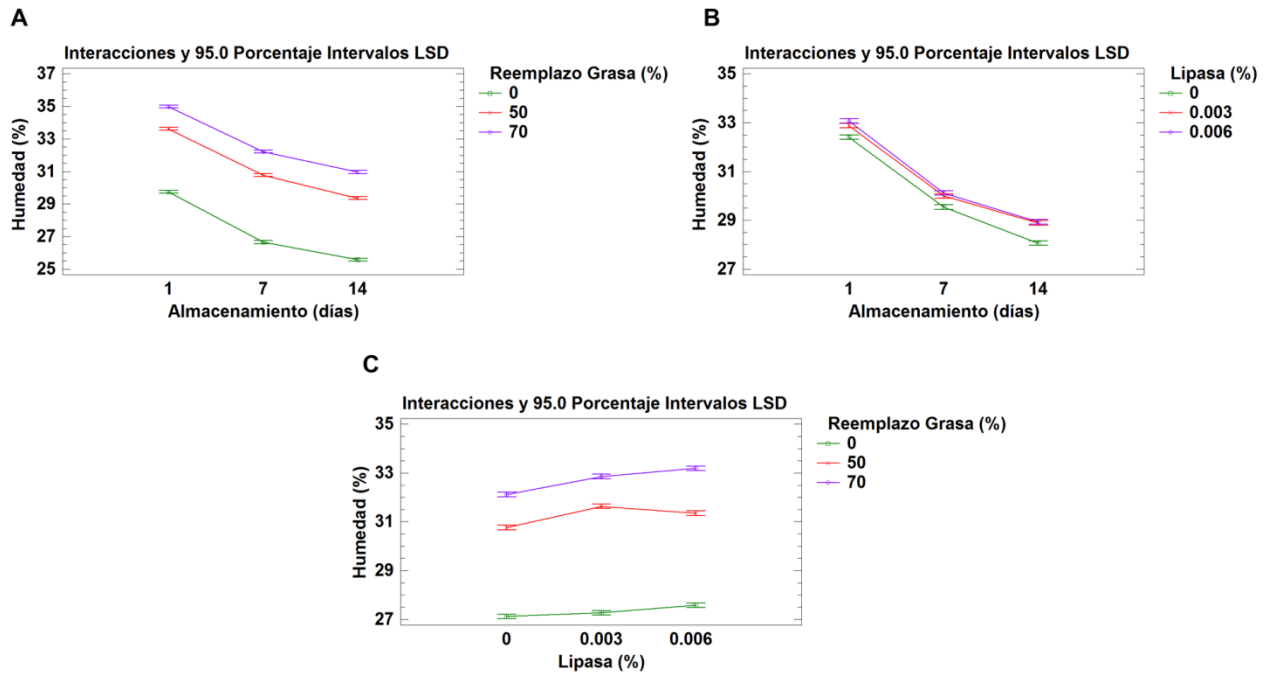


Figura 2. Gráficos de interacciones con intervalos LSD para el parámetro humedad. A: interacciones entre el tiempo de almacenamiento y el porcentaje de reemplazamiento de grasa para la humedad de los bizcochos, B: interacciones entre el tiempo de almacenamiento y el porcentaje de lipasa para la humedad de los bizcochos, C: interacciones entre el porcentaje de lipasa y el porcentaje de reemplazamiento de grasa para la humedad de los bizcochos.

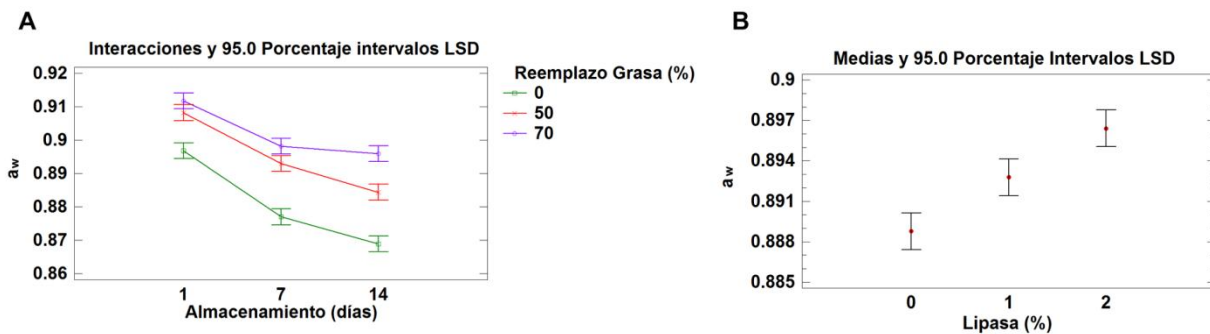


Figura 3. Gráficos de interacciones y medias con intervalos LSD para el parámetro actividad de agua (a_w). A: interacciones entre el tiempo de almacenamiento y el porcentaje de reemplazamiento de grasa para la actividad de los bizcochos, B: medias de los valores de actividad de agua en función del porcentaje de lipasa.

ESTUDIO REOLÓGICO DE NUEVOS ALIMENTOS LÁCTEOS RICOS EN CAROTENOIDES ELABORADOS CON CAQUI.

M. Hernández-Carrión¹, A. Tárrega², I. Hernando¹, S. M. Fiszman², A. Quiles¹

¹Grupo de Microestructura y Química de Alimentos. Departamento de Tecnología de Alimentos. Universitat Politècnica de València. Camino de Vera s/n, 46022 Valencia, España.

²Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA-CSIC). Avda. Agustín Escardino 7, 46980, Paterna, Valencia (España).

mihernan@tal.upv.es

INTRODUCCIÓN

El caqui es una fuente muy importante de compuestos bioactivos, como carotenoides y taninos (Jung *et al.*, 2005). Se vende normalmente en fresco, pero es una fruta estacional que no puede consumirse todo el año. Así, sería útil desarrollar procesos industriales que permitieran prolongar su vida útil e hicieran posible la producción de derivados de caqui como zumos, yogurts, etc. con el objetivo de obtener y poder disfrutar de productos de caqui con alto valor nutricional durante todo el año.

Hasta ahora, el procesado térmico de alimentos ha sido el método más utilizado debido a su capacidad para inactivar microorganismos y enzimas. Sin embargo, puede inducir cambios físicos y químicos que pueden afectar a las propiedades organolépticas y reducir el contenido de algunos compuestos bioactivos (Rawson *et al.*, 2010). El procesado por altas presiones hidrostáticas (APH) podría erigirse como alternativa ya que puede mejorar algunos atributos de calidad de los alimentos así como preservar su valor nutricional en comparación con otras tecnologías de conservación térmicas como la pasteurización (PA) (Rawson *et al.*, 2011).

El objetivo de este trabajo fue la caracterización reológica de nuevos alimentos lácteos ricos en carotenoides utilizando para ello, diferentes matrices lácteas y extractos de caqui sometidos a dos procesos diferentes, APH y PA.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales y preparación de las muestras

Los caquis (cv. Rojo Brillante) se cultivaron en Carlet (Valencia, España) en noviembre de 2012. Se consideró un índice de madurez IV para este estudio (Salvador *et al.*, 2007). Los

caquis no se trataron para eliminar la astringencia. Se obtuvieron cubos (15 mm de lado) de la zona ecuatorial y se envasaron a vacío en bolsas de plástico (110 x 220 mm) tipo Doypack. Cada bolsa contuvo 80 g de muestra. Una parte de las muestras no se sometió a tratamiento. Otra parte, se trató en una unidad de presión hidrostática (GEC Alsthom ACB 900 HP, tipo ACIP 665, Nantes, Francia) a 200 MPa, durante 6 min a 25 °C, en base a estudios previos (Plaza *et al.*, 2012). El resto de las bolsas se pasteurizó en un baño termostatado a 70 °C durante 15 min. Las muestras se liofilizaron para aumentar su vida útil (Lioalfa-6®, Telstar, Terrassa, España; 120 h/-45 °C/ $1.3 \cdot 10^{-3}$ mPa) y formular los nuevos alimentos lácteos con caqui.

Se elaboraron seis alimentos lácteos con caqui diferentes, variando el tipo de leche y el tratamiento del caqui. Se utilizaron dos tipos de leche: leche entera (3.6 % grasa) y leche desnatada (0.25 % grasa) de Central Lechera Asturiana (Siero, Asturias, España). Se emplearon tres tipos de caqui: no tratado liofilizado, tratado por APH liofilizado y pasteurizado liofilizado. La cantidad de caqui utilizada en la formulación de las muestras se estableció de manera que en 1 L de leche, la concentración de carotenoides fuera equivalente a la de un caqui fresco de 200 g de peso (0.743 mg β -caroteno/100 g peso fresco).

La concentración correspondiente de caqui no tratado (11.59 %, p/p), tratado por APH (5.28%, p/p) o pasteurizado (9.51%, p/p) se colocó en un robot de cocina (Thermomix TM31, Wuppertal, Germany) y se agitó durante 10 s a velocidades crecientes de 1100, 3250 y 10200 rpm con el objetivo de reducir el tamaño de partícula del caqui liofilizado. Se añadió la leche y se agitó siguiendo el mismo procedimiento. Las muestras se almacenaron a 4 °C hasta su posterior análisis. Las propiedades reológicas y la pérdida de estabilidad se determinaron en las 24 h posteriores a la elaboración de las muestras.

Propiedades reológicas

El comportamiento al flujo y las propiedades viscoelásticas de cada muestra se determinaron por duplicado. Las medidas se llevaron a cabo en un reómetro de esfuerzo controlado RS1 (Thermo Haake, Karlsruhe, Alemania) utilizando platos paralelos de 6 cm de diámetro y 1 mm de ranura y se monitorizaron mediante el software RheoWin Pro (versión 2.93, Thermo Haake). La temperatura de 10 °C para la realización de las medidas se mantuvo mediante un baño termostatado Phoenix P1 (Thermo Haake).

Comportamiento al flujo

El comportamiento al flujo se determinó registrando los valores del esfuerzo de cizallamiento al someter la muestra a velocidades de cizallamiento de 0 a 200 s⁻¹ durante 60 s y en la secuencia inversa para el mismo tiempo. Las áreas bajo la curva superior (A_{arriba}) y bajo la curva inferior (A_{abajo}), así como el área de histéresis (A_{tix}=A_{arriba}-A_{abajo}) se obtuvieron mediante el software RheoWin Pro. Los datos de la curva superior se ajustaron al modelo de Ostwald de Waele, $\sigma = K\dot{\gamma}^n$, donde K (Pa·sⁿ) es el índice de consistencia y n el índice de flujo, utilizando el software RheoWin Pro. También, se calculó la viscosidad aparente a 10 s⁻¹ y 100 s⁻¹ (η_{10} y η_{100} , respectivamente).

Propiedades viscoelásticas

Para determinar la región viscoelástica, se llevaron a cabo barridos de esfuerzo (0.01–100 Pa) a 1Hz. Posteriormente, se realizaron barridos de frecuencia (0.01-10 Hz) y el valor del módulo de almacenamiento (G') y módulo de pérdidas (G'') en función de la frecuencia se calcularon mediante el software RheoWin Pro.

Sedimentación

La pérdida de estabilidad (sedimentación) de las muestras se determinó colocando las muestras en tubos de 10 mL y dejándolas reposar hasta que la cantidad de sedimento se mantuvo constante. Este estado se alcanzó a los 90 min. El % de sedimentación se calculó como (volumen de sedimento/volumen total) x100.

Análisis estadístico

El efecto del tipo de leche (entera y desnatada) sobre los parámetros de flujo y los viscoelásticos a 1 Hz se analizó mediante un ANOVA simple para cada tipo de alimento lácteo (con caqui no tratado, tratado por APH y PA) haciendo uso del test de diferencias mínimas significativas, LSD (P < 0.05) del software informático Statgraphics Plus 5.1.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Propiedades reológicas

Comportamiento al flujo

La Figura 1 muestra las curvas de flujo de los diferentes alimentos lácteos con caqui analizados en el presente estudio. En todos los casos la adición de caqui supuso un aumento de viscosidad con respecto a la obtenida en las matrices lácteas sin caqui (datos no mostrados). Al utilizar *caqui no tratado* se obtuvieron alimentos lácteos semisólidos lo que podría deberse al proceso de gelificación de las pectinas del caqui en presencia de cationes divalentes (Ca^{+2}) procedentes de la leche (Tárrega *et al.*, 2012). Las curvas de flujo (Figura 1A) mostraron un comportamiento pseudoplástico y tixotrópico (Tabla 1). No se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas ($P > 0.05$) entre la leche entera y desnatada para todos los parámetros analizados, excepto en la viscosidad aparente a 100 s^{-1} (η_{100}) que disminuyó significativamente ($P < 0.05$) al utilizar leche desnatada.

Cuando se empleó *caqui tratado por APH* (Figura 1B), se obtuvieron sistemas líquidos que también mostraron comportamiento pseudoplástico y tixotrópico (Tabla 1) aunque en menor medida que en el caqui no tratado. En este caso, el proceso de gelificación no ocurrió o fue menos intenso. Al disminuir el contenido en grasa, todos los parámetros de flujo disminuyeron significativamente ($P < 0.05$), a excepción del índice de flujo (n) que al disminuir el contenido en grasa, aumentó significativamente ($P < 0.05$).

Cuando se empleó *caqui PA* (Figura 1C), se obtuvieron dispersiones no homogéneas de partículas de caqui en la matriz láctea. Dichas partículas de caqui sedimentaron tras el almacenamiento en refrigeración ($43 \pm 1.41\%$ para leche entera y $42 \pm 2.83\%$ para leche desnatada). Este comportamiento podría ser el responsable del menor valor del índice de consistencia (K) y viscosidad aparente obtenidos a 10 s^{-1} y 100 s^{-1} comparados con los obtenidos al utilizar caqui tratado por APH (Tabla 1). Estas muestras presentaron un comportamiento similar al Newtoniano con curvas de flujo más lineales, sin tixotropía (Figura 1C) y con valores de n cercanos a 1 (Tabla 1). No se observaron diferencias estadísticamente significativas ($P > 0.05$) entre la leche entera y desnatada para todos los parámetros de flujo analizados (Tabla 1). El heterogéneo producto final obtenido, con partículas sedimentadas, podría explicar que el tipo de leche no afecte al comportamiento reológico de las muestras.

Propiedades viscoelásticas

La Figura 2 muestra el comportamiento del módulo de almacenamiento (G') y módulo de pérdidas (G'') como función de la frecuencia. El espectro mecánico de los alimentos lácteos elaborados con *caqui no tratado*, presentaron una respuesta típica de geles débiles, con G' mayor a G'' (Figura 2A). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($P > 0.05$) entre los parámetros reológicos de las muestras elaboradas con leche entera y desnatada (Tabla 2).

El espectro mecánico de las muestras elaboradas con *caqui tratado por APH* (Figura 2B) también mostró un comportamiento tipo gel con G' mayor a G'' , pero los valores fueron mucho menores que los obtenidos con caqui no tratado lo que indica una estructura más débil y podría confirmar la menor capacidad de estas muestras para gelificar. En este caso, las muestras elaboradas con leche entera (Tabla 2) presentaron valores de G' y G'' significativamente mayores ($P < 0.05$). Debido a la heterogeneidad y baja viscosidad de las muestras elaboradas con *caqui PA*, no se pudo localizar la región viscoelástica lineal y no se pudieron determinar las propiedades viscoelásticas de estas muestras.

CONCLUSIONES

El procesado mediante liofilización podría utilizarse para prolongar la vida útil del caqui y para obtener extractos que podrían incorporarse en la formulación de nuevos alimentos lácteos. Los productos elaborados con extracto de caqui sometido a APH parecen presentar las mejores propiedades reológicas. El tratamiento del caqui por APH puede ser adecuado para obtener extractos para formular alimentos lácteos funcionales. No obstante, sería conveniente realizar una evaluación sensorial de estos alimentos con el objetivo de conocer la aceptabilidad por parte del consumidor.

REFERENCIAS

- Jung ST, Park YS, Zachwieja Z, et al. (2005) Some essential phytochemicals and the antioxidant potential in fresh and dried persimmon. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 56: 105-113.
- Plaza L, Colina C, De Ancos B, et al. (2012) Influence of ripening and astringency on carotenoid content of high-pressure treated persimmon fruit (*Diospyros kaki* L.). *Food Chemistry* 130: 591-597.

Rawson A, Koidis A, Rai DK, et al. (2010) Influence of Sous Vide and water immersion processing on polyacetylene content and instrumental color of parsnip (*Pastinaca sativa*) disks. *J Agric Food Chem* 58: 7740-7747.

Rawson A, Patras A, Tiwari BK, et al. (2011) Effect of thermal and non thermal processing technologies on the bioactive content of exotic fruits and their products: Review of recent advances. *Food Research International* 44: 1875-1887.

Salvador A, Arnal L, Besada C, et al. (2007) Physiological and structural changes during ripening and destringency treatment of persimmon fruit cv. 'Rojo Brillante'. *Postharvest Biology and Technology* 46: 181-188.

Tárrega A, Carmen Gurrea M, Navarro J, et al. (2012) Gelation of persimmon puree and its prevention by enzymatic treatment. *Food and Bioprocess Technology*: 1-7.

Tabla 1. Ajuste de Ostwald de Waele de los alimentos lácteos elaborados con caqui ($0.9253 < R^2 < 0.9957$).

	Tipo de leche	K (Pa·s ⁿ)	n	η_{10} (Pa·s)	η_{100} (Pa·s)	A_{thix} (Pa·s ⁻¹)
No tratado	Entera	28.275 ^a (8.719)	0.191 ^a (0.058)	43.134 ^a (7.703)	66.382 ^a (3.033)	3860.500 ^a (962.372)
No tratado	Desnatada	20.710 ^a (2.093)	0.125 ^a (0.013)	27.640 ^a (3.625)	36.907 ^b (5.946)	2597.000 ^a (576.999)
APH	Entera	1.258 ^a (0.177)	0.253 ^a (0.007)	2.251 ^a (0.280)	4.028 ^a (0.435)	148.850 ^a (2.333)
APH	Desnatada	0.225 ^b (0.011)	0.458 ^b (0.012)	0.646 ^b (0.049)	1.857 ^b (0.191)	34.055 ^b (21.970)
Pasteurizado	Entera	0.050 ^a (0.011)	0.813 ^a (0.023)	0.320 ^a (0.055)	2.070 ^a (0.245)	9.639 ^a (4.145)
Pasteurizado	Desnatada	0.065 ^a (0.032)	0.714 ^a (0.085)	0.325 ^a (0.099)	1.649 ^a (0.186)	17.620 ^a (7.750)

Todos los valores son media de dos medidas. Para cada alimento lácteo elaborado con caqui, letras diferentes en las columnas indican la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre las muestras.

Tabla 2. Módulo de almacenamiento (G') y módulo de pérdidas (G'') a 1 Hz de frecuencia de los alimentos lácteos elaborados con caqui.

	Tipo de leche	G'	G''
No tratado	Entera	138.300 ^a (31.961)	30.950 ^a (8.910)
No tratado	Desnatada	62.435 ^a (4.250)	14.220 ^a (0.325)
APH	Entera	23.230 ^a (1.428)	4.360 ^a (0.074)
APH	Desnatada	16.315 ^b (0.884)	2.766 ^b (0.346)

Todos los valores son media de dos medidas. Para cada alimento lácteo elaborado con caqui, letras diferentes en las columnas indican la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre las muestras.

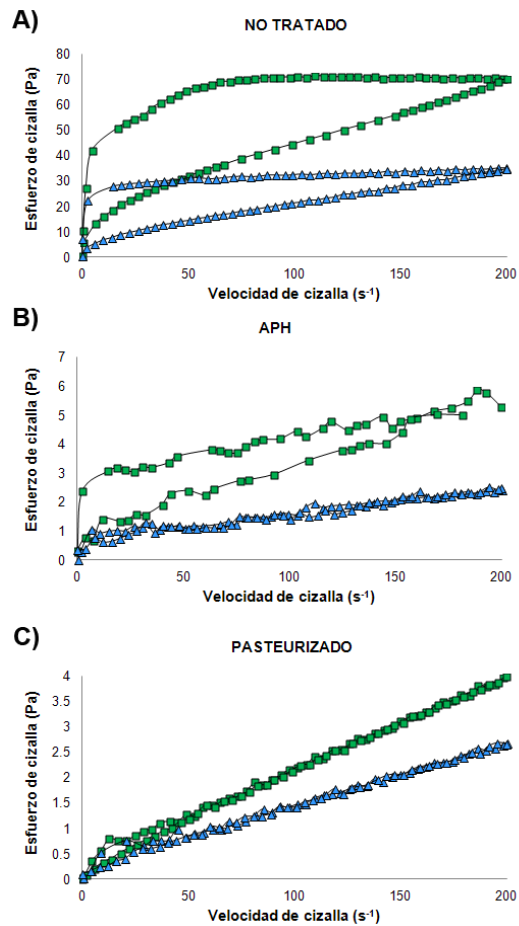


Figura 1. Comportamiento al flujo de los alimentos lácteos elaborados con caqui: A) no tratado, B) tratado por APH y C) pasteurizado. Leche entera (*cuadros*) y desnatada (*triángulos*).

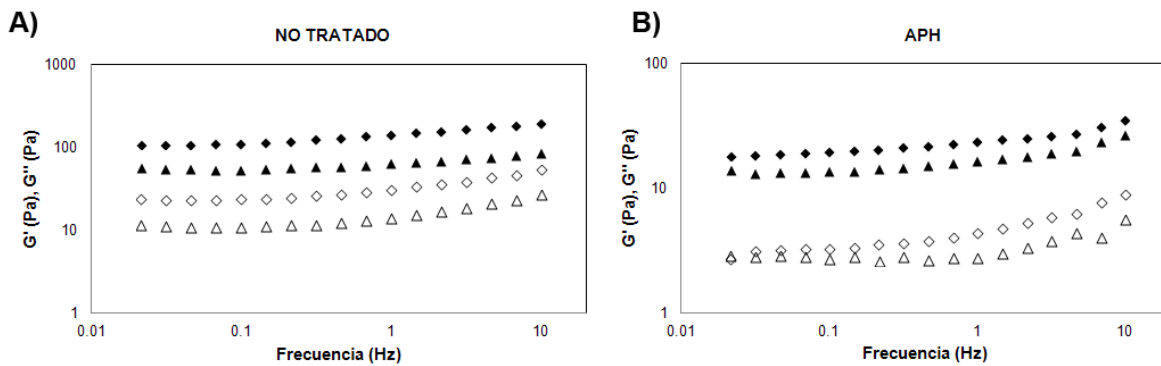


Figura 2. Propiedades viscoelásticas de los alimentos lácteos elaborados con caqui: A) no tratado, B) tratado por APH. G' (*símbolos negros*), G'' (*símbolos blancos*), leche entera (*rombos*), leche desnatada (*triángulos*).

CAMBIOS REOLÓGICOS EN BATIDOS ELABORADOS CON DIFERENTES HIDROCOLOIDES TRAS SU DIGESTION ORAL *IN VITRO*

P. Morell¹, I. Hernando¹, S.M. Fiszman²

¹Grupo de Microestructura y Química de Alimentos. Departamento de Tecnología de los Alimentos. Universitat Politècnica de València. Camino de Vera, s/n, 46022, Valencia (España).

²Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA-CSIC), Agustín Escardino 7, 46980, Paterna, Valencia (España).

mihernan@tal.upv.es

INTRODUCCIÓN

Uno de los puntos de mayor interés en el campo del control del apetito y el peso es el desarrollo de alimentos y bebidas que aporten saciedad. Existen ingredientes que de forma demostrada, proveen capacidad saciante. Las gomas son fibras dietéticas que desempeñan un papel decisivo en el desarrollo de alimentos con alta capacidad saciante. Un gran número de estudios han evaluado este efecto. La viscosidad que confieren las gomas a las disoluciones provoca sensación de saciedad debido a la menor eficacia enzimática en un medio viscoso, a la distensión gástrica prolongada y el consecuente retraso en el vaciado gástrico, que, a su vez, puede aumentar o prolongar las señales de saciedad en el estómago (Fiszman y Varela, 2013). En cuanto a los hidrocoloides que se pueden utilizar para conseguir una sensación de saciedad en la formulación de alimentos, hay básicamente dos tipos: los hidrocoloides neutros, como la goma de guar –utilizada en este trabajo–, que desarrolla viscosidad debido a su capacidad para formar un entramado molecular y los que poseen carga, como el λ -carragenato –también utilizado en el trabajo–, que puede desarrollar una viscosidad promovida por asociación con contraiones. Aunque el almidón no se considera habitualmente un ingrediente saciante, ya que no forma parte del grupo de fibra ni de las gomas alimentarias, desempeña un papel crucial en el desarrollo de la viscosidad en los alimentos y la viscosidad a su vez, puede estar relacionada con las expectativas y percepción de saciedad en el consumidor. Por otro lado, si el alimento sufre cambios en su comportamiento reológico durante su permanencia en boca, éstos podrían también relacionarse con las expectativas de saciedad que provocan.

El presente trabajo estudia el efecto de la incorporación de hidrocoloides a un modelo alimentario semilíquido, concretamente un batido lácteo. Se analiza cómo afectan los distintos

ingredientes a las propiedades reológicas, comportamiento al flujo y propiedades viscoelásticas, de cuatro batidos lácteos antes y después de una digestión oral *in vitro*. Los batidos están formulados con almidón de maíz nativo (4%), almidón de maíz modificado (4%), λ -carragenato (0,2%) y goma guar (0,6%).

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación de las muestras

Los batidos se formularon con leche desnatada en polvo (20 g) (Corporación Alimentaria Peñasanta S.A., Asturias, España); agua destilada (200 mL); aspartamo (0,035g) (EPSA, Torrente, Valencia, España); acesulfamo K (0,015 g) (EPSA, Torrente, Valencia, España); ácido carmínico (rojo cochinilla) (0,002 g) (Helm Iberica SA, Alcobendas, Madrid, España); y aromatizante de fresa (0,2 mL) (Firmenich, Barcelona, España).

Se elaboraron cuatro batidos, cada uno con un hidrocoloide diferente: almidón nativo de maíz (9,11 g) (C-Gel 03401, Cargill, Barcelona, España); almidón de maíz “waxy” modificado (9,16 g) (dialmidón fosfato hidroxipropilado, C-Polar Tex 06748, Cargill, Barcelona, España); goma guar (1,33 g) (Viscogum™ MP 41230, Cargill, Barcelona, España), λ -carragenato (0,43 g) (Secolacta BR, Hispanagar, Burgos, España). En estudios preliminares llevados a cabo en el laboratorio se seleccionaron las cantidades de cada uno de los hidrocoloides de modo que se obtuviera una viscosidad aparente similar para los cuatro batidos.

Se colocó la leche en polvo desnatada, el agua destilada y el polisacárido correspondiente en un robot de cocina (Thermomix TM 31, Wuppertal, Alemania). Los batidos formulados con almidón se calentaron hasta 70°C, durante 5 minutos a 1250 rpm. Los batidos formulados con goma guar y λ -carragenato se calentaron a 60°C, 8 minutos y 1250 rpm (Hoad et al. 2004). Una vez transcurrido este tiempo se dejaron enfriar a 30°C en la Thermomix y se añadieron los edulcorantes, el colorante y el aroma de fresa. Las muestras se almacenaron a una temperatura de $10 \pm 1^\circ\text{C}$ en vasos de precipitados de vidrio (250 mL) cubiertos con un film plástico.

Saliva

La saliva artificial se elaboró siguiendo la receta de Mishellany-Dutour et al. (2011) con modificaciones. Los ingredientes utilizados fueron bicarbonato sódico (5,208 g/L), fosfato de potasio dibásico trihidratado (1,369 g/L), cloruro sódico (0,877 g/L), cloruro potásico (0,477 g/L), cloruro cálcico dihidratado (0,441 g/L), mucina tipo II de estómago de cerdo (PGM)

(Sigma, M2378) (2,16 g/L), α -amilasa tipo VI-B de páncreas de cerdo (Sigma, A3176) (8,70 g/L (200.000 unidades)) y agua bidestilada grado HPLC. Para llevar a cabo la digestión oral *in vitro* se añadió saliva y muestra en proporción 1:4 (Sanz et al. 2006).

Propiedades reológicas

El comportamiento al flujo y las propiedades viscoelásticas se determinaron por triplicado para cada muestra antes y después de la digestión oral *in vitro*. Todas las medidas se llevaron a cabo tras atemperar la muestra 5 minutos a 10°C en un reómetro de esfuerzo controlado RS1 (Thermo Haake, Karlsruhe, Alemania) utilizando platos paralelos de 6 cm de diámetro y 1mm de ranura y se monitorizaron mediante el software RheoWin Pro (versión 2.93, Thermo Haake). Durante la realización de las medidas se mantuvo una temperatura de 10°C mediante un baño termostatado Phoenix P1 (Thermo Haake).

El comportamiento al flujo se determinó registrando los valores del esfuerzo de cizallamiento al someter la muestra a velocidades de cizallamiento de 0 a 200 s⁻¹ durante 60 s y en la secuencia inversa para el mismo tiempo. Se registraron las áreas bajo la curva de subida (A_{asc}) y bajo la curva de bajada (A_{desc}), así como el área de histéresis ($A_{lix}=A_{asc} - A_{desc}$), que se toma como un índice de la tixotropía, mediante el RheoWin Pro. Los datos de la curva ascendente se ajustaron al modelo Ostwald de Waele, $\sigma=K\dot{\gamma}^n$, donde K (Pa·sⁿ) es el índice de consistencia y n el índice de flujo. También, se calculó la viscosidad aparente a 10 s⁻¹ y 100 s⁻¹ (η_{10} y η_{100} , respectivamente).

Para la determinación de las propiedades viscoelásticas se halló la región viscoelástica lineal mediante barridos de esfuerzo (0,01-100 Pa) a 1 Hz. Posteriormente, se realizaron barridos de frecuencia (0,01-10 Hz) y se calcularon el valor del módulo de almacenamiento (G') y módulo de pérdidas (G'') en función de la frecuencia.

Análisis estadístico

El análisis estadístico de los resultados obtenidos, se llevó a cabo mediante un análisis de la varianza (ANOVA simple) donde se estudió el efecto del hidrocoloide empleado en la formulación sobre los parámetros reológicos estudiados. Se calcularon las diferencias mínimas significativas (LSD) con un nivel de significación $P < 0.05$. Para ello se empleó el software informático Statgraphics Plus 5.1. (Statistical graph Co., Rockville, MD, EE.UU.).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Comportamiento al flujo

La figura 1 muestra el comportamiento al flujo obtenido tras someter los cuatro sistemas a velocidades de cizallamiento de 0 a 200 s^{-1} durante 60 s y en la secuencia inversa para el mismo tiempo.

Como se observa en la figura 1A, antes de la digestión oral todas las muestras mostraron un comportamiento pseudoplástico ($n < 1$). El sistema con goma guar presentó la menor dependencia con el tiempo, seguido por el λ -carragenato y por el almidón nativo. El batido formulado con almidón modificado presentó un importante comportamiento antitixotrópico, y la mayor viscosidad. Se puede observar también la irregularidad al comienzo de la curva del λ -carragenato lo que ocasiona que no presente un buen ajuste al método de Ostwald de Waele.

Tras la digestión oral (figura 1B) los sistemas con mayor viscosidad fueron los formulados con goma guar y λ -carragenato seguidos por ambos almidones que perdieron nivel de pseudoplasticidad y gran parte de su viscosidad.

La tabla 1 muestra los resultados obtenidos para el índice de consistencia y el índice de flujo de los cuatro sistemas antes y después de la digestión oral. Hay que destacar que antes de la digestión, el batido formulado con λ -carragenato tuvo un índice de consistencia significativamente mayor ($P < 0.05$) al resto de batidos.

Tras la digestión, el batido que se formuló con almidón modificado mostró valores de n significativamente más altos ($P < 0.05$) que el resto. Esto sería debido al efecto de la digestión del almidón en contacto con la enzima α -amilasa de la saliva, además del efecto de la dilución provocada por la adición del agua, que forma parte de la saliva como componente mayoritario, a todos los sistemas. Esta pérdida de estructuración debida a la digestión en boca, deberán investigarse en relación con las expectativas de saciedad que desarrollen los distintos sistemas debidas a la exposición orosensorial de los distintos productos.

Propiedades viscoelásticas

La figura 2 muestra el módulo de almacenamiento (G') y el módulo de pérdidas (G'') de los batidos formulados con cuatro hidrocoloides distintos antes y después de la digestión oral *in vitro*.

Las propiedades viscoelásticas de las diferentes muestras a 1 Hz mostraron distintos comportamientos en función del hidrocoloide añadido. Los espectros mecánicos a partir de las

medidas oscilatorias indicaron que los almidones más allá del efecto ya comentado de la dilución que sufren todos los sistemas estudiados, pierden su comportamiento de gel después de la digestión oral *in vitro*.

La tabla 2 muestra los módulo de almacenamiento (G') y de pérdidas (G'') de los cuatro sistemas antes y después de la digestión oral a 1 Hz de frecuencia. Antes de la digestión, tan sólo el almidón modificado presentó valores más altos de G'' que de G' , demostrando un comportamiento más fluido. Tras la digestión, las muestras elaboradas con goma guar y λ -carragenato mostraron valores de módulo de almacenamiento (G') y de módulo de pérdidas (G'') mayores a las elaboradas con los almidones. Además tanto el almidón modificado como el λ -carragenato tuvieron valores superiores de G' que de G'' lo que demuestra un comportamiento de gel con predominio elástico, mientras que el almidón nativo y la goma guar mostraron valores superiores de G'' a G' lo que indica un comportamiento fluido. Será interesante estudiar la relación que esta desestructuración en boca provoca sobre las expectativas de saciedad de las bebidas formuladas con hidrocoloides.

CONCLUSIONES

Los hidrocoloides empleados para espesar bebidas lácteas pueden desempeñar un papel importante en las expectativas de saciedad que despiertan estos productos. A pesar de aportar viscosidades aparentes similares, su caracterización reológica en un intervalo más completo de velocidades de cizallamiento revela comportamientos muy diferentes dependiendo del tipo de hidrocoloide utilizado. Debido a que durante la digestión oral algunos de estos compuestos sufren cambios diferentes, dependiendo de su estructura y composición, resulta de gran interés comparar su comportamiento reológico antes y después de una exposición a la saliva de la boca como primer paso en el estudio de la capacidad saciante que puedan aportar a un alimento con alto contenido en proteínas como un batido lácteo.

REFERENCIAS

Fizman, S. y P. Varela (2013). "The role of gums in satiety/satiation. A review." *Food Hydrocolloids* 32(1): 147-154.

Hoad, C. L., P. Rayment, et al. (2004). "In Vivo Imaging of Intragastric Gelation and Its Effect on Satiety in Humans." *The Journal of Nutrition* 134(9): 2293-2300.

Mishellany-Dutour, A., M.-A. Peyron, et al. (2011). "Comparison of food boluses prepared in vivo and by the AM2 mastication simulator." *Food Quality and Preference* 22(4): 326-331.

Sanz, T. y H. Luyten (2006). "Effect of thickening agent in the in vitro mouth, stomach and intestine release of tyrosol from enriched custards." *Food Hydrocolloids* 20(5): 703-711.

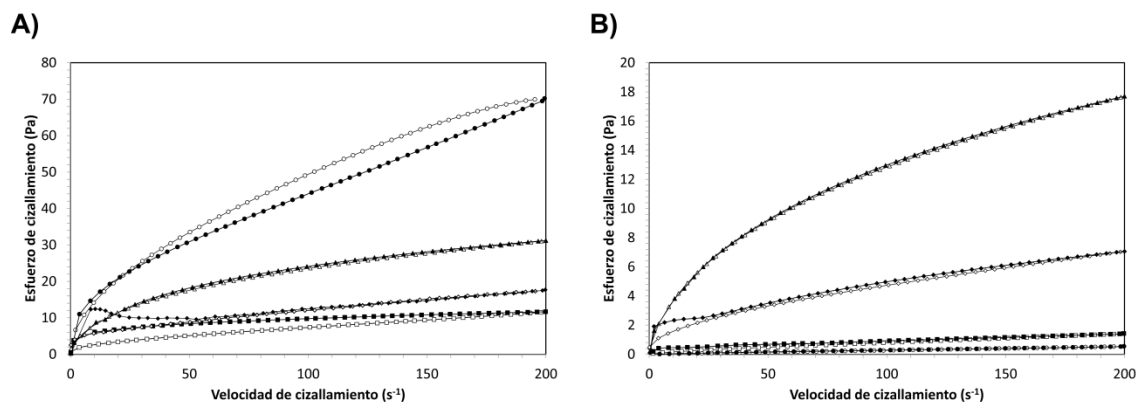


Figura 1. Comportamiento al flujo de los cuatro batidos. A) Antes de la digestión oral *in vitro* y B) después de la digestión oral *in vitro*. Velocidad de cizallamiento ascendente (símbolos llenos), velocidad de cizalla descendente (símbolos vacíos), almidón nativo (cuadrados), almidón modificado (círculos), goma guar (rombos), carragenato (triángulos).

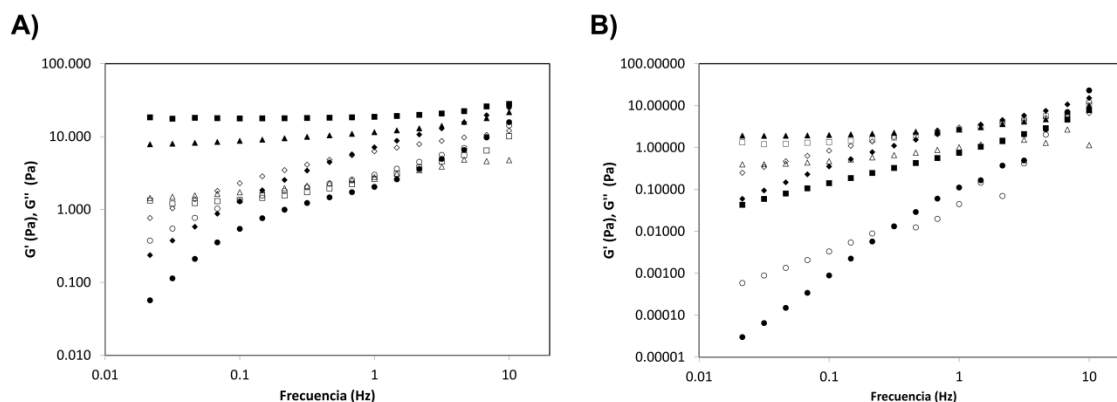


Figura 2. Propiedades viscoelásticas de los cuatro. A) Antes de la digestión oral *in vitro*, B) después de la digestión oral *in vitro*. G' (símbolos llenos), G'' (símbolos vacíos), almidón nativo (cuadrados), almidón modificado (círculos), goma guar (rombos), carragenato (triángulos).

Tabla 1. Índice de consistencia e índice de flujo de los cuatro sistemas formulados con los cuatro hidrocoloides antes y después de la digestión oral *in vitro*.

Hidrocoloide	Predigestión		Postdigestión	
	k	n	k	n
Almidón nativo	3,54 (0,19) ^a	0,21 (0,02) ^a	0,09 (0,05) ^a	0,54 (0,12) ^a
Almidón modificado	3,39 (0,10) ^a	0,56 (0,02) ^b	0,01 (0,01) ^b	0,81 (0,20) ^b
Goma guar	3,70 (0,19) ^a	0,40 (0,01) ^c	1,41 (0,06) ^c	0,48 (0,01) ^a
λ -carragenato	6,98 (1,68) ^b	0,15 (0,05) ^d	0,62 (0,01) ^d	0,46 (0,00) ^a

Todos los valores son media de tres medidas. Para cada alimento lácteo, letras diferentes en las columnas indican la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre las muestras.

Tabla 2. Módulo de almacenamiento (G') y módulo de pérdidas (G'') a 1 Hz de frecuencia de los cuatro sistemas antes y después de la digestión oral *in vitro*.

Hidrocoloide	Predigestión		Postdigestión	
	G'	G''	G'	G''
Almidón nativo	18,72 (0,57) ^a	2,61 (0,29) ^a	0,75 (0,06) ^a	0,78 (0,05) ^a
Almidón modificado	2,04 (0,02) ^b	2,99 (0,01) ^b	0,11 (0,03) ^b	0,04 (0,03) ^b
Goma guar	7,13 (0,19) ^c	6,29 (0,16) ^c	2,73 (0,24) ^c	3,00 (0,24) ^c
λ -carragenato	11,50 (0,79) ^d	2,78 (0,03) ^{ab}	2,74 (0,35) ^c	1,02 (0,13) ^a

Todos los valores son media de tres medidas. Para cada alimento lácteo, letras diferentes en las columnas indican la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre las muestras.

USO DE GRADIENTES DE PRESIÓN PARA ACORTAR EL TIEMPO DE HIDRATACIÓN DE FRIJOLES TEPARY (*Phaseolus acutifolius* A. Gray) Y PINTO (*Phaseolus vulgaris* L.)

E. Zanella Díaz, M.C. Soto-Caballero, I. Moreno-Murrieta, J. Welti-Chanes, H. Mújica-Paz, A. Valdez-Fragoso*

Escuela de Biotecnología y Alimentos, Tecnológico de Monterrey, Av. Eugenio Garza Sada 2501 Sur, Col. Tecnológico, Monterrey N.L. 64849 México. *a.valdez@itesm.mx

INTRODUCCIÓN

El remojo de los frijoles a temperatura ambiente es el método más común para reducir su tiempo de cocción, ya que permite que los granos absorban el agua necesaria para cocerse completa y homogéneamente en corto tiempo (Abu-Ghannam, et al., 1997). No obstante, el remojo es un proceso muy lento.

Por esta razón, se han estudiado diversos métodos para acelerar la velocidad de hidratación tanto del frijol como otras semillas y granos: remojo de frijol rojo (*Phaseolus vulgaris* L.), garbanzos (*Cicer arietinum*), lentejas (*Lens culinaris*) y soya (*Glycine max*) a altas temperaturas (Gowen, et al., 2007; Sayar, et al., 2001; Joshi, et al., 2010; Prasad, et al., 2010); pulimiento de la cubierta de frijol pinto previo al remojo (Kon, et al., 1973); tratamiento de hidratación mediante pulsos de vacío (50-80 mm Hg) y temperatura ambiente en habas (*Phaseolus lunatus*) (Sastry, et al., 1985). También se ha reportado la hidratación de frijol y garbanzo por medio de altas presiones (275-690 MPa) (Ibarz, et al., 2004; Sangronis, et al., 2002) y de presurización cíclica en frijoles cannellini (*Phaseolus vulgaris*) (Naviglio, et al., 2013); así como el uso de ultrasonido en diferentes variedades de frijol (Enriquez, et al., 2013; Ghafoor, et al., 2014). De todos estos tratamientos el que ha logrado mayores velocidades de hidratación es el aumento de temperatura, con el inconveniente de que puede causar pérdida de nutrientes y requiere cantidades adicionales de energía (Abu-Ghannam, et al., 1997; Naviglio et al., 2013).

Por ende, el objetivo de este estudio fue acortar el tiempo de hidratación de los frijoles Tepary y Pinto aplicando gradientes de presión a temperatura ambiente.

MATERIALES Y MÉTODOS

Procedimiento de remojo

Un lote de 10 kg de frijol Tepary se obtuvo del campo experimental del Tec de Monterrey, mientras que otro lote de 10 kg de frijol Pinto se adquirió en un supermercado local. Se removieron impurezas y frijoles dañados. Las muestras de frijol Tepary y Pinto (~20 g) se remojaron en agua destilada a temperatura ambiente (24 ± 2 °C) en una relación de frijol a agua de 1:5. Todos los experimentos se realizaron por triplicado. Cada variedad de frijol se hidrató a bajos gradientes de presión (BGP) y altos gradientes de presión (AGP) de 20-50 cm Hg y 94-124 cm Hg, respectivamente. Estos gradientes se generaron aplicando una presión de hidratación ($p_h=1$ atm para BGP o 1.65 atm para AGP, por $t_h=0.25-3$ h) inmediatamente después de aplicar un pulso de vacío ($p_v=20-50$ cm Hg por $t_v=3$ min). Los frijoles hidratados se removieron del agua de remojo, se secaron con papel y se pesaron para calcular la cantidad de agua absorbida (Figura 1).

A manera de comparación, se realizó un tratamiento de remojo por simple inmersión de frijol Tepary y Pinto en agua destilada a presión atmosférica y temperatura ambiente (24 ± 2 °C).

El porcentaje de hidratación de la muestra se calculó en base al incremento en peso de la muestra (Marques, et al., 2010):

$$H(\%) = \frac{W_f - W_i}{W_i} \times 100 \quad (1)$$

Donde H- hidratación (%), W_i - peso inicial de la muestra (g), W_f - peso final de la muestra (g).

Diseño experimental

Los sistemas de remojo se sometieron a un diseño experimental central compuesto (Montgomery, 2001), dado por los gradientes de presión y tiempos de procesamiento (Tabla 1).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cinética de hidratación mediante simple inmersión

En la Figura 2 se pueden observar las curvas de hidratación de frijoles Tepary y Pinto obtenidas mediante simple inmersión en agua a condiciones atmosféricas. Estas curvas muestran que el valor más alto de absorción de agua se alcanzó después de 800 min de remojo, y fue de

105 y 98 (%) para frijoles Tepary y Pinto, respectivamente, que corresponde al contenido de humedad de equilibrio. Estos datos de hidratación se describieron adecuadamente con ecuaciones de primer orden para Tepary (Ecuación 2) y Pinto (Ecuación 3):

$$\ln \frac{H_e - H_o}{(H_e - H_t)} = 0.0057t_h \quad (R^2 = 0.997) \quad (2)$$

$$\ln \frac{H_e - H_o}{(H_e - H_t)} = 0.0063t_h - 0.18 \quad (R^2 = 0.983) \quad (3)$$

Donde H_o - contenido de humedad inicial (kg agua/kg bs), H_t - contenido de humedad a cualquier tiempo (kg agua/kg bs), H_e - contenido de humedad en el equilibrio (kg agua/kg bs).

Las constantes de hidratación obtenidas indican que la hidratación de frijol Pinto es ligeramente más rápida (9.5%) que la de Tepary.

Cinética de hidratación mediante gradientes de presión

Se llevó a cabo un análisis de regresión no lineal (Design Expert) para ajustar los modelos matemáticos a los datos experimentales de remojo. En la Tabla 2 se muestran los modelos obtenidos ($p < 0.001$) con una falta de ajuste no significativa, el análisis de varianza (ANOVA), y las R^2 ajustadas para frijol Tepary (0.975) y Pinto (0.973).

Por otra parte, en la Figura 3 y Figura 4 se muestran las gráficas de superficie que describen la hidratación (%) con respecto al tiempo de hidratación (t_h) y la presión de vacío (p_v) para Tepary y Pinto, logrando hasta un 90 y 82% de hidratación después de 3 horas de procesamiento, respectivamente. Estos resultados son similares a los reportados en otros trabajos, en los que después del remojo se llegó a un peso final de hasta dos veces el peso inicial (Naviglio, et al., 2013). Mientras que en 3 horas se alcanzó un 90-95% de hidratación de garbanzo y 82% en frijol rojo tratados a altas presiones y a 60°C, respectivamente (Ibarz, et al., 2004; Abu-Ghannam, et al., 1997).

CONCLUSIONES

La presión de vacío, la presión de hidratación y el tiempo de hidratación mostraron un efecto directo en las velocidades de hidratación. Comparado con la simple inmersión, la aplicación de gradientes de presión reduce considerablemente los tiempos de hidratación. Los

resultados mostrados pueden ser de gran interés en industrias de procesamiento de leguminosas, semillas y granos haciendo el proceso de remojo más eficiente y menores costos de operación.

BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Abu-Ghannam N. & McKenna B. “Hydration kinetics of red kidney beans”. *Journal of Food Science*, 62, 3, p. 520-523, 1997.
- 2.- Gowen A., Abu-Ghannam N., Frias J. & Oliveira J. “Influence of pre-blanching on the water absorption kinetics of soybeans”. *Journal of Food Engineering*, 78, p. 965-971, 2007.
- 3.- Sayar S., Turhan M. & Gunasekaran, S. “Analysis of chickpea soaking by simultaneous water transfer and water-starch reaction”. *Journal of Food Engineering*, 50, p. 91-98, 2001.
- 4.- Joshi M., Adhikari B., Panozzo, J. & Aldred, P. “Water uptake and its impact on the texture of lentils (*Lens culinaris*)”. *Journal of Food Engineering*, 100, p. 61-69, 2010.
- 5.- Prasad K., Vairagar P. & Bera M. “Temperature dependent hydration kinetics of *Cicer arietinum* splits”. *Food Research International*, 43,2, p. 483-488, 2010.
- 6.- Kon S., Brown A., Ohanneson, J. & Booth, A. “Split peeled beans: preparation and some properties”. *Journal of Food Science*, 38, p. 496-498, 1973.
- 7.- Sastry S., McCafferty F., Murakami E. & Kuhn G. “Effects of vacuum hydration on the incidence of splits in canned kidney beans (*Phaseolus vulgaris*)”. *Journal of Food Science*, 50, 5, p. 1501-1502, 1985.
- 8.- Ibarz A., González C. & Barbosa-Cánovas G. “Kinetic models for water adsorption and cooking time in chickpea soaked and treated by high pressure”. *Journal of Food Engineering*, 63, p. 467-472, 2004.
- 9.- Sangronis E., Ibarz A., Barbosa-Cánovas G. & Swanson, B. “Efecto de la alta presión hidrostática (APH) en la imbibición de agua, tiempos de cocción y microestructura del *Phaseolus vulgaris*”. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 52, 3, 2002.
- 10.- Naviglio D., Formato A., Pucillo G. & Gallo M. “A cyclically pressurised soaking process for the hydration and aromatisation of cannellini beans”. *Journal of Food Engineering*, 116, p. 765-774, 2013.
- 11.- Enriquez, K., Contreras, Y., Rosas, P., Ramírez, J. and Ulloa, B. “Effect of ultrasound on the hydration and cooking times of six varieties of bean (*Phaseolus vulgaris*) consumed in Mexico”. IFT Meeting.
- 12.- Ghafoor M., Misra N., Mahadevan K. & Tiwari B. “Ultrasound assisted hydration of navy beans (*Phaseolus vulgaris*)”. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21, 1, p. 409-414, 2014.
- 13.- Marques M., Jaeger L., Regini M., Viana J., Hohn A. & Gomes E. “Water absorption, hard shell and cooking time of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.)”. *African Journal of Food Science and Technology*, 1,1, p. 013-020, 2010.
- 14.- Montgomery D.C. Design and analysis of experiments. 5th ed. New York. John Wiley & Sons. 170–210, 2001.

ANEXOS

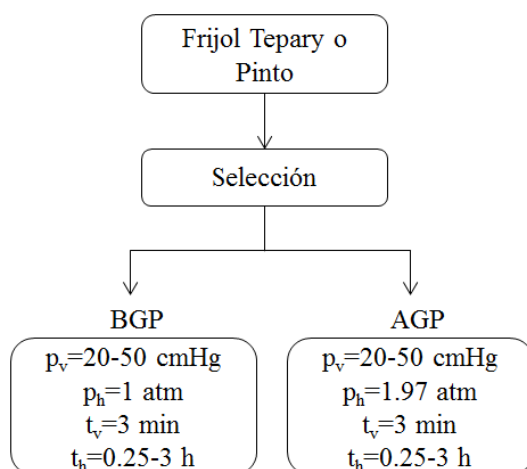
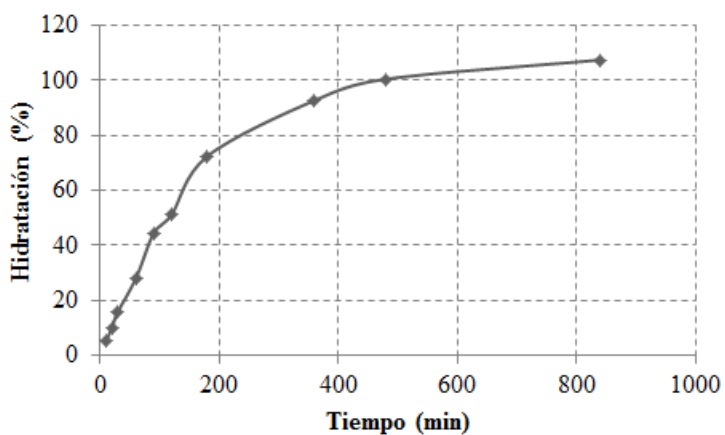
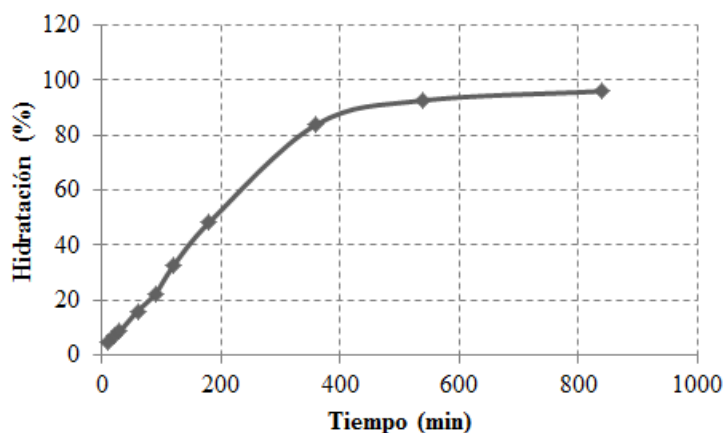


Figura 1. Procedimiento de hidratación de frijol Tepary o Pinto mediante gradientes de presión.



a)



b)

Figura 2. Cinética de hidratación de frijol a) Tepary y b) Pinto por simple inmersión en agua destilada a presión y temperatura atmosféricas.

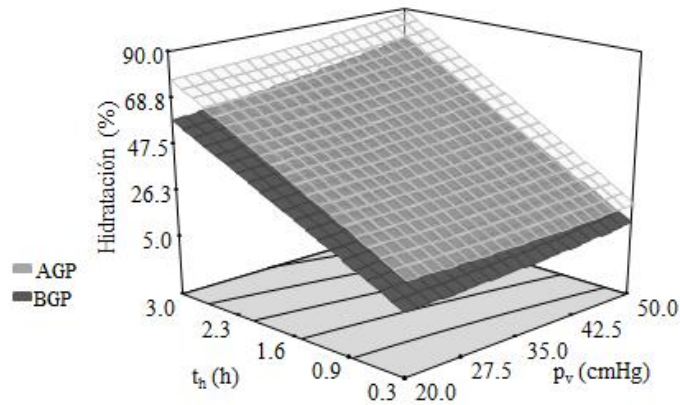


Figura 3. Hidratación (%) de frijol Tepary en bajos gradientes de presión (BGP=20-50 cm Hg) y altos gradientes de presión (AGP=94-124 cm Hg).

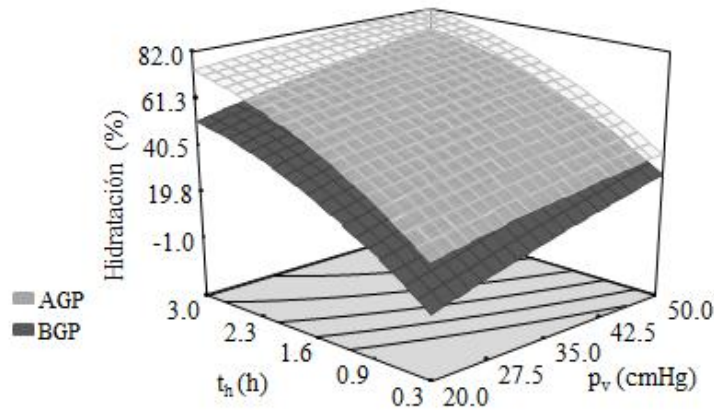


Figura 4. Hidratación (%) de frijol Pinto en bajos gradientes de presión (BGP=20-50 cm Hg) y altos gradientes de presión (AGP=94-124 cm Hg).

Tabla 1. Variables y niveles del diseño experimental central compuesto para la hidratación de frijoles Tepary y Pinto

Variables	Niveles				
t_v (min)	3				
t_h (h)	0.05	0.65	1.52	2.40	3.00
p_v (cm Hg)	15.00	25.13	40.00	54.87	65

t_v - tiempo de aplicación de vacío; t_h - tiempo de hidratación; p_v - presión de vacío

Tabla 2. Modelos obtenidos para describir la hidratación de frijoles Tepary y Pinto mediante gradientes de presión, en términos de valores codificados.

H (%)		
Variable de impregnación	Tepary	Pinto
Intercepto	43.925	54.689
p_v	3.023	6.259
t_h	21.461	17.067
p_h	6.721	8.000
$p_v * t_h$	1.344	-0.981
$p_v * p_h$	-0.878	-2.191
$t_h * p_h$	0.757	-0.004
p_v^2	0.553	-0.613
t_h^2	-0.166	-3.832
ANOVA		
Modelos	Significativo ($p < 0.001$)	Significativo ($p < 0.001$)
Falta de ajuste	No significativa Valor F=1.231 Valor p=0.389	No significativa Valor F=0.680 Valor p=0.711
Adj R ²	0.975	0.973
t_v - tiempo de aplicación de vacío; t_h - tiempo de hidratación; p_v - presión de vacío; p_h -presión de hidratación. Los coeficientes marcados en negrita son significativos ($p < 0.05$).		

ANÁLISIS FACTORIAL MULTIPLE Y MODELAMIENTO PLS PATH EN LA CARACTERIZACIÓN DE MIELES VENEZOLANAS DE LARA Y YARACUY

^{1,2}**Nelson Rodríguez Arias**; ¹**Mónica Patricia Osorio Tangarife** ¹**Guillermo Salamanca Grosso**.

¹Grupo de Investigaciones Mellitopalínológicas y Propiedades Físicoquímicas de Alimentos. ²Departamento de Matemáticas y Estadística. Facultad de Ciencias. Universidad del Tolima. A 546 Ibagué-Tolima-Colombia
Email: nrodriguezarias@gmail.com

RESUMEN

En la transformación de néctar a miel la calidad del producto final esta en función de su origen botánico y geográfico, las abejas colectan el néctar de las flores lo combinan con sustancias específicas, transforman y almacenan en panales. En éste contexto la variabilidad es amplia inclusive para mieles de la misma región. En éste trabajo se evaluaron 30 muestras de miel de zonas apícolas de los estados Lara y Yaracuy (Venezuela). En el proceso de caracterización se aplicaron los protocolos establecidos por la comisión internacional de la miel (IHC), para pH, acidez total, sólidos solubles (X_s), humedad (X_h), cenizas (X_c); conductividad eléctrica (CE), densidad (d); índice de refracción (I_r); actividad de agua (a_w); glucosa (G) e hidroximetil furfural (HMF). Se implemento un panel sensorial con 7 jueces entrenados, para valorar los atributos de aroma, cristalización, fluidez y sabor. Con los resultados se realizó un estudio estadístico clásico, complementado con técnicas de análisis basadas en mínimos cuadrados parciales

Palabras clave: Alimentos. Miel. Análisis multivariado. Propiedades fisicoquímicas. Valoraciones sensoriales.

INTRODUCCIÓN

La demanda de miel entre los consumidores a nivel mundial ha crecido de manera significativa, haciéndose necesaria una verificación de su autenticidad, con el objetivo de satisfacer los requerimientos de los consumidores, que demandan productos orgánicos, sanos y diferenciados, elaborados bajo rigurosos estándares de calidad y bajo la certificación de organizaciones y autoridades responsables de la vigilancia y control (Urueña, et al, 2007). La

Organización Mundial para la Alimentación, ha definido a la miel como una sustancia dulce elaborada por las abejas y sus diferentes subespecies, a partir del néctar de las flores y de otras secreciones extraflorales, que las abejas liban, transportan, deshidratan, concentran y almacenan en los panales, (Bogdanov & Lulmann, 1998).

Debido a que la miel hereda las propiedades de las plantas, su color, aroma, sabor y propiedades fisicoquímicas, éstas dependen de las flores utilizadas por las abejas, aunque las condiciones climáticas también influyen en la composición y sus propiedades. El origen botánico y geográfico de la miel sigue siendo difícil de determinar, por ello se hace cada vez más necesario estandarizar protocolos de análisis que contribuyan a la verificación de la calidad de éste importante producto de la colmena, determinar su origen floral y reducir el mercado de mieles fraudulentas y suplantadas. Además su calidad depende de diversos factores, entre los que se debe considerar no solo la flora sino su propia composición. El interés en el análisis de la miel se ha incrementado con el objetivo de satisfacer las regulaciones solicitadas por las diferentes autoridades (), particularmente en la miel de origen monofloral, (Moguel, et al, 2005). El origen botánico de la miel, que influye en gran medida las preferencias del consumidor, sigue siendo difícil de determinar. Por lo tanto, especial hincapié se ha puesto en la necesidad de desarrollar metodologías de análisis adecuados para determinar el origen floral de la miel con el fin de prevenir el fraude y para autenticar (Bogdanov, et al, 2002).

La evaluación sensorial de los alimentos es una disciplina integrada que permite establecer la calidad de los productos sobre la base de sus atributos. El análisis sensorial se refiere a la medición y cuantificación de las características de los productos alimenticios evaluables por los sentidos (Álvarez & Salamanca, 2007). La correlación de las propiedades fisicoquímicas de los alimentos y los resultados de las evaluaciones sensoriales realizadas en paneles de valoración sensorial, por si mismas constituyen un reto al análisis estadístico. El problema puede ser abordado siguiendo dos criterios mediante análisis externo e interno (Swanson & Lewis, 1992; Galán, et al, 2005).

Actualmente es posible generar matrices de composición tomando como referencia el origen, la naturaleza del producto y su atributos sensoriales, posibilitando la generación de bases de datos que permitan realizar clasificaciones, mediante análisis exploratorios y técnicas de clasificación, si embargo el advenimiento de nuevas técnicas de análisis estadístico, han hecho posible el desarrollo de técnicas robustas. El uso de técnicas de Análisis Factorial Múltiple

(AFM), ha incursionado de manera importante combina el análisis de componentes principales (CP) y el análisis de correlación canónico. Los métodos tradicionales por (CP), Análisis Factorial de Correspondencias, (AFC) y Análisis de Correspondencias Múltiples, (ACM), sólo permiten estudiar las relaciones entre las variables de la misma naturaleza, todas cuantitativas o todas cualitativas, lo que restringe su utilización. En ocasiones, es posible recoger gran cantidad de información que es interesante relacionar, aunque mida aspectos heterogéneos. Esta información puede ser estructurada en diferentes grupos y su análisis mediante (AFM), proporciona una visión más rica del fenómeno a estudiar. AFM se basa en la metodología de Análisis de Componentes Principales y actúa en dos etapas, (Liu, 2011; Álvarez & Salamanca, 2007; Ambroisine et al. 2005; Tenhenaus & Esposito 2005).

En la construcción de modelos PLS, se acude al uso de la matriz de datos \mathbf{X} , que contienen las muestras (n) y las características descriptoras (p), del orden ($n \times p$), encontrándose problemas de multicolinealidad y alta dimensionalidad de las variables predictoras. La metodología PLS combina características del análisis de componentes principales (ACP) y análisis de regresión múltiple (ARM; Figura 1); en PLS, a diferencia del ACP, se requiere de los datos de entrada de la matriz de predictoras (\mathbf{X}) y la matriz de respuestas (\mathbf{Y}), de orden ($n \times p$), (Álvarez & Salamanca, 2007; Ambroisine et al. 2005; Tenhenaus & Esposito 2005; Guinot, et. al, 2001).

Figura 1. Relación estructural de grupos de componentes e individuos necesarios para el análisis factorial múltiple (AFM).

Aquí \mathbf{X} es la matriz de datos, \mathbf{I} el set de datos individuales, \mathbf{K} es el set de variables (incluyendo todos los grupos) o el set de índices de las variables considerados, \mathbf{J} es el grupo de variables, \mathbf{K}_j es el set de variables en el grupo j o el set de índice de variables en el grupo j , \mathbf{X}_j la subtabla asociada con el grupo j , (Pagès & Tenenhaus, 2001). En éste trabajo se ha planteado el estudio de algunas de las propiedades fisicoquímicas y atributos sensoriales de mieles tropicales beneficiadas en las zonas de producción de los estados de Lara y Yaracuy (Venezuela) y la aproximación a las valoraciones mediante análisis de componentes principales y el análisis de correlación canónico y el modelamiento a través de regresiones PLS-PATH.

MATERIALES Y MÉTODOS

La zona de estudio: Se realizaron desplazamiento a las principales zonas de producción, de los Estados Lara y Yaracuy. En éstas zonas se aprecian las zonas de vida bosque seco y muy seco tropical (*bs-T*; *bms-T*) y el bosque seco y muy seco premontano, (*bs-PM*; *bms-PM*) y que alterna con bosque húmedo premontano (*bh-PM*).

Muestras: Se colectaron 30 muestras de miel de 9 localidades de los estados de Lara (13 muestras) y Yaracuy (17), en Crespo, Simón Plana, Palavecino, Jiménez, Moran, Andrés Eloy Blancos, Iribarren al oeste de Barquisimeto, Peña y Urachiche.

Parámetros fisicoquímicos: Caracterizaciones: En la valoración de la miel se aplicaron los métodos armonizados de análisis de mieles para los parámetros de humedad (X_w , g/100g); azúcares totales (X_T) y reductores (X_R fructosa, glucosa y sacarosa) g/100g, acidez me/Kg, total (AT,) láctica (AL) y libre (AL); Glucosa (g/100 g) y la relación glucosa/Humedad (G/H); Color (CIELab y Pfund); actividad de agua (a_w) Conductividad eléctrica (CE, mS/cm); Índice de diastasas (ID) y estudio palinológico de verificación del origen floral. Las muestras evaluadas se clasificaron según su apariencia, como mieles cristalizadas y líquidas.

Valoraciones sensoriales: En la caracterización de los atributos de aroma, color, cristalización, fluidez y sabor, participaron 7 jueces semientrenados, quienes categorizaron las muestras en panel sensorial, haciendo uso de escala hedónica de clasificación de 0 a 9, con valores de 0 a 2 para atributos deficientes, 3 a 6 aceptables y 7 a 9 apropiados. Se aplicaron criterios del análisis cuantitativo descriptivo (QDA).

Correlaciones canónicas y PLS: Con la información generada en el estudio de las propiedades fisicoquímicas y sensoriales, se realizó un estudio de las relaciones sensoriales y los parámetros fisicoquímicos, mediante técnicas de PLS, procurando la generación de una metodología que permita cuantificar las relaciones de las caracterizaciones. Se usaron los paquetes estadísticos XLSTATTM, InfostatTM y Minitab 16TM.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Propiedades fisicoquímicas: En la caracterización de las mieles de las zonas de Lara (L) y Yaracuy (Y) se observaron diferencias significativas entre los parámetros fisicoquímicos, sensoriales y los atributos de calidad. El análisis polínico en particular no revela composición

monofloral, las muestras contienen polen aislado y acompañante que indica que el origen botánico de las mieles como de mil flores. La fracción de azúcares en las mieles de (L) oscilaron entre 77.8 a 81.0 y en (Y) 78.8 a 83.5; el 13% de las muestras presentan una fuerte tendencia a la cristalización natural, la relación G/H en éste tipo de muestras es de 1.762 (Sanare), que es similar en el caso de las muestras de (Cubiro) y con 1.82 las muestras de Guárico y La Lucia, en el estado Lara. En el caso de Yaracuy igualmente 13.3% de las muestras exhibe tendencia a la cristalización, con 1.792 en la relación (G/H), en muestras de Guaremal y Cambural; 1.862 en mieles del sector de las Piedras y los tres Reyes, la sobresaturación de azúcares reductores, facilitan el proceso de cristalización. Estas empiezan su proceso de cristalización en etapa de almacenamiento, por periodos prolongados. En la clasificaron por apariencia, 26.6% de las muestras correspondieron a la categoría mieles cristalizadas y el 73.4 como líquidas. Las muestras exhiben longitudes de onda entre 573 (Sarare) a 605 nm (Los Higuitos), la pureza de color es de 79 y 88 en el caso de Lara y entre 575 a 586 nm en Yaracuy, la pureza de color es de 79 (Las Piedras) y 82 (Camazal). El pH y los parámetros de acidez, conductividad y las evaluaciones sensoriales tipo de las mieles de ese entorno biogeográfico se relacionan en la tabla 1.

Tabla 1. Parámetros fisicoquímicos sensoriales y hedónicos tipo de mieles venezolanas (Lara y Yaracuy)

La valoración de las muestras en términos de componentes principales (CP) para los parámetros fisicoquímicos, la evaluación de atributos de las mieles y la ponderación de los jueces (tabla 2), revelan una dimensionalidad diferente para cada uno de los grupos.

Tabla 2. Valores propios asociados al análisis de componentes principales

El análisis CP para los parámetros fisicoquímicos, en particular la luminancia y cromaticidad b^* , están asociados y representan el mayor aporte a la clasificación en el espacio factorial; así mismo, los atributos de cristalización y fluidez que están asociados a la segunda componente (figura 2A). Este mismo comportamiento, se presenta en el plano de propiedades fisicoquímicas y jueces (Figura 2B).

Figura 2. Proyección del análisis factorial múltiple A: Parámetros fisicoquímicos y sensoriales B: Físicoquímicos y Evaluación de sobre mieles de Lara y Yaracuy.

Los parámetros fisicoquímicos y particularmente los correspondientes a la luminancia, cromaticidad (a^*/b^*) y la pureza del color, contribuyen a su clasificación, además los atributos intrínsecos y sensoriales, se correlacionan con los criterios de los jueces que participan en el estudio de muestras mediante análisis cuantitativo descriptivo (QDA), como se indica en la Figura 3. El análisis de las dos primeras componentes principales, permite clasificar el origen de las muestras en virtud a su origen geográfico (figura 4). En el diagnóstico se cumplen los supuestos del modelo regresión en términos de normalidad e independencia de los residuales y homocedasticidad en las observaciones.

Figura 3. Proyección factorial de los atributos sensoriales, parámetros fisicoquímicos y panelistas en la clasificación de las mieles venezolanas de Lara y Yaracuy

Figura 4. Distribución factorial de las muestras de miel de las zonas de Lara y Yaracuy

Figura 5. Relaciones PLS PATH en la clasificación de mieles de los Estados de Lara y Yaracuy a partir del análisis factorial múltiple.

CONCLUSIONES

El análisis factorial múltiple para las muestras de mieles de los estados de Lara y Yaracuy, posibilita la construcción de un espacio que interrelaciona los parámetros fisicoquímicos y atributos sensoriales. Los criterios del análisis hedónico, de jueces entrenados posibilita la comprensión y clasificación de grupos de muestras con atributos similares, independientemente de su origen botánico o geográfico. Adicionalmente, el modelamiento PLS PATH, permite cuantificar el efecto que tienen las características y atributos de manera integrada y a partir de paneles sensoriales. La variabilidad de las muestras de los estados de Lara y Yaracuy, reside en el origen biogeográfico. El trabajo contribuye a los procesos de clasificación de los alimentos en general.

BIBLIOGRAFÍA

- Alvarez, R., Salamanca, G. (2007). Caracterización de mieles a través del análisis factorial múltiple y el modelamiento PLS PATH. *Alimentos Ciencia e Ingeniería*, 16(1), 311-314.
- Ambroisine, L., Tenenhaus, M., Pagès, J., & Guinot, C. (2005). PLS methodology to study relationships between hedonic judgements and product characteristics. *Food Quality and Preference*. doi:10.1016/j.foodqual.2004.05.013.

Bogdanov, S., Lullmann, C. (1998). Honey Quality and International Regulatory Standards, Review by the International Honey Commission, Bee Department, Federal Dairy Research Institute, Suiza.

Bogdanov, S., Martin, C., Lulmann, C. (2002). Harmonized methods of the European Honey Commissionn. International Honey commission. *Apidologie*, Special Issue.

Dębska, B., & Guzowska-Świder, B. (2011). Application of artificial neural network in food classification. *Analytica chimica acta*, 705(1-2), 283–91. doi:10.1016/j.aca.2011.06.033

Galán, H., Ruiz, M., Serrano, S., Jodral, M., Bentabol, A. (2005). Development of a preliminary sensory lexicon for floral honey. *Food Quality and preference*, 16(1),71-77.

Liu, H. Multi-view ear recognition by patrial least square discrimination. , 4 2011 3rd International Conference on Computer Research and Development 200–204 (2011). IEEE. doi:10.1109/ICCRD.2011.5763894.

Moguel, Y., Echazarreta, C., Mora, R. (2005). Calidad fisicoquímica de la miel de abeja *Apis mellifera* producida en el estado de Yucatán durante diferentes etapas del proceso de producción y tipos de floración. *Téc Peru Méx.*, 43(3):323-334.

Pagès, J., Tenenhaus, M. (2001). Multiple factor analysis combined with PLS path modelling. Application to the analysis of relationships between physicochemical variables , sensory profiles and hedonic judgements. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 58, 261-273.

Swanson, R., Lewis, C. (1992). Premium honeys: response of sensory panelist. *Food Quality and Preference*, 3(4), 215-221.

Urueña, M., Arrieta, E., Umaña, E., Zamora, L., Arias, M. (2007). Evaluación de la posible adulteracion de mieles de abeja comerciales de origen costarricense al compararlas con mieles artesanales provenientes de apiarios específicos. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*, 57(1),63-68.

Wold, S., Johansson, E., & Cocchi, M. (1993). PSL - partial least-squares projections to latent structures. In *3D QSAR Drug Des* (pp. 523–550).

Tabla 1. Parámetros fisicoquímicos sensoriales y hedónicos tipo de mieles venezolanas (Lara y Yaracuy)

Muestra	VEO5	VE09	VE12	VE10	VE28	VE29
Estado	Yaracuy				Lara	
<i>Fisicoquímicos</i>						
L	72.9	41.1	51.3	56.4	63.8	32.3
<i>a</i> *	-6.5	28.5	5.5	11.2	4.2	45
<i>b</i> *	74.6	50.9	54.7	62.2	68	45
L. Onda D	577	590	580	583	577	605
Cenizas	0.23	0.38	0.23	0.34	0.23	0.64
Conductividad	5.28	8.16	5.25	7.37	5.33	12.9
Humedad	20	20.7	20	20.7	21.5	21.5
<i>a_w</i>	0.5	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
pH	3.4	3.6	3.5	3.5	3.9	3.5
Acidez Total	25.8	28.9	32.2	30.8	29.6	31.4
Glucosa/Agua	1.6	1.6	1.4	1.6	1.6	1.4
<i>Sensoriales</i>						
Fluidez	5.9	4.4	8.3	5.3	4.4	6.5
Color	3.6	5.3	5.1	3.9	6	7.7
Aroma	4.9	5.4	7.3	4.4	6.6	6.5
Cristal	0	0	4	1.3	0	0
Sabor	6.1	7.6	6.7	6.3	7.1	6.2
<i>Hedónicos</i>						
J1	7	8	1	3	8	10
...						
J7	9	8	7	5	9	5

Tabla 2. Valores propios asociados al análisis de componentes principales

Ejes	Fisicoquímicos		Sensoriales		Jueces	
	V. Propio	%Inercia	V. Propio	%Inercia	V. Propio	%Inercia
1	4.19	42.0	2.10	34.0	3.00	43.0
2	1.59	16.0	1.78	30.0	1.28	18.0
3	1.17	12.0	0.69	12.0	0.98	14.0
4	1.10	10.0	0.65	11.0	0.74	11.0

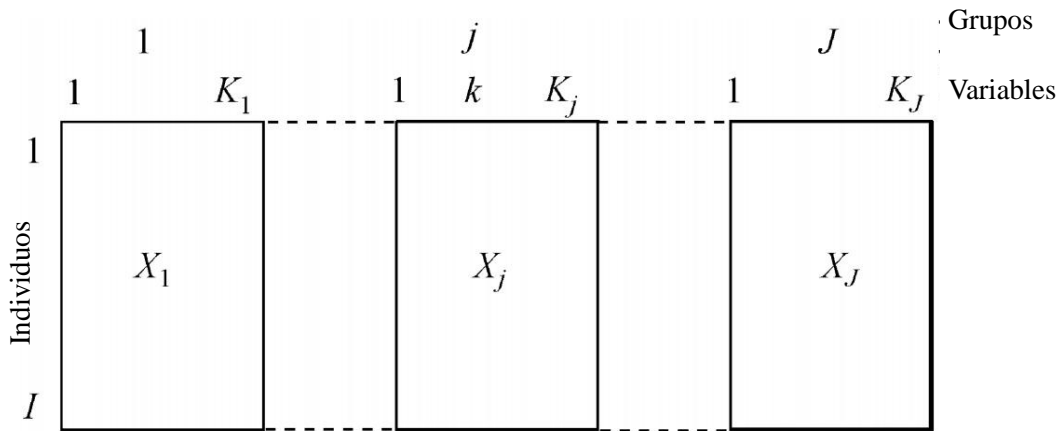


Figura 1. Relación estructural de grupos de componentes e individuos necesarios para el análisis factorial múltiple (AFM).

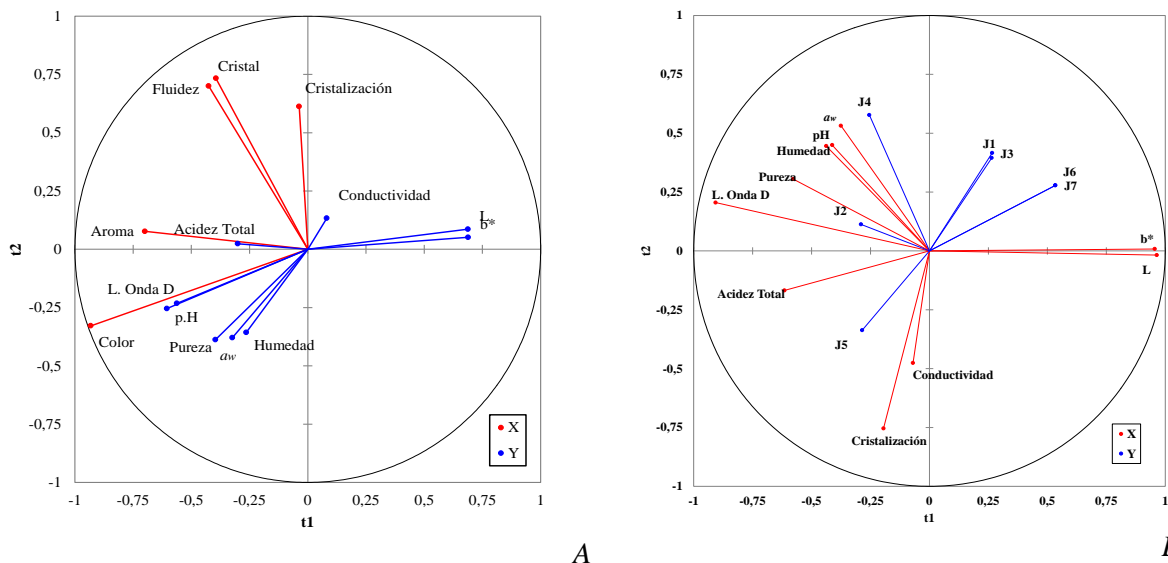


Figura 2. Proyección del análisis factorial múltiple A: Parámetros fisicoquímicos y sensoriales B: Físicoquímicos y Evaluación de sobre mieles de Lara y Yaracuy.

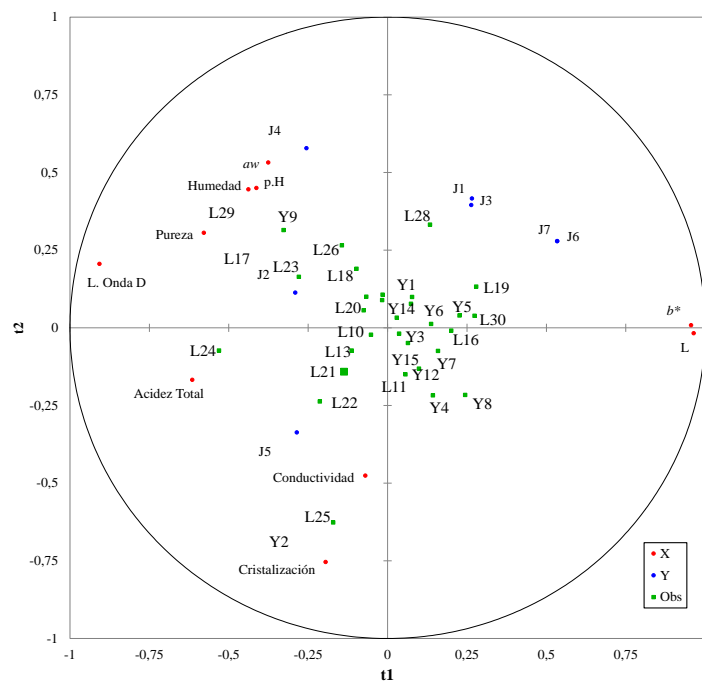


Figura 3. Proyección factorial de los atributos sensoriales, parámetros fisicoquímicos y panelistas en la clasificación de las mieles venezolanas de Lara y Yaracuy

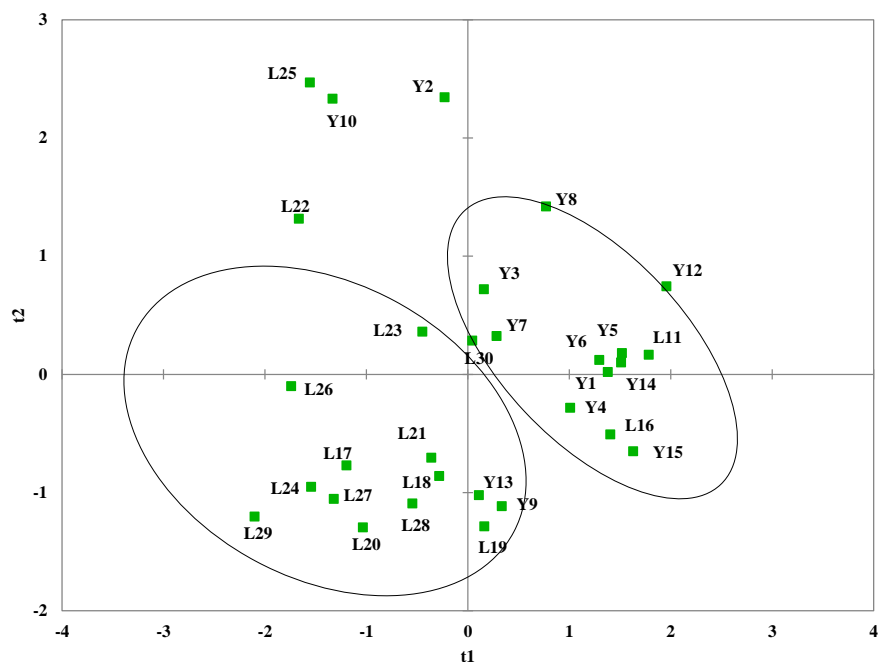


Figura 4. Distribución factorial de las muestras de miel de las zonas de Lara y Yaracuy

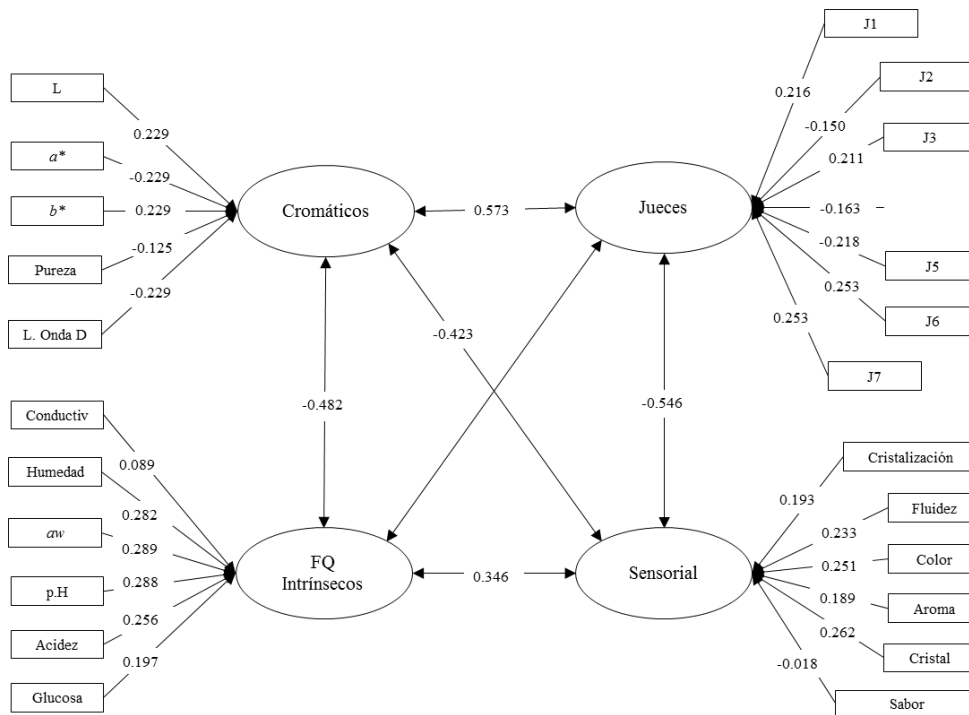


Figura 5. Relaciones PLS PATH en la clasificación de mieles de los Estados de Lara y Yaracuy a partir del análisis factorial múltiple.

APLICACIÓN DE ANÁLISIS DE CLUSTER Y REDES NEURONALES ARTIFICIALES PARA LA CLASIFICACIÓN DE MIELES COLOMBIANAS

^{1,2}Nelson Rodriguez Arias; ¹Guillermo Salamanca Grosso; ¹Laura Maria Reyes Méndez

¹Grupo de Investigaciones Mellitopalínológicas y Propiedades Físicoquímicas de Alimentos. ²Departamento de Matemáticas y Estadística. Facultad de Ciencias. Universidad del Tolima Ibagué Tolima Colombia A.A 546.
¹E-mail: nrodriguezarias@gmail.com

RESUMEN

La posición geográfica colombiana esta influenciada por factores climáticos propios de la zona de confluencia intertropical (ZCI), que posibilitan cosechas de miel a lo largo del año en las diferentes regiones del país; la variabilidad del producto entre zonas y periodos de cosecha es amplia, dependiente del flujo nectario de la flora indicadora. El advenimiento de los métodos de cálculo, ha posibilitado el desarrollo y uso de redes neurales artificiales (ANN) como método de clasificación. Se conocen diversos tipos de miel, que se diferencian por una serie de cualidades que dependen principalmente de su origen floral, geográfico o tecnológico. Las caracterizaciones de mieles se han basado en la determinación de sus propiedades químicas, físicas o biológicas. En este trabajo, se han estudiado las propiedades fisicoquímicas de 20 muestras de mieles colombianas de diferentes zonas de vida, sobre los parámetros de acidez total libre y lactónica, pH, humedad (X_w), sólidos solubles (X_s), actividad de agua (a_w), conductividad eléctrica (CE; mS/cm) y densidad óptica a 420 nm. Los resultados de las caracterizaciones fueron evaluados a través de un sistema de red probabilística neuronal (PNN) con clasificador bayesiano con atributos y propiedades fisicoquímicas obteniendo diferencias estadísticas significativas y clasificaciones ente el 95 y 100% de exactitud.

Palabras clave: Alimentos. Calidad. Redes neuronales

INTRODUCCIÓN

La Organización Mundial para la Alimentación, ha definido a la miel como una sustancia dulce elaborada por la abeja (*Apis mellífera*) y sus diferentes subespecies, a partir del néctar de las flores y de otras secreciones extraflorales, que las abejas liban, transportan, deshidratan,

concentran y almacenan en los panales. Debido a que la miel hereda las propiedades de las plantas, su color, aroma, sabor y propiedades fisicoquímicas dependen de las flores utilizadas por las abejas, aunque las condiciones climáticas también influyen en la composición y sus propiedades (Ramírez & Montenegro, 2004).

Los productos naturales usados como materias primas para la elaboración de nuevos productos cada vez requiere de procedimientos que permitan garantizar no solo su autenticidad también el origen botánico y geográfico, pero también la detección de adulterantes. La evaluación de la calidad sigue dependiendo en gran medida de la inspección, que es fácilmente influenciada por factores subjetivos. La creciente necesidad de gestión de calidad total en las industrias de alimentos ha hecho que la construcción de los sistemas de toma de decisiones automatizadas flexibles y robustas para la evaluación del producto; con frecuencia se requiere de procesos de clasificación, (Savakar, 2012).

Clasificación auténtica o adulterados identifica objetos agrupándolos en uno de los conjuntos finitos de clases, que consiste en comparar las características medidas de un nuevo objeto con los de un objeto conocido u otros criterios conocidos y la determinación de si el nuevo objeto pertenece a una categoría particular de objetos. Una amplia variedad de enfoques de técnicas de reconocimiento de patrones se han adoptado para esta tarea en la evaluación de calidad de los alimentos, tales como el análisis discriminante lineal (LDA), análisis de mínimos cuadrados parciales discriminante (PLS-DA), los k-vecinos más cercanos (kNN), clasificación y árboles de regresión (CART) y redes neuronales artificiales (ANN). Esta última con un mayor número de aplicaciones como la resolución de algoritmos que se pueden llevar a cabo análisis de los datos y usan criterios multicapa (Figura 1), donde el número de nodos (neuronas) de la capa de entrada se corresponde con el número de variables que describen objetos clasificados, mientras que el número de nodos en la capa de salida es igual al número de clases. El número de capas ocultas y el número de neuronas en las capas ocultas depende de la complejidad de la tarea de clasificación y la cantidad de datos de entrenamiento. En una red de propagación hacia atrás totalmente conectada, las neuronas de la capa oculta y de salida están conectadas cada una a todos los nodos en la capa de procedimiento por un peso numérico asociado. El peso que conecta dos neuronas sirve para regular la magnitud de la señal que pasa entre ellos, (Savakar, 2012; Dębska & Guzowska-Świder, 2011; Marini, 2009; Anderson et. Al, 1999; Zupan & Gasteiger, 1999).

Figura 1. Representación general de una red neuronal artificial

Caracterizaciones de mieles se han basado en la determinación de sus propiedades químicas, físicas o biológicas. Varios estudios han intentado establecer rangos adecuados considerando algunas de sus propiedades y origen botánico mediante diferentes técnicas de análisis (Soria *et al*, 2004). El análisis de conglomerados, es una técnica exploratoria de datos para resolver problemas de clasificación. Su objeto consiste en ordenar objetos en grupos de forma que el grado de asociación/similitud entre miembros del mismo clúster sea más fuerte que el grado de asociación/similitud entre miembros de diferentes clúster. Cada conglomerado se describe como la clase a la que sus miembros pertenecen. Los objetos generalmente representan las filas de la tabla de datos. Ocasionalmente, estos procedimientos son usados para agrupar variables en lugar de observaciones.

La aplicación y uso de los modelos de redes neuronales se han implementado para demostrar el rendimiento y exactitud de las técnicas convencionales de clasificación estadística en muchas aplicaciones. La red se emplea estableciendo varios patrones de entrada y un patrón o característica de salida. En éstos modelos es posible identificar semejanzas entre los patrones de entrada causando su disgregación en grupos del parámetro de salida (Kouchakzadeh & Brati, 2012). La aplicación y uso de los modelos de redes neuronales se han implementado para demostrar el rendimiento y exactitud de las técnicas convencionales de clasificación estadística en muchas aplicaciones. La red se emplea estableciendo varios patrones de entrada y un patrón o característica de salida. Estos modelos son capaces de identificar semejanzas entre los patrones de entrada causando su disgregación en grupos del parámetro de salida (Kouchakzadeh & Brati, 2012).

El clasificador bayesiano se fundamenta en la regla de Bayes del mínimo error. Un objeto, con unas características determinadas, pertenece a una clase si la probabilidad de pertenecer a ésta clase es mayor que la probabilidad de pertenecer a cualquier otra clase, como se muestra en la ecuación:

$$X \in \Omega_i \text{ si}$$

$$P(\omega_i)p\left(\frac{X}{\omega_i}\right) > P(\omega_j)p\left(\frac{X}{\omega_j}\right)$$

donde W es el espacio de características, que está dividido en regiones W_i , $i = 1, 2, \dots, N$ donde N es el número de clases. $P(w_i)$ es la probabilidad a priori por la cual un objeto con características X , pertenece a la clase w_i y $p(m/w_i)$ es la función de probabilidad condicional de la clase w_i para X . En la práctica, las funciones de probabilidad no se conocen y por lo tanto se deben estimar (Sandoval & Prieto, 2007). El objetivo de este trabajo se ha centrado en la evaluación de algunas propiedades fisicoquímicas de mieles colombianas y el acercamiento a procesos de clasificación en función del origen biogeográfico, haciendo uso de redes neuronales artificiales y análisis de conglomerados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestras: Se analizaron 20 muestras por duplicado de diferentes regiones de Colombia clasificadas de acuerdo al criterio de zonas de vida en bosque húmedo premontano (*bh-PM*), con 1000-2000 m.s.n.m; 1100-1200 mm; 18-24 °C), (4 muestras); bosque húmedo tropical (*bh-T*) de 0-1000 m.s.n.m; 2000-4000 mm > 24 °C (6 muestras); bosque seco tropical (*bs-T*), 0 a 1000 m.s.n.m; 700-2000 mm; > 24 °C (5 muestras); bosque húmedo montano bajo (*bh-MB*) 2000-2500 m.s.n.m; 100-2000 mm; 12-18°C (1 muestra); bosque muy húmedo premontano (*bmh-PM*), 800-2000 m.s.n.m; 2000-4000 mm; 17-18°C (1 muestra) y bosque seco montano bajo (*bs-MB*), 2000-3000 m.s.n.m; 500- 1000 mm; 12-18°C, 3 muestras.

Caracterizaciones: Las propiedades fisicoquímicas de las mieles se estudiaron conforme a las directrices establecidas en métodos armonizados de la Comisión Internacional de la Miel (ICH, 2002), para los parámetros de actividad de agua (a_w), humedad (X_w); sólidos solubles (X_{ss}) en g/100g; conductividad eléctrica (C.E.) en mS/cm); la acidez total (X_{AT}), láctónica (X_{AL}) y libre (X_F) en meq/kg; el color (Pfund, mm) y densidad óptica a 420 nm. Las determinaciones de (a_w) se realizaron en higrómetro AQUA LAB Serie 3B V3.4. El pH se midió sobre soluciones del miel al 10% usando la unidad Corning pH/ion meter 450. Las determinaciones de acidez libre, láctónica y total se realizaron a través del método potenciométrico con muestras de diluidas de 10g miel y 75ml de agua destilada.

Análisis estadístico: Las muestras evaluadas se colectaron siguiendo criterios de muestreo aleatorio simple. Los datos fueron analizados en términos de promedios y variaciones en relación al origen geográfico, se usó el paquete estadístico InfoStat™.

Conglomerados y redes neuronales: La clasificación de grupos de muestras de miel con propiedades fisicoquímicas similares, se realizó mediante la metodología de redes neuronales artificiales (RNA) y técnicas de clasificación para tipos de clúster, usando el método de Ward y distancias euclidianas. En el caso de las RNA, se establecieron 9 parámetros de entrada como criterio de clasificación. En el sistema de conglomerados se considero el color y el origen. Las evaluaciones se realizaron usando Statgraphics Centurión XV™

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de las mieles a través del sistema de redes neuronales artificiales (RNA), Operando sobre 9 variables y 20 muestras de las diferentes zonas biogeográficas, permite clasificar las muestras en 4 grupos, que son coincidentes con el color natural de las muestras y son dependientes de las propiedades fisicoquímicas y atributos sensoriales (Figura 2). La humedad de las mieles en general es variable entre los grupos de la misma tonalidad y entre tonalidades de otros grupos. Los valores medios observados en cada una de las tonalidades de color (mm Pfund), en las que el análisis de (RNA) ha clasificado se recogen en la tabla 1. los 40 casos en el conjunto de entrenamiento, el 100% de las muestras de miel fueron clasificados correctamente por la red; de las 20 muestras de mieles analizadas, se ha encontrado que las zonas biogeográficas de procedencia tienen incidencia sobre la naturaleza del producto. El 30% de las muestras evaluadas se clasifico como miel de mieladas y el 70% restante miel (14, se discriminaron entre mieles florales y uniflorales). Los casos de trabajo conducen a conjuntos de entrenamiento de las redes finales con clasificaciones de las variables (Figura 3).

Figura 2. Entrada y salidas del sistema de red neural artificial en la clasificación de las mieles colombianas

El grupo de muestras de la tonalidad LA (51-85 mm Pfund) con 20.3 ± 10.0 g/100g es menor respecto de los grupos A (86-114), ELA (35-50) y DA (> 114) mm Pfund. La actividad de agua no presenta diferencias significativas entre grupos; las muestras ámbar y ámbar oscuro exhiben valores entre 3.95 ± 0.62 y 3.98 ± 0.50 , que son mayores que las observadas en el grupo de ELA y LA (3.55 ± 0.23 y 3.68 ± 0.16). Los valores de acidez total por otra parte, están en la misma relación al pH; las mayores diferencias observables residen en la alta variabilidad de la

conductividad eléctrica, que a su vez incide en el contenido de minerales (datos no reportados) y en las propiedades sensoriales de las mieles colombianas.

Figura 3. Representación de la clasificación de redes neuronales de las mieles colombianas

Tabla 1. Parámetros fisicoquímicos de grupos de mieles florales y monoflorales colombianas en función del color.

Análisis de conglomerados aplicando el método de Ward y criterios de distancia euclidiana (Figura 4), revela 4 clústers estructurados por grupos de muestras de miel de diferente tonalidad. Clúster 1, mieles de tonalidad LA y ELA (2 muestras); Clúster 2 miles de tonalidad ELA, de las zonas (*bh-T*, *bh-MB*; *bs-T*; *bs-MB*), (6 muestras); clúster 3, característico de miles tipo (A) y (DA), con 3 muestras propias de clima frío y el clúster 4 con diversidad de mieles de las tonalidades (A), (LA), (ELA) y (DA), con 9 muestras. En la clasificación los parámetros fisicoquímicos de algunas de las muestras presentan similitud.

Figura 4. Dendograma de clasificación de mieles florales y monoflorales colombianas

En el proceso de clasificación de las mieles se observa que el color de las muestras es independiente de las zonas de vida, puesto que muestras de la misma o distinta tonalidad se presentan indistintamente en diferentes consociaciones (Tabla 2), la densidad óptica contribuye a la diferenciación. Este comportamiento puede ser explicado teniendo en cuenta la amplia diversidad y composición florística de zonas muestreadas. La acidez total es sin embargo un parámetro de clasificación complementario. Muestras del grupo A están en un intervalo de (31.5 a 56.3), el rango de variabilidad es menor en relación a los observados en los grupos ELA y LA con (18.5 a 47.8) y (20.9 a 49.6) meq/kg. En relación a la acidez láctica (X_{AL}), no excede los 13.2 meq/kg. A partir de la información de pH y la conductividad eléctrica (C.E) se puede deducir el carácter de las mieles. pH's superiores a 4.0 y elevados tenores de C.E., son indicativos de tipos de mieles de mielada, para el caso el 11% de las muestras cae dentro de esta clasificación. Los parámetros de la referencia contribuyen de manera significativa en la clasificación por conglomerados.

Tabla2. Parámetros fisicoquímicos de mieles colombianas en función de su origen biogeográfico

CONCLUSIONES

Se implementaron protocolos de análisis de mieles que han sido utilizados como criterio de clasificación de mieles colombianas, haciendo uso de un sistema de red neuronal de tipo bayesiano, que permite identificar tipos de mieles en dos grupos diferenciados. El sistema de entrenamiento de red neuronal con tres parámetros de entrada permite clasificar el 100% de las muestras en cada uno de los dos grupos. Otros parámetros fisicoquímicos como sólidos solubles, actividad de agua, actividad óptica y acidez libre, lactónica y total son importantes para diferenciar cada una de las mieles y mieladas de acuerdo a la zona y época de cosecha. El estudio contribuye a los procesos de clasificación y diferenciación de mieles en relación al tipo miel o mielada.

BIBLIOGRAFÍA

- Anderson, K. A., Magnuson, B. A., Tschirgi, M. L., & Smith, B. (1999). Determining the geographic origin of potatoes with trace metal analysis using statistical and neural network classifiers. *Journal of agricultural and food chemistry*, 47(4), 1568–1575.
- Dębska, B., & Guzowska-Świder, B. (2011). Application of artificial neural network in food classification. *Analytica chimica acta*, 705(1-2), 283–91.
- Internacional Honey Commission (ICH). 2002. Harmonised methods of the international Honey commission. Bern, Switzerland.
- Kouchakzadeh, A.; Brati, A. (2012). Discrimination of Pistachios Varieties with Neural Network using some Physical Characteristic. *Int. J. Emerg. Sci.*, 2(2), 259-267
- Liao, K., Paulsen M.R., Reid J.F. (1993). Corn kernel breakage classification by machine vision using a neural network classifier. *Transactions of the ASAE*; 36(6), 1949-1953
- Marini, F. (2009) Artificial neural networks in foodstuff analyses: Trends and perspectives A review. *Analytica Chimica Acta* 635; 121–131.
- Persano, O.L., Piro, L. (2004). Main European unifloral honeys descriptive sheets. *Ai`pdogie* 35, S38-S81.
- Ramírez, R. y G. Montenegro. (2004). Certificación del origen botánico de miel y polen corbicular pertenecientes a la comuna de Litueche, VI región de Chile. *Ciencia e Investigación Agraria* 31:197-211.
- Sandoval, N.Z., Prieto, O.F. 2007. Caracterización de café cereza empleando técnicas de visión artificial. *Rev.Fac.Nal.Agr.Medellín* vol.60 no.2
- Savakar, D. (2012). Recognition and Classification of Similar Looking Food Grain Images using Artificial Neural Networks. *Journal of Applied Computer Science & Mathematics*, no. 13 (6) /2012, Suceava.

Soria, A.C., Gonzalez, M., Lorenzo, C., Martinez-Castroa, I., Sanza, J. (2004). Characterization of artisanal honeys from Madrid (Central Spain) on the basis of their melissopalynological, physicochemical and volatile composition data. Food Chemistry 85 (2004) 121–130.

Zupan, J.; Gasteiger, J. (1999). Neural Networks in Chemistry and Drug Design 2nd ed., Wiley VCH Ed., Weinheim.

Tabla 1. Parámetros fisicoquímicos de grupos de mieles florales y monoflorales colombianas en función del color.

Color	Unidades	A	DA	ELA	LA
X _W	g/100g	20.9±10.5	21.9±1.36	21.4±9.43	20.3±10.0
a _w	-	0.62±0.01	0.61±0.01	0.61±0.02	0.60±0.02
pH	-	3.98±0.50	3.95±0.62	3.55±0.23	3.68±0.16
X _{SS}	g/100g	79.1±1.00	78.6±1.86	78.7±1.63	80.1±2.34
X _{AT}		45.2±10.5	40.1±1.36	32.1±9.43	38.9±10.0
X _F	meq/kg	38.9±8.27	36.7±2.02	28.7±8.51	33.6±7.30
X _{AL}		6.27±4.74	3.40±0.66	3.43±2.95	5.40±3.89
C.E.	mS/cm	594.6 ^a	615.5	251.8	453.8
D.O	420nm	0.91±0.12	1.04±0.32	0.32±0.11	0.50±0.08

Tabla 2. Parámetros fisicoquímicos de mieles colombianas en función de su origen biogeográfico

Color	Zonas	X _{SS}	a _w	X _F	X _{AL}	X _{AT}	X _W	pH	C.E.	D.O
A	<i>bh-PM</i>	78.7	0.62	31.5	0.00	31.5	21.68	4.15	565	0.96
		80.7	0.63	31.5	6.67	38.2	19.3	3.52	283	1.08
	<i>bh-T</i>	77.9	0.61	41.0	13.2	54.2	22.03	3.75	612	0.90
		<i>bs-MB</i>	78.9	0.62	51.5	4.80	56.3	20.83	4.77	1055
DA	<i>bs-T</i>	79.3	0.60	39.1	6.67	45.8	20.72	3.69	458	0.78
		<i>bh-T</i>	77.3	0.62	38.2	2.93	41.1	22.68	3.51	353
	<i>bh-MB</i>	79.9	0.60	35.3	3.87	39.2	21.02	4.39	878	1.26
		78.4	0.63	45.8	2.00	47.8	21.64	3.86	485	0.47
ELA	<i>bh-T</i>	76.8	0.61	18.5	0.00	18.5	23.17	3.7	227	0.32
		77.8	0.62	28.1	4.80	32.9	22.16	3.27	198	0.22
	<i>bs-T</i>	81.4	0.58	22.9	0.00	22.9	19.01	3.64	141	0.21
		78.4	0.59	28.6	5.74	34.4	21.03	3.64	275	0.39
LA	<i>bs-T</i>	80.4	0.59	28.6	6.67	35.9	20.94	3.45	239	0.40
		<i>bmh-PM</i>	78.1	0.60	41.9	7.60	49.6	21.9	3.70	399
	<i>bh-PM</i>	80.5	0.62	36.3	2.00	38.25	20.32	3.53	314	0.56
	<i>bh-T</i>	79.4	0.58	36.3	4.80	41.05	20.62	3.7	736	0.56
		77.7	0.62	36.3	10.41	46.65	23.14	3.54	422	0.61
<i>bs-MB</i>	84.1	0.56	21.0	0.00	20.98	15.88	3.96	532	0.47	
<i>bs-T</i>	80.9	0.61	29.6	7.60	37.18	20.1	3.66	320	0.46	

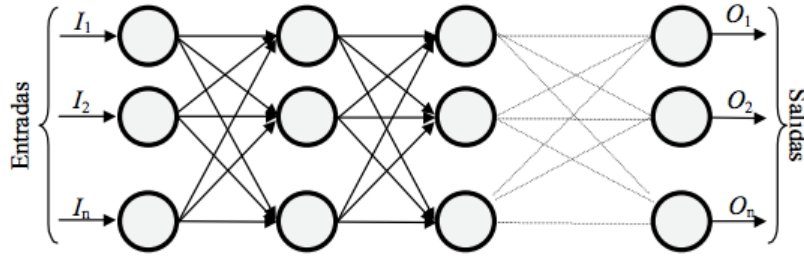


Figura 1. Representación general de una red neuronal artificial

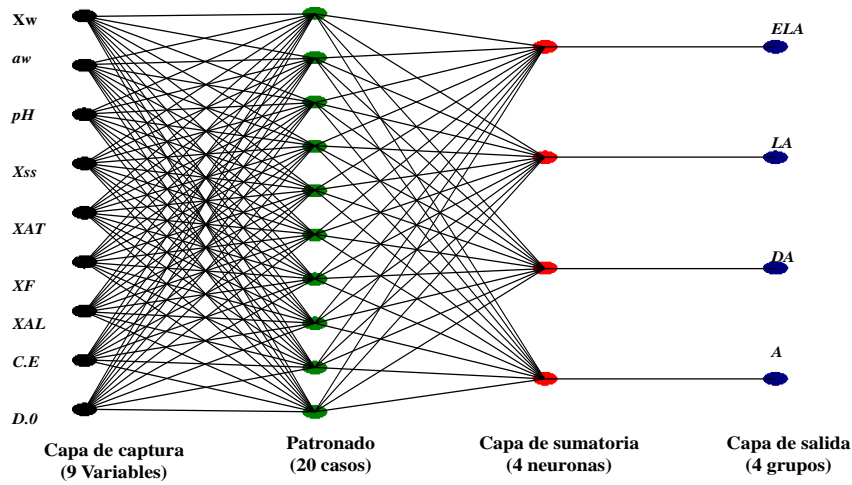


Figura 2. Entrada y salidas del sistema de red neuronal artificial en la clasificación de las mieles colombianas

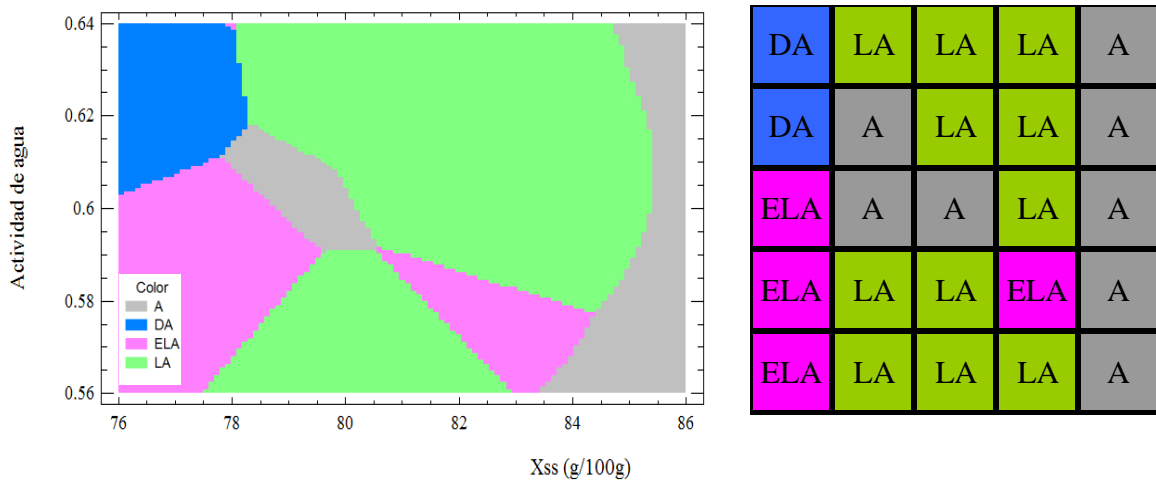


Figura 3. Representación de la clasificación de redes neuronales de las mieles colombianas

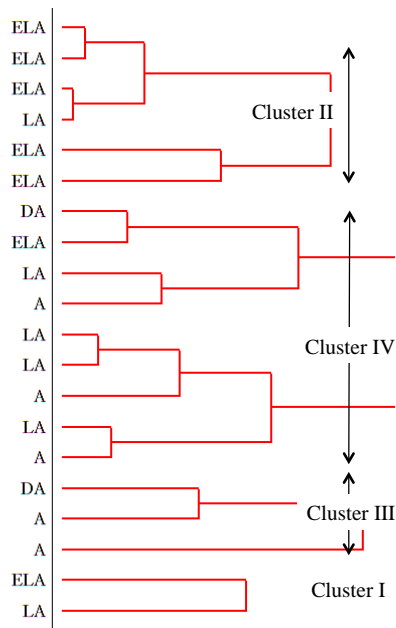


Figura 4. Dendrograma de clasificación de mieles colombianas

EVALUACIÓN DE ALGUNAS CARACTERÍSTICAS EN JAMONES ADICIONADOS CON PASTAS RESIDUALES DE ACEITE DE FRUTOS SECOS

Juan José Luna Guevara¹, Carlos Enrique Ochoa Velasco¹, María Lorena Luna Guevara¹, José Ángel Guerrero Beltrán²

Facultad de Ingeniería Química. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Av. San Claudio y 18 Sur Ciudad Universitaria, Puebla, México¹.

Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental. Universidad de las Américas Puebla. Ex hacienda Sta. Catarina Mártir. Cholula, Puebla 72820, México².

INTRODUCCIÓN

Existe una preocupación cada vez más evidente, por los consumidores e investigadores, debida al aumento de la obesidad y la aparición de enfermedades crónicas, como consecuencia de una alimentación y estilos de vida inadecuados (Swinburn, 2009). Estudios científicos sugieren que el consumo de frutos secos reduce la aparición de enfermedades cardíacas y diabetes tipo II (González *et al.*, 2001). Lo anterior puede deberse a su composición adecuada en ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados (Kris-Etherton *et al.*, 1999), los cuales, en conjunto con otros compuestos bioactivos de actividad antioxidante y funcional, favorecen la salud de los consumidores (Kornsteiner *et al.*, 2006). La incorporación de frutos secos en alimentos de consumo frecuente, como los derivados cárnicos, contribuiría a su ingestión en cantidades convenientes. Bajo este punto de vista, la reformulación de los productos cárnicos tradicionales se puede llevar a cabo mediante la modificación del contenido de lípidos y ácidos grasos y/o añadiendo una serie de ingredientes funcionales, con el propósito de desarrollar derivados cárnicos con propiedades potencialmente funcionales (Jiménez-Colmenero *et al.*, 2003). Por otro lado en los últimos años se ha intensificado el interés por la obtención de aceites a través de tecnologías de prensado. La ausencia de disolventes, permite la reutilización de la “pasta” residual generada a partir de la obtención del aceite. El objetivo de este trabajo fue analizar el efecto que tiene la adición de pastas residuales obtenidas de la extracción de aceites de frutos secos sobre las propiedades texturales, nutrimentales, fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales de jamón cocido.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se usaron nuez de Castilla (*Juglans regia L.*) y nuez pecanera (*Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch), variedad Western Shley y cacahuete (*Arachis hypogaea*). Los frutos, libres de cáscara, se secaron a 30 °C hasta peso constante. Se utilizó carne de pierna de cerdo cortada en cubos de 5 cm, empacada al vacío y almacenada a temperatura de refrigeración (4±1°C). Para la obtención de las pastas de nueces se utilizó la metodología descrita por Benito *et al.* (2009), con modificaciones. La formulación modelo utilizada corresponde a la de un jamón cocido tipo comercial (Tabla 1). Para la determinación de humedad, proteína, cenizas, grasa y fibra total de las pastas residuales se utilizaron los métodos 925.40, 960.52, 950.49, 948.22, 962.09 de la AOAC (2000), respectivamente. Los jamones adicionados con pasta se analizaron con respecto a humedad, proteína, cenizas, grasa y fibra total usando los métodos 934.01, 920.39, 960.52, 942.05, 962.09 de la AOAC (2000), respectivamente. En ambos casos el contenido de carbohidratos se determinó por diferencia de la suma del porcentaje total. Las pruebas textura en los jamones fueron compresión, penetración y esfuerzo de corte. Se utilizó un Texturometro TA-XT2 Stable Micro Systems Scardale (Nueva York, EE.UU). Para el análisis de los parámetros de color (L^* , a^* y b) se usó un colorímetro ColorGard System modelo 05 (Reston, EE.UU.) en el modo de reflectancia empleando la escala de Hunter. Las muestras fueron empacadas en bolsas de polietileno selladas herméticamente al vacío. El pH se midió utilizando un potenciómetro marca Hanna Instruments Modelo HI 98107 (NJ, EE.UU). La medición de a_w se realizó en un equipo Aqua Lab 3 TE marca Decagon, (WA, EE.UU). La cuantificación de bacterias mesófilas aerobias se llevó a cabo con el método reportado por la Norma Oficial Mexicana (NOM, 1994a). El conteo de mohos y levaduras se hizo siguiendo la metodología de la Norma Oficial Mexicana (NOM, 1994b). Las pruebas se llevaron a cabo cada 7 días durante 21 días de almacenamiento. La evaluación de los atributos sensoriales de los jamones se llevó a cabo empleando una escala hedónica estructurada de nueve puntos. Los atributos medidos fueron la apariencia, color, aroma, sabor y aceptabilidad general. Las evaluaciones se llevaron a cabo con 70 jueces no entrenados. Se analizaron los resultados mediante análisis de varianza con apoyo del programa Minitab 15 (Minitab Inc., PA, USA), para evaluar si existió diferencia significativa entre las muestras, utilizando la prueba de Tukey.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 2 se muestran los valores del análisis proximal de los frutos secos. Las grasas fueron los componentes predominantes, seguidos del contenido de carbohidratos y proteínas; lo anterior confirma el alto valor energético que presentan los frutos secos. La composición de las pastas presentó diferencia significativa ($P \leq 0.05$) entre frutos secos. En la Tabla 3 se muestran los valores de la composición proximal de los jamones. Los valores de humedad en todos los jamones se encuentran en el intervalo que establece la Norma Oficial Mexicana (NOM, 2003). Las pastas contribuyen a elevar ligeramente el contenido proteico en los jamones ($P \leq 0.05$) con respecto al contenido proteico del jamón testigo. Lo anterior se debe a que los frutos secos contienen una proporción de proteínas que oscila entre el 14 % y el 27 % (Meritxell *et al.*, 2004). El contenido de grasa en los jamones adicionados con pasta y el testigo presentaron diferencia significativa ($P \leq 0.05$). El porcentaje de grasa adicionado por las pastas a los jamones osciló entre el 16,54 y el 30,07 %, con respecto al contenido de grasa del jamón testigo. Estudios anteriores de composición en frutos secos han demostrado que poseen cantidades importantes de ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados (cerca al 90 %), entre los que se encuentran los ácidos oleico y linoleico (Luna y Guerrero, 2012). La cantidad de fibra total en los jamones adicionados con pastas fue significativamente mayor ($P \leq 0.05$) a la encontrada en el jamón testigo ($0,47 \pm 0,02$ %). Finalmente, la contribución de las cenizas en las pastas residuales sobre el contenido en los jamones adicionados no fue significativa ($P \geq 0.05$). Los resultados obtenidos de las pruebas de textura se muestran en la Tabla 4. Se obtienen jamones más suaves; lo anterior puede deberse a que las pastas de frutos secos pudieron interferir en la formación de las estructuras de las redes proteicas (Tsai *et al.*, 1998). La creciente proporción de grasa en los jamones adicionados con pastas podría haber reducido la cohesión entre las piezas de carne. Un comportamiento similar mostrado por los jamones adicionados ha sido reportado en filetes reestructurados añadidos con nueces (Jiménez-Colmenero *et al.*, 2003). En la Tabla 5, se muestran los parámetros de color. Se obtuvieron valores mayores de L^* (luminosidad) en el jamón testigo, seguidos de los obtenidos en los jamones adicionados con pastas de cacahuete, nuez pecanera y nuez de Castilla. Para el parámetro b^* se obtuvieron valores más elevados para el jamón adicionado con cacahuete, seguido de los jamones adicionados con nuez de Castilla, pecanera y testigo. Lo anterior puede deberse a la presencia de los compuestos responsables del color en los frutos secos. Tal es el caso de la luteína y β -carotenos en el cacahuete, flobafenos en

la nuez pecanera y carotenoides en la nuez de Castilla. El jamón adicionado con nuez de Castilla presentó un comportamiento similar al mostrado por otros productos cárnicos cocidos y adicionados con nuez, dando como resultado un aumento de los parámetros a*. En la tabla 6 se muestra la estabilidad microbiana de los jamones. El empacado al alto vacío, en bolsas de polietileno impermeables al agua y oxígeno, evitaron el crecimiento de mohos y levaduras en los jamones adicionados con pastas durante los 21 días de almacenamiento (<10 UFC/g). Sin embargo, tomando en cuenta lo que establece la Norma Mexicana como límite para el recuento de microorganismos mesófilos aerobios en jamones, se da cumplimiento a esta especificación cuando no sobrepasan los 21 días de almacenamiento. En la Tabla 7 se muestran los valores de actividad de agua y pH de los jamones. Durante el tiempo de almacenamiento, los valores de actividad de agua en los jamones adicionados con pasta presentaron una disminución ($P \leq 0,05$). La disminución pudo deberse a la incorporación de ingredientes no cárnicos que reducen la proporción de agua disponible para formar la matriz proteica durante los procesos de gelificación; esto puede significar una menor unión entre partículas (Farouk *et al.*, 2000). Esta condición favorece un aumento en los procesos de sinéresis en los productos cárnicos facilitando la salida de agua, lo que conlleva a una disminución de actividad de agua durante el almacenamiento. De igual manera se corroboró que el pH disminuye y la sinéresis aumenta, el agua emerge de las estructuras de los trozos de carne y de la emulsión (Lautenschlager, 1997). Durante la evaluación sensorial, con respecto a la apariencia y el color, los jamones presentaron diferencia significativa ($P \leq 0,05$). El jamón testigo presentó una mayor aceptación por los consumidores, mientras que el valor menor fue otorgado al jamón adicionado con nuez de Castilla. La adición de las pastas sobre los jamones produce, en general, una disminución en el color rosa y un aumento en el color marrón. Un color rosado claro en el jamón cocido aumenta la preferencia de los consumidores (Norman *et al.*, 2003). El aroma y el sabor en los jamones adicionados con nuez pecanera no presentaron diferencia ($P \geq 0,05$) significativa cuando fueron comparados con el jamón testigo. Los jamones adicionados con nuez de Castilla y cacahuate obtuvieron calificaciones inferiores a los evaluados en el jamón testigo. Finalmente, no se observó diferencia significativa ($P \geq 0,05$), para la aceptación general, en los jamones adicionados con cacahuate, nuez pecanera y el jamón testigo. Sin embargo, el jamón adicionado con nuez de Castilla presentó el menor valor en este atributo y una diferencia ($P \leq 0,05$).

CONCLUSIONES

Los jamones adicionados con pastas presentaron una estructura de menor rigidez, atribuible al aporte de fibra y grasa de las pastas sobre los productos cárnicos. Asimismo, destaca la contribución que realizan las pastas residuales al elevar el contenido de proteínas, fibra y grasa rica en ácidos grasos insaturados. El reaprovechamiento de la pasta residual de frutos secos y su incorporación en la reformulación de productos cárnicos podría incorporar a la dieta compuestos potencialmente benéficos a la salud.

BIBLIOGRAFÍA

- Swinburn, B. 2009. Obesity prevention in children and adolescents. *Child and Adolescent Psychiatric Clinics of North America* 18: 209–223.
- González, C.; Agudo, A.; Argilaga, S.; Amiano, E.; Ardanaz, A.; Barricarte, N.; Larrañaga, M.; Chilarque, M.; Dorronsoro, C.; Martínez, C.; Navarro, J.; Quirós, M.; Rodríguez, M.; Tormo, M. 2001. Estudio prospectivo europeo sobre dieta, cáncer y salud (EPIC) y la investigación sobre dieta y cáncer en Europa. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra* 24 (1): 75-82.
- Kris-Etherton, P.; Yu-Poth, S.; Sabaté, J.; Ratcliffe, H.; Zhao, G.; Etherton, T. 1999. Nuts and their bioactive constituents: effects on plasma lipids and other factors that affect disease risk. *American Journal Clinical Nutrition* 70: 504S–511S.
- Kornsteiner, M.; Wagner, K.; Elmadfa, I. 2006. Tocopherols and total phenolics in 10 different nut types. *Food Chemistry* 98: 381-387.
- Jiménez-Colmenero, F.; Serrano, A.; Ayo, J.; Solas, M.; Cofrades, S.; Carballo, J. 2003. Physicochemical and sensory characteristics of restructured beef steak with added walnuts. *Meat Science* 65: 1391–1397.
- Benito, M.; Oria, R.; Sánchez-Gimeno, A. 2009. Influencia del retraso en el procesado de las aceitunas tras la recolección, en parámetros físico-químicos y nutricionales del aceite de oliva de la variedad Racimilla. *Grasas y Aceites* 40: 382-387.
- A.O.A.C. Official Methods of Analysis, Washington, DC. Association of Official Analytical Chemists, 2000, 1545 p.
- NOM, 1994a. NOM-092-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.
- NOM, 1994b. NOM-111-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos.
- NOM, 2003. NOM-158-SCFI-2003. Jamón-Denominación y clasificación comercial, especificaciones fisicoquímicas, microbiológicas, organolépticas, información comercial y métodos de prueba.
- Meritxell, N.; Ruperto, M.; Sánchez-Muniz, F. 2004 Frutos secos y riesgo cardio y cerebrovascular. Una perspectiva española. *ALAN* 54 (2): 137-148.

Luna, J; Guerrero, J. 2012. Evaluación de algunos índices físicos y químicos de Aceites extraídos de nuez pecanera, nuez de castilla y Macadamia. *Revista de Ciencia y Tecnología de Alimentos* 22 (2): 33-39.

Tsai, S.; Unklesbay, N.; Unklesbay, K.; Clarke, A. 1998. Textural properties of restructured beef products with five binders at four isothermal temperatures. *Journal of Food Quality* 21: 397–410.

Farouk, M.; Hall, W.; Swan, J. 2000. Attributes of beef sausages, batters, patties and restructured roasts from two boning systems. *Journal of Muscle Foods* 11: 197-212.

Lautenschlager, R. 1997. Curing of raw meat products: diffusion characteristics of salts. *Fleischwirtsch International* 4: 26-37.

Norman, J.; Berg, E.; Heymann, H.; Lorenzen, C. 2003. Pork loin color relative to sensory and instrumental tenderness consumer acceptance. *Meat Science* 65: 927-933.

Tabla 1. Formulación de los jamones.

Ingredientes	Jamón	
	Testigo	Con pasta
Sales de curación (g)	2,50	2,50
Fosfatos, eritorbato de sodio, (conservador BS, condimentos sabor jamón, carrageninas) ^a	28,86	28,86
Aislado de proteínas		
Fabsaproy (g)	12,56	12,56
Almidones (g)	20,80	20,80
Agua (mL)	335,30	335,30
Carne (g)	600,00	540,00
Pasta de frutos secos (g)	-	60,00

^aMarca comercial (Corporación FABPSA[®])

Tabla 2. Composición proximal de pastas de frutos secos^a.

Característica	Pasta residual		
	Nuez pecanera	Cacahuete	Nuez de Castilla
Humedad (%)	1,35±0,03 ^a	1,34±0,02 ^a	1,36±0,02 ^a
Lípidos (%)	36,37±0,26 ^a	34,58±0,20 ^b	32,54±0,34 ^c
Proteína (%)	18,01±0,24 ^a	23,85±0,12 ^b	19,32±0,14 ^c
Cenizas (%)	0,952±0,02 ^a	0,972±0,02 ^b	0,977±0,01 ^b
Carbohidratos y fibra (%)	28,70	25,21	33,01

^a Letras diferentes en el mismo renglón indican diferencia significativa ($P \leq 0,05$).

Tabla 3 Composición proximal de jamones^a.

Característica	Jamón			
	Testigo	Nuez pecanera	Cacahuete	Nuez de Castilla
Humedad (%)	75,77±0,21 ^a	74,56±0,08 ^a	75,73±1,25 ^a	75,42±3,10 ^a
Proteína (%)	17,04±0,09 ^a	18,88±0,14 ^b	19,36±0,07 ^b	19,11±0,14 ^b
Grasa (%)	1,33±0,07 ^a	1,73±0,07 ^d	1,67±0,07 ^c	1,55±0,07 ^b
Fibra total (%)	0,47±0,02 ^a	2,02±0,04 ^d	1,17±0,01 ^b	1,69±0,01 ^c
Cenizas (%)	0,98±0,01 ^a	0,97±0,02 ^a	0,97±0,02 ^a	0,98±0,01 ^a
Carbohidratos (%)	5,39	2,81	2,07	2,23

^a Letras diferentes en el mismo renglón indican diferencia significativa ($P < 0,05$).

Tabla 4 Textura en jamones^a.

Característica (N)	Jamón			
	Testigo	Nuez pecanera	Cacahuete	Nuez de Castilla
Compresión	14,42±0,60 ^a	8,74±0,71 ^b	8,39±0,70 ^d	6,33±0,41 ^c
Esfuerzo de corte	0,97±0,01 ^a	0,06±0,04 ^d	0,55±0,06 ^c	0,79±0,06 ^b
Penetración	0,08±0,02 ^a	0,07±0,01 ^b	0,04±0,05 ^c	0,06±0,05 ^b

^a Letras diferentes en el mismo renglón indica diferencia significativa ($P \leq 0,05$).

Tabla 5 Evaluación de parámetros de color (L^* , a^* , b^*) durante el almacenamiento.

Parámetro de color	Tiempo (d)			
	0	7	14	21
Testigo				
L^*	75,21±0,71 ^a	74,10±0,21 ^a	72,13±2,36 ^{ab}	69,57±3,42 ^b
a^*	9,49±0,18 ^a	9,22±0,59 ^b	7,36±0,66 ^c	8,29±0,25 ^c
b^*	8,62±0,21 ^a	8,44±0,05 ^a	7,49±0,12 ^b	7,03±0,96 ^{bc}
Nuez pecanera				
L^*	66,88±2,53 ^a	66,50±2,62 ^a	62,97±3,39 ^{ab}	61,97±1,13 ^b
a^*	9,14±0,34 ^a	9,13±0,15 ^a	8,89±0,27 ^a	7,96±0,76 ^b
b^*	9,21±0,67 ^a	9,14±0,65 ^a	9,11±0,61 ^a	8,65±0,11 ^b
Cacahuete				
L^*	70,05±0,92 ^a	69,55±0,94 ^a	66,54±3,52 ^{ab}	63,92±2,74 ^b
a^*	9,49±0,74 ^a	9,44±0,76 ^a	7,91±0,89 ^b	8,91±0,35 ^{ac}
b^*	11,95±0,33 ^a	11,15±1,77 ^a	11,53±1,40 ^a	11,14±1,44 ^a
Nuez de Castilla				
L^*	62,66±0,72 ^a	60,53±1,16 ^a	56,55±2,29 ^{bc}	57,58±2,00 ^c
a^*	7,59±0,01 ^a	7,74±0,26 ^a	7,78±0,73 ^a	7,90±0,56 ^a
b^*	11,75±0,40 ^a	12,19±0,37 ^a	13,90±2,34 ^a	13,85±1,11 ^a

^a Letras diferentes en el mismo renglón indican diferencia significativa ($P \leq 0.05$).

Tabla 6 Cuenta de mesófilos aerobios en jamón durante el almacenamiento.

Almacenamiento (d)	Microorganismos mesófilos (UFC/g)			
	0	7	14	21
Testigo	≤ 10	≤ 10	1 000	88 000
Nuez pecanera	≤ 10	≤ 10	2 800	130 000
Cacahuete	≤ 10	≤ 10	5 600	920 000
Nuez de Castilla	≤ 10	≤ 10	1 900	106 000

Tabla 7 Actividad de agua y pH durante el almacenamiento^a.

Característica	Jamón			
	Testigo	Nuez pecanera	Cacahuete	Nuez de Castilla
a_{wi}	0,977±0,000 ^a	0,978±0,002 ^a	0,977±0,002 ^a	0,977±0,002 ^a
a_{wf}	0,971±0,002 ^b	0,967±0,000 ^b	0,966±0,001 ^b	0,967±0,000 ^b
pH _i	6,44±0,010 ^c	6,46±0,005 ^c	6,45±0,010 ^c	6,45±0,010 ^c
pH _f	6,40±0,010 ^d	6,32±0,010 ^d	6,43±0,010 ^d	6,35±0,010 ^d

^a Letras diferentes en la misma columna indican diferencia significativa ($P \leq 0,05$).

CUANTIFICACIÓN DE LA DEFORMACIÓN DE ALIMENTOS SUJETOS A SECADO CONVECTIVO MEDIANTE TÉCNICAS DE ANÁLISIS DE IMAGEN

E. Yañez-Mota¹, F.M. Pacheco-Aguirre¹, H. Ruiz-Espinosa¹, M.A. García-Alvarado², I.I. Ruiz-López^{1*}

¹Facultad de Ingeniería Química, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Av. San Claudio y 18 Sur, Ciudad Universitaria, C.P. 72570, Puebla, Puebla, México

²Departamento de Ingeniería Química y Bioquímica, Instituto Tecnológico de Veracruz, Av. M.A. de Quevedo S/N. Col. 5 de Mayo, C.P. 91860, Veracruz, Veracruz, México

*Autor de correspondencia. Email: irving.ruiz@correo.buap.mx

RESUMEN

En este estudio se propone una metodología para determinar simultáneamente el encogimiento y deformación (ED) de un producto sujeto a secado como función de su contenido de humedad a partir de técnicas de análisis de imagen. Para ello, se secaron tiras de papa (0.8 cm × 0.95 cm × 0.95 cm) obtenidas a 50, 60, 70 and 80°C con una velocidad de aire de 2 m/s. Las dimensiones se seleccionaron para favorecer el transporte de masa y deformación en las dimensiones de menor tamaño. Se obtuvieron muestras a diferentes instantes durante el secado, de las cuales se obtuvo un corte de aproximadamente 1 mm de espesor de la zona central. La imagen del corte se trató por medio de diferentes técnicas de análisis de imagen para determinar la evolución del área de sección transversal, perímetro y área específica de las muestras. El secado de las muestras resultó en prismas con aproximadamente un 17 y 58% de su área de sección transversal y perímetro iniciales, con un comportamiento no lineal respecto al contenido de humedad. Por otra parte, el área específica registró un aumento no lineal al disminuir el contenido de humedad, incrementándose en aproximadamente un 209%. No se observó un efecto de la temperatura sobre las características de ED del producto propuesto ($p < 0.05$).

INTRODUCCIÓN

El secado convectivo es una de las técnicas de procesamiento más importantes para la conservación de alimentos. El secado provoca varios cambios físicos y químicos en los alimentos, siendo la reducción de tamaño y deformación, provocados por la pérdida de agua y colapso de la estructura celular, los más evidentes. El secado convectivo se considera una operación controlada por la difusión de humedad interna, donde el coeficiente de difusión

efectivo del agua en el producto caracteriza la velocidad a la que ocurre el proceso, y su cálculo depende de la distancia que deben recorrer las moléculas de agua para alcanzar la superficie del alimento. De esta forma, el fenómeno de encogimiento ha sido reconocido como el principal factor que afecta la estimación de la difusividad del agua debido al acortamiento de su trayectoria de difusión (Ruiz-López *et al.*, 2012).

Los métodos existentes para medir el encogimiento en alimentos sujetos a procesos de secado se basan en la medición directa de las dimensiones lineales del producto o medición del volumen por técnicas de desplazamiento, no proporcionando información sobre su deformación. Recientemente, se han publicado diversos estudios sobre la aplicación de técnicas de análisis de imagen para la medición de las características de ED de alimentos sujetos a secado (Campos-Mendiola *et al.*, 2007; Panyawong y Devahastin, 2007; Yadollahinia *et al.*, 2009; Gumeta-Chávez *et al.*, 2011); sin embargo, en todos los casos la medición del encogimiento y deformación del producto se hace sobre una dimensión en la que no ocurre el transporte de masa de forma preferentemente, limitando su aplicación a la modelación y simulación de esta operación. Por lo tanto, en este trabajo se introduce una nueva metodología para evaluar el ED de productos con transporte de masa en 2D, donde estos fenómenos se evalúan en la misma dirección en la que ocurre la pérdida de agua en el producto.

MATERIALES Y MÉTODOS

En una primera etapa se obtuvieron curvas de secado de prismas rectangulares de papa (0.8 cm × 0.95 cm × 0.95 cm) a 50, 60, 70 y 80°C con una velocidad de aire de 2 m/s. Las dimensiones se seleccionaron para favorecer el transporte de masa y deformación en las dimensiones de menor tamaño. Las curvas obtenidas se emplearon para establecer una aproximación del tiempo de secado necesario t para lograr fracciones de humedad libre Ψ desde 0.9 hasta 0.1 en intervalos de 0.1, para cada una de las temperaturas de trabajo.

En experimentos adicionales se obtuvieron nuevos cortes de papa con las mismas dimensiones descritas anteriormente, formándose 9 grupos de 5 muestras cada uno, los cuales fueron usados para determinar el ED en cada una de las fracciones de humedad libre establecidas inicialmente. Se registró el peso de cada grupo antes de introducir al secador (m_{p0}). Transcurrido un periodo de tiempo igual a t se retiró el grupo del secador y se registró

nuevamente su peso (m_{pt}). La masa de agua perdida entre el inicio del proceso y el instante t se calcula como

$$\Delta m_w(0 \rightarrow t) = m_{p0} - m_{pt} \quad (1)$$

Se cortó una rebanada de aproximadamente un milímetro de espesor de la mitad del largo de cada prisma, procurando no ejercer demasiada presión para no deformar la muestra. De este procedimiento se obtuvieron cinco láminas por cada grupo correspondiente a la fracción de humedad libre deseada de cada temperatura. Las porciones remanentes de los prismas de papa se pesaron nuevamente como grupo, registrándose su valor (m_{pc}), y se devolvieron al secador hasta alcanzar un peso constante (m_{pe}). La masa de agua perdida después del corte de la lámina hasta el equilibrio se calcula como

$$\Delta m_w(c \rightarrow e) = m_{pc} - m_{pe} \quad (2)$$

Una vez alcanzado el equilibrio en el secador, los prismas de papa se metieron a una estufa a 105°C hasta alcanzar un peso constante con la finalidad de perder el resto de agua que pudieran tener las muestras. Este último peso es m_{pf} . La masa de agua perdida entre el instante en que se alcanza el equilibrio en el secador y el instante en que se retiran de la estufa es

$$\Delta m_w(e \rightarrow f) = m_{pe} - m_{pf} \quad (3)$$

Las cantidades obtenidas de la forma descrita se pueden usar para establecer una secuencia de operaciones que tiene como objetivo determinar el valor exacto de la fracción de humedad libre en el tiempo en que se extrajo el grupo de muestreo del secador. La masa de agua perdida por el producto cortado en el momento en que la muestra se extrae del secador es

$$\Delta m_w(0 \rightarrow c) = (m_{pc} / m_{pt}) \Delta m_w(0 \rightarrow t) \quad (4)$$

Por lo tanto, las humedades del producto al inicio del proceso, después del corte y al alcanzar el equilibrio en el secador son, respectivamente,

$$X_0 = [\Delta m_w(0 \rightarrow c) + \Delta m_w(c \rightarrow e) + \Delta m_w(e \rightarrow f)] / m_{pf} \quad (5)$$

$$X_c = [\Delta m_w(c \rightarrow e) + \Delta m_w(e \rightarrow f)] / m_{pf} \quad (6)$$

$$X_e = \Delta m_w(e \rightarrow f) / m_{pf} \quad (7)$$

Dado que la masa de producto extraído del secador y de las porciones resultantes después del corte de la lámina tienen la misma humedad, estos últimos valores se pueden usar para

calcular la fracción de humedad libre de las muestras en el momento de retirarlas del secador como

$$\Psi = (X_c - X_e) / X_0 - X_e \quad (8)$$

Cada lámina de papa se colocó sobre una hoja de papel de color azul y se fotografió (Coolpix L810, Nikon, Japón) con una línea de enfoque normal a la superficie sobre la que se encontraba la muestra. La fotografía se adquirió en modo macro y sin flash, evitando que los bordes de la muestra produjeran sombras. Junto a cada lámina de papa se colocó, como objeto de referencia, una arandela con un diámetro de 5.88 milímetros, para poder recuperar las dimensiones reales de las muestras y compensar las diferencias de enfoque. Además de las muestras extraídas del secador a diferentes intervalos, se adquirieron imágenes de láminas obtenidas de producto fresco ($\Psi = 1$) y seco hasta alcanzar el equilibrio ($\Psi = 0$).

Las imágenes se redujeron a tres colores por medio de análisis de conglomerados (Press *et al.*, 2007) permitiendo quitar fácilmente el color de fondo. Las imágenes sin fondo se convirtieron a escala de grises y se limpiaron manualmente para eliminar píxeles no conectados sobre el contorno de la imagen, después de lo cual se obtuvieron sus coordenadas. Los contornos correspondientes a cada humedad se rotaron y trasladaron a un origen común para alinearlos respecto a la posición original de sus vértices y posteriormente se promediaron para obtener un perfil deformado representativo del producto. El perfil de deformación promedio se rellenó y se calculó el porcentaje de píxeles encerrados por el contorno para obtener el área real de la sección transversal (A) de los prismas de papa. Finalmente, las coordenadas del contorno se emplearon para calcular el perímetro (P) de la lámina de papa. Si se considera que la muestra no sufre un encogimiento apreciable sobre la dimensión de mayor longitud, entonces los datos de A y P se pueden usar para calcular el área específica (a) de la muestra como

$$a = S/V = (PL + 2A)/(AL) \approx (PL)/(AL) = P/A \quad (9)$$

donde S y V son el área de superficie y volumen de la muestra, respectivamente. Los datos de área de sección transversal, perímetro y área específica de los prismas de papa se relacionaron con la fracción de humedad libre mediante los siguientes modelos:

$$A/A_0 = \Delta_A + (1 - \Delta_A)\Psi^{n_A} \quad (10)$$

$$P/P_0 = \Delta_P + (1 - \Delta_P)\Psi^{n_P} \quad (11)$$

$$a/a_0 = (1 + \Delta_a) / (1 + \Delta_a \Psi^{n_a}) \quad (12)$$

Las ecuaciones (10)-(12) se ajustaron a los datos experimentales por medio de regresión no lineal. Al final del procedimiento de regresión se calcularon los intervalos de confianza al 95% de los parámetros ajustados y el coeficiente de determinación generalizado R^2 . Todos los cálculos y procedimientos descritos se realizaron en el software Matlab R2012a (Math Works Inc., Natick, MA, USA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La metodología propuesta permitió obtener la evolución de las características de deformación y encogimiento de la sección transversal de los prismas de papa, según se puede observar en la Figura 1. En esta imagen, se puede verificar que el producto se encoge prácticamente sin cambio de forma hasta una fracción de humedad libre de 0.5, después de lo cual empieza la deformación, que se manifiesta en la contracción de los lados del perfil. La evolución del área de sección transversal, perímetro y área específica de los prismas de papa con respecto al contenido de humedad se muestra en las Figuras 2 a 4, mientras que los resultados del análisis de regresión se presentan en la Tabla 1. En todos los casos los modelos lograron una buena reproducción de los datos ($R^2 > 0.87$). Las Figuras 2 a 4 permiten comprobar que no existe un efecto de la temperatura sobre las características de ED del producto propuesto ($p < 0.05$), y por lo tanto, los datos se agruparon para obtener un solo conjunto de parámetros de regresión para todas las temperaturas de secado. El secado de las muestras resultó en contornos con aproximadamente un 17 y 58% de su área de sección transversal y perímetro iniciales, con un comportamiento no lineal respecto al contenido de humedad. Por otra parte, el área específica registró un aumento no lineal al disminuir el contenido de humedad, incrementándose en aproximadamente un 209%.

CONCLUSIONES

La metodología propuesta permitió caracterizar el comportamiento de ED del alimento estudiado en las direcciones en las que ocurre el transporte de masa, identificándose que la deformación del producto no ocurre desde el inicio del proceso de secado. Adicionalmente, se demostró que el cambio de las características morfológicas del sistema estudiado no muestran un

comportamiento lineal con el contenido de humedad, siendo independientes de la temperatura a la que se lleva a cabo el proceso.

BIBLIOGRAFÍA

Campos-Mendiola, R.; Hernández-Sánchez, H.; Chanona-Pérez, J.J.; Alamilla-Beltrán, L.; Jiménez-Aparicio, A.; Fito, P.; Gutiérrez-López, G.F. 2007. Non-isotropic shrinkage and interfaces during convective drying of potato slabs within the frame of the systematic approach to food engineering systems (SAFES) methodology. *Journal of Food Engineering* 83 (2), 285-292.

Gumeta-Chávez, C.; Chanona-Pérez, J.J.; Mendoza-Pérez, J.A.; Terrés-Rojas, E.; Garibay-Febles, V.; Gutiérrez-López, G.F. 2011. Shrinkage and deformation of *Agave atrovirens* Karw tissue during convective drying: influence of structural arrangements. *Drying Technology* 29 (6), 612-623.

Panyawong, S.; Devahastin, S. 2007. Determination of deformation of a food product undergoing different drying methods and conditions via evolution of a shape factor. *Journal of Food Engineering* 78 (1), 151-161.

Press, W.H.; Teukolsky, S.A.; Vetterling, W.T.; Flannery, B.P. 2007. *Numerical Recipes. The Art of Scientific Computing*. Third edition. Cambridge University Press. New York, USA.

Ruiz-López, I.I.; Ruiz-Espinosa, H.; Arellanes-Lozada, P.; Bárcenas-Pozos, M.E.; García-Alvarado, M.A. 2012. Analytical model for variable moisture diffusivity estimation and drying simulation of shrinkable food products. *Journal of Food Engineering* 108 (3), 427-435.

Yadollahinia, A.; Latifi, A. Mahdavi, R. 2009. New method for determination of potato slice shrinkage during drying. *Computers and Electronics in Agriculture* 65 (2), 268-274.

Tabla 1. Parámetros de regresión de los modelos de área de sección transversal, perímetro y área específica normalizada*

Temperatura (°C)	Δ_A	n_A	R^2
50	0.1455 (0.0412/0.2498)	0.6726 (0.5033/0.8418)	0.9718
60	0.2247 (0.1156/0.3337)	0.8339 (0.5535/1.1143)	0.9567
70	0.1503 (0.0817/0.2189)	0.7084 (0.5925/0.8244)	0.9874
80	0.1511 (0.0716/0.2306)	0.6680 (0.5419/0.7940)	0.9835
50-80	0.1699 (0.1289/0.2108)	0.7153 (0.6408/0.7898)	0.9725
Temperatura (°C)	Δ_P	n_P	R^2
50	0.5752 (0.5144/0.6361)	0.8038 (0.5536/1.0541)	0.9581
60	0.6188 (0.5331/0.7045)	1.0667 (0.4451/1.6882)	0.8740
70	0.5532 (0.5175/0.5889)	0.8581 (0.7133/1.0030)	0.9873
80	0.5635 (0.5387/0.5883)	0.7895 (0.6962/0.8827)	0.9935
50-80	0.5810 (0.5535/0.6085)	0.8735 (0.7458/1.0011)	0.9477
Temperatura (°C)	Δ_a	n_a	R^2
50	2.1919 (1.7913/2.5925)	0.6262 (0.4693/0.7830)	0.9430
60	1.6361 (1.2330/2.0391)	0.7296 (0.4540/1.0052)	0.9110
70	2.3529 (2.0869/2.6189)	0.5298 (0.4203/0.6393)	0.9751
80	2.2328 (1.9494/2.5162)	0.5593 (0.4369/0.6818)	0.9697
50-80	2.0853 (1.9121/2.2585)	0.6080 (0.5319/0.6842)	0.9315

*Los valores en paréntesis indican los intervalos de confianza al 95%.

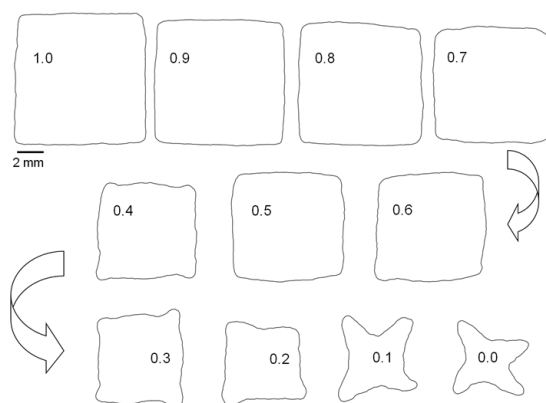


Figura 1. Evolución del perfil de deformación promedio de los prismas de papa a una temperatura de secado de 50°C. Los números en el interior de cada perfil corresponden a su fracción de humedad libre.

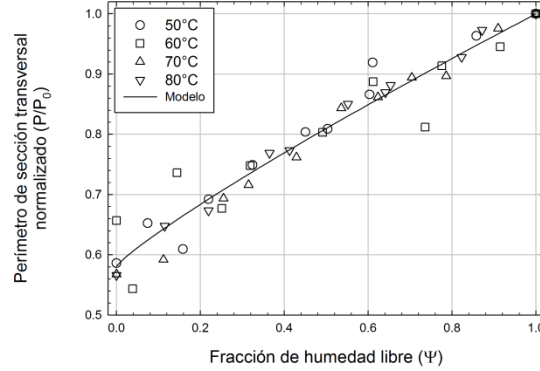


Figura 2. Evolución del área de sección transversal normalizada como función del contenido de humedad en tiras de papa sujetas a secado convectivo.

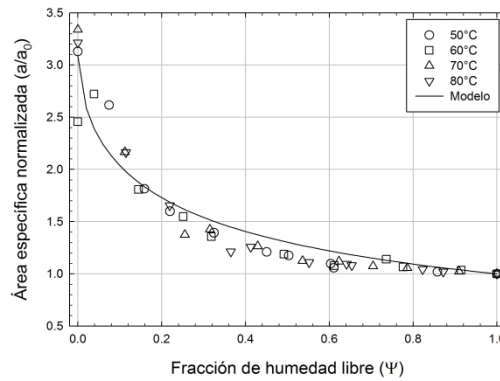


Figura 3. Evolución del perímetro de sección transversal normalizado como función del contenido de humedad en tiras de papa sujetas a secado convectivo.

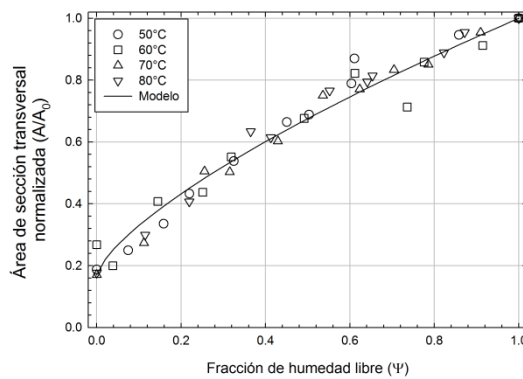


Figura 4. Evolución del área específica normalizada como función del contenido de humedad en tiras de papa sujetas a secado convectivo.

DETERMINACIÓN DE LA DIFUSIVIDAD EFECTIVA DE AGUA EN BERENJENA DURANTE SECADO CONVECTIVO CONSIDERANDO SU DEFORMACIÓN

M. López-Aguirre¹, F.M. Pacheco-Aguirre¹, J.J. Luna-Guevara¹, H. Ruiz-Espinosa¹, M.A. García-Alvarado², I.I. Ruiz-López^{1*}

¹Facultad de Ingeniería Química, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Av. San Claudio y 18 Sur, Ciudad Universitaria, C.P. 72570, Puebla, Puebla, México

²Departamento de Ingeniería Química y Bioquímica, Instituto Tecnológico de Veracruz, Av. M.A. de Quevedo S/N. Col. 5 de Mayo, C.P. 91860, Veracruz, Veracruz, México

*Autor de correspondencia. Email: irving.ruiz@correo.buap.mx

RESUMEN

En este estudio se determinó la difusividad efectiva del agua en berenjena sujeta a secado convectivo considerando su encogimiento y deformación simultáneos. La berenjena se lavó, secó, peló y cortó manualmente en paralelepípedos de dimensiones 1.5 cm × 1.5 cm × 11 cm. El producto resultante se secó con aire a las temperaturas de 45, 60, 75 y 90°C y una velocidad de 2 m/s. Al final del proceso, se tomaron muestras de berenjena de cada temperatura, de las cuales se obtuvo un corte de 1 mm de la zona central, que se fotografió para evaluar la deformación y encogimiento del contorno mediante técnicas de análisis de imagen. Adicionalmente, se resolvió la ecuación de difusión en estado no estacionario en 2D bajo la consideración de resistencia externa despreciable al transporte de masa, donde la geometría del producto se actualizó en cada iteración como función del contenido local de humedad, usando como objetivo el contorno obtenido experimentalmente. Los coeficientes de difusión se obtuvieron por medio de regresión no lineal al modelo propuesto. En todos los casos se logró un excelente reproducción del comportamiento experimental de humedad ($R^2 > 0.99$), además de obtener la evolución del perfil de humedad y deformación del producto. Las difusividades efectivas del agua en la berenjena se estimaron en el rango de $4.17\text{-}8.89 \times 10^{-9}$ m²/s, con diferencias significativas entre las temperaturas de secado ($p < 0.05$), las cuales son similares a los obtenidos en otros estudios donde únicamente se ha considerado el encogimiento del producto.

INTRODUCCIÓN

El secado convectivo es una de las operaciones unitarias más importantes en la ingeniería de alimentos. Esta operación involucra el transporte simultáneo de masa y calor entre el producto y el aire de secado; sin embargo, el transporte de agua en el interior del alimento por difusión se considera usualmente el mecanismo que controla la velocidad del proceso (Ruiz-López *et al.*, 2013). Actualmente el estudio de los procesos de transporte de masa y calor (TMC) durante el secado convectivo se abordan casi exclusivamente considerando un producto que no experimenta encogimiento y deformación, a pesar de que los productos alimenticios durante su procesamiento sufren estos fenómenos, ocasionado generalmente por el colapso de las paredes celulares vacías por la pérdida parcial o total de agua. La correcta modelación de los procesos de TMC es esencial para la correcta estimación de las propiedades de transporte (PT) y el diseño de los procesos (Ruiz-López *et al.*, 2012) El presente trabajo trata de aplicar un procedimiento novedoso para evaluar la deformación y el encogimiento de alimentos sujetos a procesos de secado e implementarlos en un modelo matemático que represente fehacientemente esta operación. Estas y otras características del presente trabajo no han sido estudiadas a profundidad dado el coste computacional que esto representaba, sin embargo, el avance tecnológico actual lo permite, con lo cual se tendrá un panorama mucho más amplio en la estimación de las PT de masa y calor.

MATERIALES Y MÉTODOS

Experimentos de secado. Se obtuvieron las curvas de secado convectivo de berenjena usando aire caliente a las temperaturas de 45, 60, 75 y 90°C y una velocidad de 2 m/s. La berenjena se lavó, secó, peló y cortó manualmente en paralelepípedos de dimensiones 1.5 cm × 1.5 cm × 11 cm. Las dimensiones usadas se seleccionaron para favorecer la pérdida de agua, encogimiento y deformación a lo largo de las dimensiones de menor tamaño. El producto se colocó sobre una malla de acero inoxidable de tal forma que el aire fluyera de forma paralela a la dimensión de mayor tamaño de las muestras. La evolución de la humedad se determinó a partir del registro continuo de la pérdida de peso del producto. Adicionalmente, los datos de humedad obtenidos se emplearon para generar una curva de velocidad de secado. El contenido de humedad inicial de la berenjena se determinó por medio de secado en estufa a 105°C hasta

alcanzar un peso constante. La humedad inicial del producto se determinó como 94.23 ± 0.08 g agua/100 g producto.

Determinación de las características de deformación del producto. Al finalizar el proceso, se cortó una lámina de 1 mm de espesor de la porción central de los prismas de berenjena deformados en cada una de las temperaturas estudiadas. Los prismas se fotografiaron y la información de color de la imagen resultante se redujo mediante análisis de conglomerados (Press *et al.*, 2007). Se eliminó el fondo de las imágenes con colores reducidos y se transformaron a escala de grises. Esta última imagen se usó para estimar el contorno de la lámina. Los contornos resultantes se alinearon y promediaron para obtener un solo perfil deformado representativo del producto. El contorno promedio se utilizó como objetivo a satisfacer en la simulación del proceso de secado.

Modelación de las curvas de secado. Debido a las dimensiones de las muestras se puede despreciar la pérdida de humedad a lo largo de la dimensión de mayor tamaño. De esta forma, el transporte de agua en 2D en el interior del producto se representó por medio del modelo adimensional

$$\frac{\partial \psi}{\partial Fo} = \frac{\partial^2 \psi}{\partial \xi^2} + \frac{1}{\kappa^2} \frac{\partial^2 \psi}{\partial \zeta^2} \quad (1)$$

$$\psi = \frac{X - X_e}{X_0 - X_e}; \quad Fo = \frac{Dt}{Y^2}; \quad \xi = \frac{y}{Y}; \quad \zeta = \frac{z}{Z}; \quad \kappa = \frac{Z}{Y} \quad (2)$$

El modelo propuesto se resolvió mediante el método de líneas (MDL), produciendo un sistema de ecuaciones diferenciales ordinarias con Fo como variable independiente a partir de la ecuación original en derivadas parciales. Para este propósito se usó una representación discreta de las derivadas espaciales para cada nodo, obtenida mediante un esquema de diferencias finitas generalizado. La ecuación se resolvió bajo la consideración de resistencia externa despreciable al transporte de masa, de tal forma que la superficie del producto se consideró que alcanzaba instantáneamente su humedad de equilibrio. La evolución de la humedad promedio se calculó mediante la integración de las humedades locales en el volumen del cuerpo.

Estimación de la difusividad efectiva. Las curvas de secado experimentales se ajustaron por medio de regresión no lineal a la solución adimensional promedio obtenida mediante simulación. Al final del procedimiento de regresión se calcularon los intervalos de confianza al

95% de los parámetros ajustados y el coeficiente de determinación generalizado R^2 . Todos los cálculos y procedimientos descritos se realizaron en el software Matlab R2012a (Math Works Inc., Natick, MA, USA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las curvas de secado de berenjena se presentan en las Figuras 1 y 2, en representación normal y semilogarítmica, respectivamente. Esta última representación permite observar una desviación del comportamiento ideal de línea recta en un producto que no se encoge. El proceso estuvo controlado en todos los casos por la difusión interna de humedad, según se hace evidente en la curva de secado (Figura 3), donde la velocidad de pérdida de agua empieza a disminuir desde el inicio del proceso, obteniéndose mayores velocidad a las temperaturas más altas de secado. La simulación de los perfiles de humedad en la berenjena durante el transcurso del secado se presentan en la Figura 4. Esta simulación permite observar la manera en la que se va deformando el producto durante el secado para diferentes contenidos de humedad promedio, al mismo tiempo que permite identificar las zonas del alimento que se secan más rápido y que son más susceptibles a daño térmico o a generar grietas y fisuras. La integración de estos perfiles de humedad da lugar a la curva mostrada en la Figura 5, a la cual se ajustaron los datos experimentales produciendo las líneas mostradas en las Figuras 1 y 2, con una excelente reproducción del comportamiento de los datos originales ($R^2 > 0.99$). Las difusividades efectivas del agua en la berenjena se estimaron en el rango de $4.17-8.89 \times 10^{-9}$ m²/s, con diferencias significativas entre las temperaturas de secado ($p < 0.05$) (Tabla 1), las cuales son similares a los obtenidos en otros estudios donde únicamente se ha considerado el encogimiento del producto (García-Pérez et al.; 2011; Puig *et al.*, 2012).

CONCLUSIONES

El modelo difusivo propuesto con simulación simultánea del encogimiento y deformación produjo una excelente descripción de las curvas de secado de berenjena, identificándose coeficientes de difusión similares a los reportados en otros trabajos para el mismo producto. Se requieren estudios adicionales para evaluar los coeficientes de difusión únicamente considerando

el encogimiento del producto usando los mismos datos para evaluar el efecto que tiene la deformación sobre el cálculo de esta propiedad de transporte de masa.

Nomenclatura

- F_0 número de Fourier de transporte de masa (adimensional)
 D difusividad efectiva del agua en el alimento (m^2/s)
 X humedad en base seca (kg agua/kg sólidos secos)
 Y longitud característica de difusión en la dirección y
 Z longitud característica de difusión en la dirección z
 κ proporción de dimensiones en las direcciones y y z
 ψ fracción de humedad libre (adimensional)
 ξ coordenada adimensional en la dirección y
 ζ coordenada adimensional en la dirección z

BIBLIOGRAFÍA

- García-Pérez, J.V.; Ozuna, C.; Ortuño, C.; Cárcerl, J.A.; Mulet, A. 2011. Modeling ultrasonically assisted convective drying of eggplant. *Drying Technology* 29 (13), 1499-1509.
- Press, W.H.; Teukolsky, S.A.; Vetterling, W.T.; Flannery, B.P. 2007. *Numerical Recipes. The Art of Scientific Computing*. Third edition. Cambridge University Press. New York, USA.
- Puig, A.; Perez-Munuera, I.; Carcel, J.A.; Hernando, I.; Garcia-Perez, J.V. 2012. Moisture loss kinetics and microstructural changes in eggplant (*Solanum melongena* L.) during conventional and ultrasonically assisted convective drying. *Food and Bioproducts Processing* 90 (4), 624-632.
- Ruiz-López, I.I.; Ruiz-Espinosa, H.; Arellanes-Lozada, P.; Bárcenas-Pozos, M.E.; García-Alvarado, M.A. 2012. Analytical model for variable moisture diffusivity estimation and drying simulation of shrinkable food products. *Journal of Food Engineering* 108 (3), 427-435.
- Ruiz-López, I.I.; Ruiz-Espinosa, H.; Pacheco-Aguirre, F.M.; García-Alvarado, M.A. 2013. Drying of food products shaped as longitudinal sections of solid and anular cylinders: modeling and simulation. *Drying Technology* 31 (10), 1148-1159.

Tabla 1. Difusividad efectiva del agua en berenjena a diferentes temperaturas de secado

Temperatura (°C)	$D \times 10^{-10} \text{ (m}^2/\text{s)}^1$	R^2
45	4.1689 (4.0037/4.3341)	0.9946
60	5.7490 (5.4499/6.0482)	0.9923
75	7.2196 (6.7536/7.6857)	0.9899
90	8.8922 (8.3201/9.4644)	0.9905

¹Los valores en paréntesis representan los intervalos de confianza al 95%.

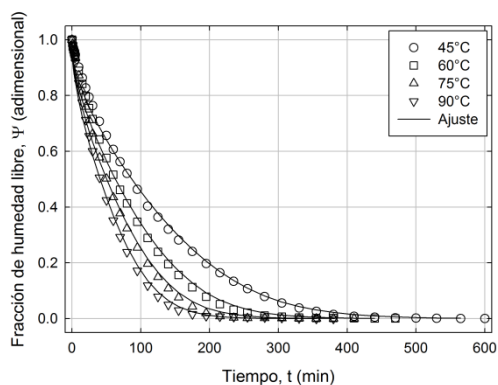


Figura 1. Curvas de secado de berenjena experimentales (puntos) y ajustadas (líneas) a diferentes temperaturas.

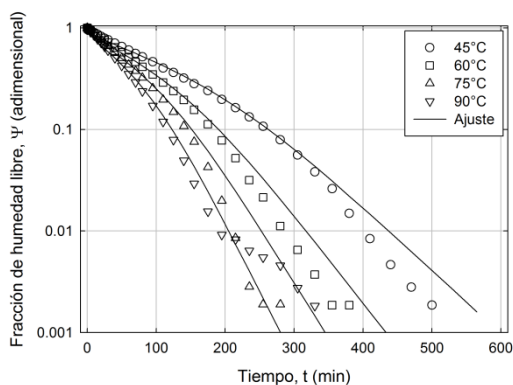


Figura 2. Representación semilogarítmica de las curvas de secado de berenjena experimentales (puntos) y ajustadas (líneas) a diferentes temperaturas.

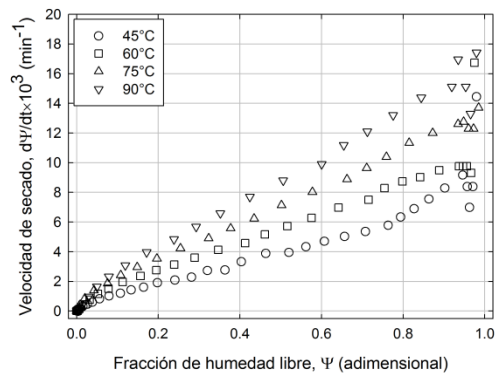


Figura 3. Curvas de velocidad de secado experimentales a diferentes temperaturas.

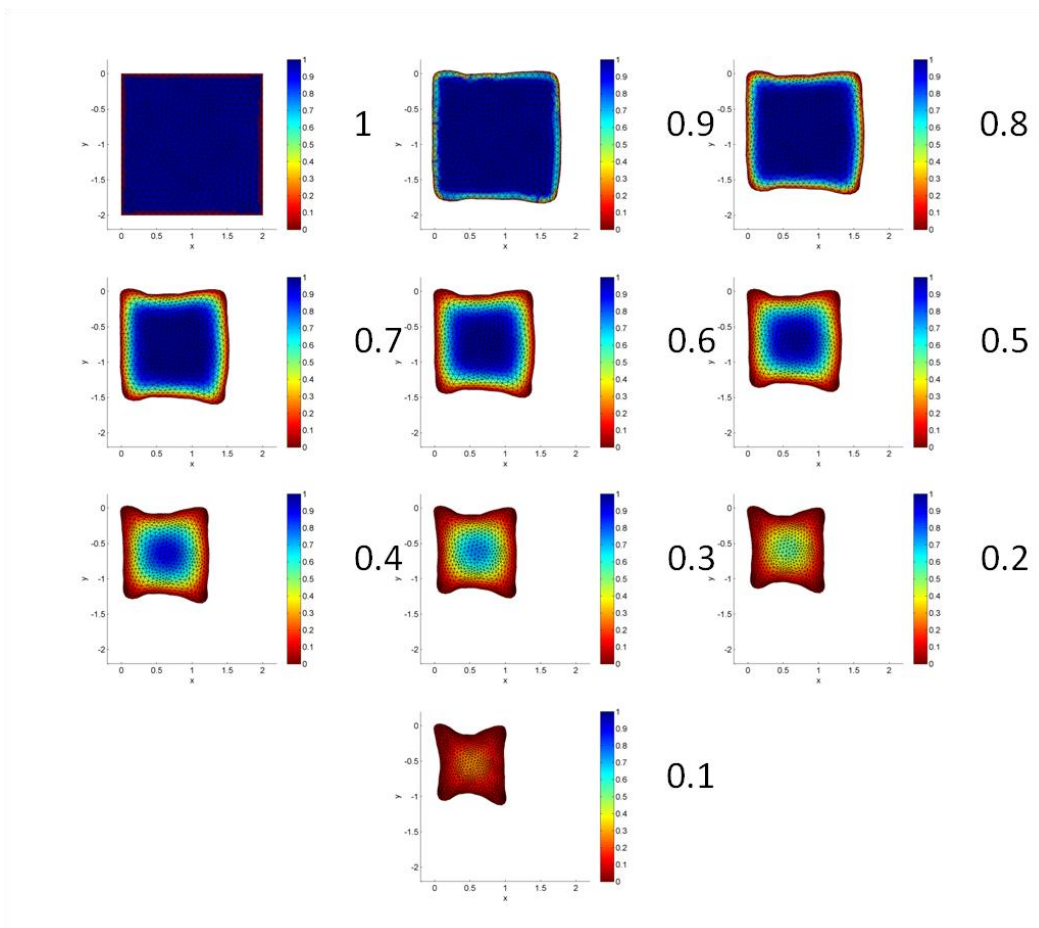


Figura 4. Simulación de los perfiles de fracción de humedad libre en berenjena considerando su encogimiento y deformación. El número a la derecha de cada figura corresponde a su fracción de humedad libre promedio.

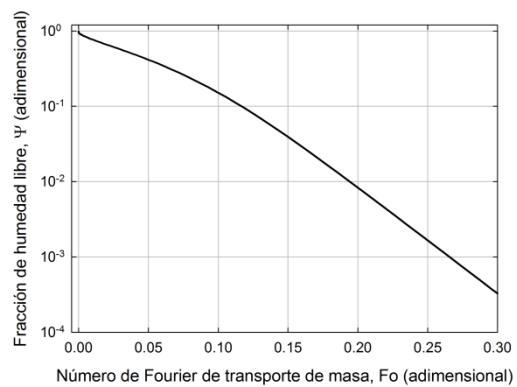


Figura 5. Simulación adimensional de la humedad promedio considerando los datos de deformación de berenjena.

MODELACIÓN Y SIMULACIÓN DEL PROCESO DE DESHIDRATACIÓN OSMÓTICA CON CONDICIÓN DE FRONTERA TIPO CAUCHY

G.D. Torres-Icelo¹, H. Ruiz-Espinosa¹, M.A. García-Alvarado², I.I. Ruiz-López^{1*}

¹Facultad de Ingeniería Química, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Av. San Claudio y 18 Sur, Ciudad Universitaria, C.P. 72570, Puebla, Puebla, México

²Departamento de Ingeniería Química y Bioquímica, Instituto Tecnológico de Veracruz, Av. M.A. de Quevedo S/N. Col. 5 de Mayo, C.P. 91860, Veracruz, Veracruz, México

*Autor de correspondencia. Email: irving.ruiz@correo.buap.mx

RESUMEN

En este estudio se propone un modelo difusional donde el transporte de masa en la superficie del producto considera la resistencia a la transferencia de masa en el medio osmótico produciendo una condición de frontera tipo Cauchy. La representación adimensional del modelo da lugar a un nuevo número de Biot que permite la estimación del mecanismo dominante. El modelo se validó a través de la estimación de la difusividad efectiva del agua y soluto usando cortes de zanahoria como alimento modelo. El producto se cortó en geometrías de secciones de cilindros (cuarto, medio, medio anular y entero) de 2.6 cm de diámetro y diferentes largos (0.5-3 cm). Las muestras resultantes se sumergieron en soluciones de NaCl (15 g soluto/100 g solución) a 40°C y 125 rpm, determinándose la pérdida de agua (PA) y ganancia de sólidos (GS) como respuestas. Las difusividades se obtuvieron por medio de regresión no lineal al modelo propuesto, resuelto numéricamente. Se determinó que el proceso estuvo controlado por la difusión interna de agua y soluto, cuyas difusividades se determinaron en los rangos de $2.25\text{-}3.62 \times 10^{-9}$ y $0.47\text{-}3.00 \times 10^{-9}$ m²/s, respectivamente. Los niveles de deshidratación e impregnación correspondientes fueron de 0.19-0.22 g agua/g producto fresco y 0.09-0.14 g soluto/g producto fresco. Los resultados mostraron que el modelo propuesto es capaz de describir satisfactoriamente las curvas experimentales de PA ($R^2 > 0.9231$) y GS ($R^2 > 0.8294$), permitiendo una estimación confiable de las difusividades en productos con las geometría estudiadas.

INTRODUCCIÓN

La deshidratación osmótica (DO) es un proceso de transferencia de masa donde los alimentos se sumergen en soluciones hipertónicas para lograr una reducción parcial de su

contenido de humedad. La alta presión osmótica de la solución concentrada proporciona la fuerza impulsora para la remoción de agua y, debido a que las membranas celulares actúan como películas semipermeables, la PA es acompañada por la transferencia simultánea del soluto hacia el producto. Esta operación ha ganado una gran aceptación en el procesamiento de frutas y vegetales ya que ayuda a mejorar características de calidad como color, textura y sabor del producto final. Un buen entendimiento de las velocidades de transporte de masa para la ganancia de sólidos y pérdida de agua así como de los niveles finales de deshidratación e impregnación es esencial para el diseño correcto de esta operación. Varios autores han usado la ecuación de difusión en estado no estacionario para representarla, considerando que la superficie del producto alcanza instantáneamente el equilibrio, o sea condiciones de frontera tipo Dirichlet (Singh *et al.*, 2007; Souraki *et al.*, 2012; Herman-Lara *et al.*, 2013). Esta consideración establece implícitamente que la difusión interna de agua y soluto son los únicos mecanismos que controlan la velocidad del proceso. El objetivo de este estudio fue desarrollar un nuevo modelo para este proceso con una condición de frontera tipo Cauchy para eliminar la necesidad de considerar un mecanismo controlante de transporte de masa y usarlo para estimar los coeficientes de difusión y niveles de impregnación-deshidratación en la modelación de datos obtenidos durante el procesamiento de zanahoria en soluciones de cloruro de sodio.

MATERIALES Y MÉTODOS

Experimentos de DO. La teoría desarrollada en este trabajo se validó a través de la estimación de la difusividad efectiva del agua y soluto usando cortes de zanahoria como alimento modelo. El producto se cortó en geometrías de secciones de cilindros (cuarto, medio, medio anular y entero) de 2.6 cm de diámetro y diferentes largos (0.5-3 cm) (Tabla 1). Las muestras resultantes se sumergieron en soluciones de NaCl (15 g soluto/100 g solución) a 40°C y 125 rpm, determinándose la PA y GS como respuestas. En este estudio se consideró despreciable la cantidad de sólidos lixiviados de la zanahoria durante su DO. Consecuentemente, la sal ganada en el producto se estimó a partir de las diferencias en sólidos secos entre las muestras frescas y procesadas. Esta es una consideración ampliamente aceptada en otros estudios sobre la DO de alimentos (Souraki *et al.*, 2012).

Modelación de las curvas de DO. El siguiente modelo adimensional se propuso para la descripción matemática de las curvas de DO de agua o soluto

$$\partial(\rho_P X) = \nabla \cdot [D \nabla(\rho_P X)] \quad (1)$$

$$-D \nabla(\rho_P X_i) = h \rho_{sw} (Y_i - Y) \quad (2)$$

donde ρ_P es la densidad del producto, X es el fracción másica en el alimento de la sustancia que se difunde, D es el coeficiente de difusión, h es el coeficiente de transporte de masa por convección, ρ_{sw} es la densidad de la solución, Y es la fracción másica en la solución de la sustancia que se difunde y el subíndice i representa la interfase producto-solución. Este modelo se puede escribir en la siguiente forma adimensional,

$$\partial \psi = \nabla \cdot [\nabla \psi] \quad (3)$$

$$Bi_m \psi_i - \nabla^* \psi_i = 0 \quad (4)$$

$$\psi = (X - X_e)/(X_0 - X_e); \quad Bi_m = h \rho_{sw} / [\lambda(D/L)\rho_P]; \quad \lambda = X/Y \quad (5)$$

donde ψ es la concentración adimensional, Bi_m es el número de Biot másico y λ es un coeficiente de partición del soluto que se difunde entre las fases producto-solución. La representación adimensional propuesta permite la simulación de la operación de DO sin necesidad de considerar un mecanismo dominante de transporte de masa, donde la ecuación (4) es una frontera de Cauchy.

Solución del modelo. La ecuación de difusión en estado no estacionario se resolvió en coordenadas cilíndricas por medio del método de líneas usando 100 nodos en cada una de las direcciones de transporte de masa. Los perfiles de concentración resultantes se integraron para obtener la pérdida de agua y ganancia de sólidos promedio del alimento. Durante la solución del modelo, los coeficientes de difusión y los valores de PA y GS en equilibrio se obtuvieron por medio de regresión no lineal a los datos experimentales. Al final del procedimiento de regresión se calcularon los intervalos de confianza al 95% de los parámetros ajustados y el coeficiente de determinación generalizado R^2 . Todos los cálculos y procedimientos descritos se realizaron en el software Matlab R2012a (Math Works Inc., Natick, MA, USA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los datos experimentales de PA se encuentran graficados en la Figura 1, mientras que los resultados correspondientes para la GS se encuentran en la Figura 2. El resumen del análisis de regresión se encuentra en las Tablas 2 y 3, observándose una buena correspondencia entre los

resultados experimentales y predichos en todos los casos ($R^2 > 0.82$). Los coeficientes de difusión para agua y soluto se determinaron en los rangos de $2.25-3.62 \times 10^{-9}$ y $0.47-3.00 \times 10^{-9}$ m^2/s , respectivamente. Estos valores son comparables a los encontrados en literatura de 35 a $55^\circ C$ también para zanahoria con difusividades para agua y soluto entre $1.59-2.08 \times 10^{-9}$ y $1.18-1.65 \times 10^{-9}$ m^2/s , respectivamente (Singh *et al.*, 2007). Se encontró que la velocidad de difusión de agua fue mayor que la del cloruro de sodio en todas las geometrías estudiadas (de 1.2 a 6 veces más grande). Por otra parte, los niveles de deshidratación e impregnación correspondientes variaron entre 0.19-0.22 g agua/g producto fresco y 0.09-0.14 g soluto/g producto fresco. Las condiciones experimentales estudiadas favorecieron una PA de 1.74 a 2.16 veces mayor que la GS. Bajo las condiciones experimentales propuestas el número de Biot másico se encontró en el rango de 257 a 1633, lo cual indica que el proceso estuvo controlado por la difusión interna de agua y cloruro de sodio.

CONCLUSIONES

Se ha desarrollado un nuevo modelo que permite estimar las propiedades de transporte de masa durante la DO de alimentos. El modelo se validó durante la DO de zanahoria en diferentes geometrías derivadas del sistema coordenado cilíndrico, logrando una buena reproducción del comportamiento experimental. De esta forma, el modelo propuesto representa una forma confiable de establecer el mecanismo de transporte de masa que controla la velocidad del proceso de DO.

BIBLIOGRAFÍA

- Herman-Lara, E.; Martínez-Sánchez, C.E.; Pacheco-Angulo, H.; Carmona-García, R.; Ruiz-Espinosa, H.; Ruiz-López, I.I. 2013. Mass transfer modeling of equilibrium and dynamic periods during osmotic dehydration of radish in NaCl solutions. *Food and Bioproducts Processing* 91(3), 216-224.
- Singh, B.; Kumar, A.; Gupta, A.K. 2007. Study of mass transfer kinetics and effective diffusivity during osmotic dehydration of carrot cubes. *Journal of Food Engineering* 79 (2), 471-480.
- Souraki, B.A.; Ghaffari, A.; Bayat, Y., 2012. Mathematical modeling of moisture and solute diffusion in the cylindrical green bean during osmotic dehydration in salt solution. *Food and Bioproducts Processing* 90 (1), 64-71.

Tabla 1. Geometrías usadas durante la DO de zanahoria

Clave	Geometría	Dimensiones
CCN	Cilindro completo	2.6 cm diámetro, N cm longitud ($N = 0.5, 1, 1.5, 2$ y 3 cm)
CDC	Cuarto de cilindro	2.6 cm diámetro, 3 cm de longitud
MDC	Medio cilindro	2.6 cm diámetro, 3 cm de longitud
MCA	Medio cilindro anular	2.6 cm diámetro externo, 1.3 cm de diámetro interno, 3 cm de longitud

Tabla 2. Resultados del análisis de regresión no lineal a los datos de pérdida de agua

Geometría	$D_a \times 10^{-9}$ (m ² /s) ¹	PA_{∞}	R^2
CDC	3.0115 (2.6450/3.3781)	0.2245 (0.2202/0.2289)	0.9735
MDC	3.3187 (2.8321/3.8054)	0.2074 (0.2017/0.2130)	0.9663
MCA	3.2266 (2.5007/3.9524)	0.2221 (0.2140/0.2302)	0.9231
CC3	3.6212 (2.6553/4.5870)	0.1981 (0.1842/0.2121)	0.9567
CC2	2.8871 (2.2664/3.5078)	0.1992 (0.1880/0.2104)	0.9714
CC1.5	3.2480 (2.3969/4.0990)	0.1977 (0.1863/0.2091)	0.9308
CC1	3.5475 (2.7656/4.3294)	0.1915 (0.1841/0.1989)	0.9242
CC0.5	2.2510 (1.8863/2.6156)	0.1981 (0.1934/0.2029)	0.9648

¹Los valores en paréntesis representan los intervalos de confianza al 95%

Tabla 3. Resultados del análisis de regresión no lineal a los datos de ganancia de sólidos

Geometría	$D_s \times 10^{-9}$ (m ² /s) ¹	GS_{∞}	R^2
CDC	1.1866 (0.9196/1.4535)	0.1162 (0.1101/0.1223)	0.9475
MDC	1.2322 (0.7039/1.7604)	0.1122 (0.0985/0.1259)	0.9081
MCA	1.8323 (1.1273/2.5373)	0.1491 (0.0636/0.2346)	0.8294
CC3	3.0009 (1.5060/4.4958)	0.0916 (0.0787/0.1045)	0.9027
CC2	0.4795 (-0.1997/1.1588)	0.1492 (0.0636/0.2347)	0.9077
CC1.5	1.5840 (0.7486/2.4193)	0.1008 (0.0848/0.1168)	0.9174
CC1	0.8433 (0.3428/1.3437)	0.1100 (0.0892/0.1309)	0.8953
CC0.5	0.6276 (0.4300/0.8252)	0.0978 (0.0904/0.1052)	0.8838

¹Los valores en paréntesis representan los intervalos de confianza al 95%

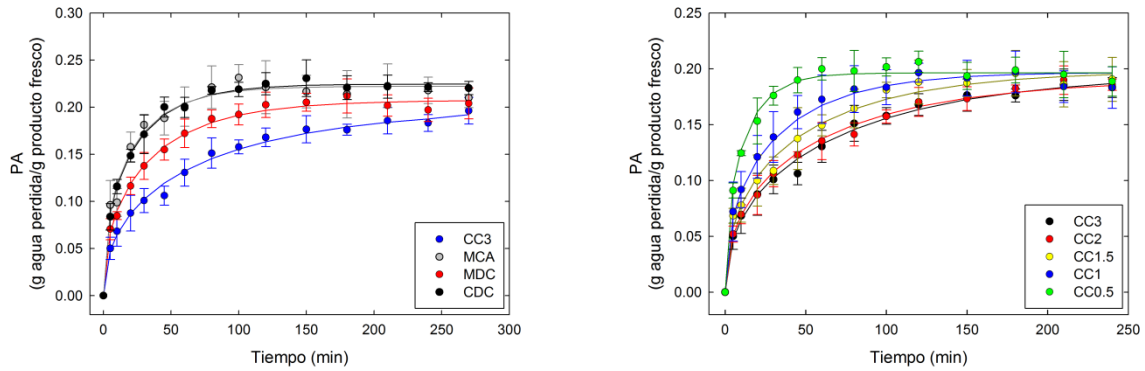


Figura 1. Cinéticas experimental (puntos) y modelada (línea continua) de la pérdida de agua durante el proceso de DO de zanahoria en cortes longitudinales de cilindros (izquierda) y cilindros con diferentes longitudes (derecha) en cloruro de sodio a 40°C.

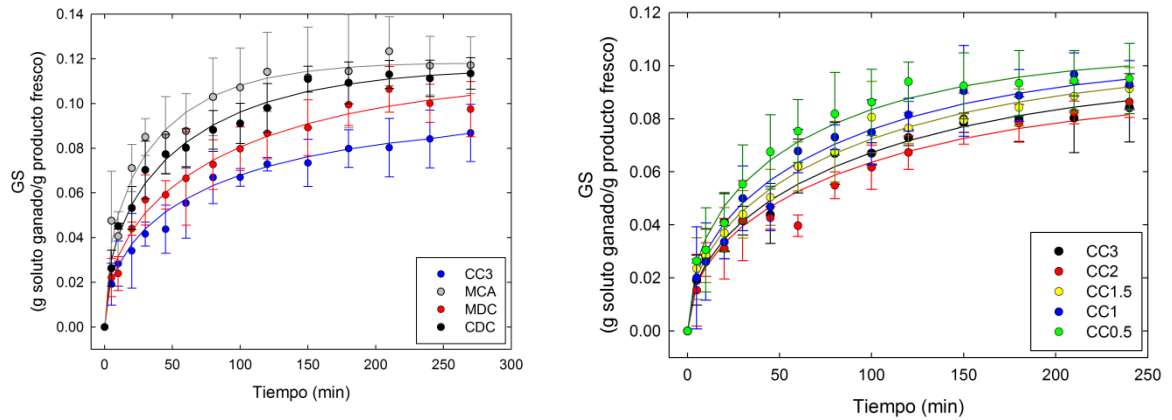


Figura 2. Cinéticas experimental (puntos) y modelada (línea continua) de la ganancia de sólidos durante el proceso de DO de zanahoria en cortes longitudinales de cilindros (izquierda) y cilindros con diferentes longitudes (derecha) en cloruro de sodio a 40°C.

MODELACIÓN Y SIMULACIÓN DE LA TRANSFERENCIA DE AGUA DURANTE EL SECADO CONVECTIVO DE ALIMENTOS CONSIDERANDO SU ENCOGIMIENTO Y DEFORMACIÓN

B.O. García-Carrasco¹, F.M. Pacheco-Aguirre¹, M.L. Luna-Guevara¹, H. Ruiz-Espinosa¹, M.A. García-Alvarado², I.I. Ruiz-López^{1*}

¹Facultad de Ingeniería Química, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Av. San Claudio y 18 Sur, Ciudad Universitaria, C.P. 72570, Puebla, Puebla, México

²Departamento de Ingeniería Química y Bioquímica, Instituto Tecnológico de Veracruz, Av. M.A. de Quevedo S/N. Col. 5 de Mayo, C.P. 91860, Veracruz, Veracruz, México

*Autor de correspondencia. Email: irving.ruiz@correo.buap.mx

RESUMEN

En este estudio se propone un modelo de secado que incluye el encogimiento y deformación simultáneos del producto. La ecuación de difusión adimensional en estado no estacionario se resolvió numéricamente bajo la consideración de resistencia externa despreciable al transporte de masa por el método de líneas, usando un esquema de diferencias finitas generalizado para las derivadas espaciales donde la geometría del producto se aproximó por una malla no ortogonal triangular en 2D. El algoritmo de deformación estima las nuevas posiciones de los vértices durante la simulación como función del contenido local de humedad basados en la apariencia final deformada del producto. El modelo desarrollado se aplicó al análisis de datos de secado convectivo de tiras de papa (0.8 cm × 0.95 cm × 0.95 cm) obtenidas a 50, 60, 70 and 80°C con una velocidad de aire de 2 m/s. La deformación del contorno del producto se evaluó experimentalmente y se describió por un modelo polar. Bajo tales condiciones experimentales, los coeficientes de difusión del agua en el producto se encontraron en el rango de $2.07\text{-}3.00 \times 10^{-10}$ m²/s con diferencias significativas entre las temperaturas de secado ($p < 0.05$).

INTRODUCCIÓN

El secado es la operación unitaria más común y diversa de la ingeniería. Es uno de los métodos de conservación más antiguo y uno de los más importantes en la industria de procesamiento de alimentos, y básicamente consiste en eliminar el agua u otro líquido de un material sólido con el objetivo de reducir el contenido del mismo. Se ha establecido que el encogimiento del alimento es esencial para la correcta simulación del proceso de secado y una estimación

confiable de la difusividad efectiva del agua en el producto (Ruiz-López *et al.*, 2013). Sin embargo, los alimentos no sólo se encogen durante el secado sino que también pueden deformarse de manera considerable. La evaluación y predicción de la deformación representa un gran reto numérica y experimentalmente. En la mayoría de los estudios que se realizan sobre el proceso de secado convectivo de los alimentos se considera al encogimiento y la deformación de estos como insignificante; sin embargo, ambos fenómenos intervienen en la estimación de las propiedades fisicoquímicas y de transporte del alimento de estudio, como por ejemplo en la estimación de la difusividad efectiva del agua, la porosidad o densidad. En el caso específico de la difusividad del agua, esta modifica su comportamiento debido a que la distancia que debe recorrer el agua desde la matriz del alimento hacia la interfase aire-alimento se modifica constantemente al transcurrir el tiempo de secado (Ruiz-López *et al.*, 2007). La correcta estimación de las propiedades de transporte de masa en productos alimentarios es indispensable para diseñar procesos de secado más eficientes y entender mejor los cambios que ocurren durante dicho proceso, por lo que el presente trabajo trata de la estimación de la difusividad efectiva del agua en alimentos considerando la deformación del producto, empleando a la papa como sujeto de estudio. En este trabajo se propone una metodología para modelar y simular el proceso de secado considerando el encogimiento y deformación del producto.

MATERIALES Y MÉTODOS

Desarrollo teórico. La ecuación de transporte de masa por difusión en 2D en un producto homogéneo e isotrópico con difusividad constante se puede escribir en la forma adimensional

$$\frac{\partial \psi}{\partial Fo} = \frac{\partial^2 \psi}{\partial \xi^2} + \frac{1}{\kappa^2} \frac{\partial^2 \psi}{\partial \zeta^2} \quad (1)$$

$$\psi = \frac{X - X_e}{X_0 - X_e}; \quad Fo = \frac{Dt}{Y^2}; \quad \xi = \frac{y}{Y}; \quad \zeta = \frac{z}{Z}; \quad \kappa = \frac{Z}{Y} \quad (2)$$

donde D es el coeficiente de difusión, t es el tiempo, X es la humedad del producto en base seca, Fo es el número de Fourier de transporte de masa, ψ es la fracción de humedad libre, ξ y ζ son las coordenadas adimensionales, Y y Z son las longitudes características de difusión y κ controla la relación de aspecto del producto. La ecuación (1) se puede resolver mediante el método de líneas (MDL), produciendo un sistema de ecuaciones diferenciales ordinarias con Fo

como variable independiente a partir de la ecuación original en derivadas parciales usando una representación discreta de las derivadas espaciales para cada nodo. De forma usual, las derivadas espaciales se pueden aproximar por medio de fórmulas de diferencias finitas si la geometría del producto se encuentra formada por celdas o mallas con forma de cuadriláteros con lados ortogonales en el sistema coordenado curvilíneo seleccionado. Sin embargo, si el producto es descrito por una malla irregular o si la malla se debe deformar durante la simulación, entonces los esquemas de diferencias finitas tradicionales no son aplicables. Por lo tanto, se debe aplicar un enfoque diferente para evaluar las derivadas espaciales, el cual se describe a continuación.

Consideremos que un producto es aproximado por un modelo M de malla triangular 2D que consiste de N nodos o vértices representados por $v_i \in M$ ($i=1,2,\dots,N$). Los vecinos de primer nivel del vértice v_i se definen como el conjunto Ω_{1i} de tamaño N_{1i} que contiene todos los vértices conectados a v_i por un segmento:

$$\Omega_{1i} \equiv \Omega_{1i}(v_i) = \{v_j \mid g(v_i, v_j) = 1; i, j = 1, 2, \dots, N\} \quad (3)$$

$$g(v_i, v_j) = \begin{cases} 1 & \text{si los vértices } v_i \text{ y } v_j \text{ están conectados} \\ 0 & \text{de otra forma} \end{cases} \quad (4)$$

De forma similar, los vecinos de segundo nivel del vértice v_i se definen como el conjunto Ω_{2i} de tamaño N_{2i} que contiene todos los vértices v_k conectados al conjunto de vecinos de primer nivel de v_i ,

$$\Omega_{2i} \equiv \Omega_{2i}(v_i) = \{v_k \mid g(v_j, v_k) = 1; i, j, k = 1, 2, \dots, N\} \quad (5)$$

Una representación gráfica de los conceptos recientemente introducidos se presenta en la Figura 1. Para poder aplicar el MDL al problema actual se debe evaluar la segunda derivada espacial de la humedad en cada vértice. La serie de Taylor se puede aplicar para aproximar los valores de la función ψ_j en v_i para cada vértice $v_j \in \Omega_{1i}$. Se puede obtener la siguiente serie para una función de dos variables $\psi(\xi, \zeta)$ si se usa una aproximación de segundo orden (por $\psi_j \in \Omega_{1i}$),

$$\psi_j \approx \psi_i + \psi_{\xi i} \xi_{ji} + \psi_{\zeta i} \zeta_{ji} + \frac{1}{2} u_{\xi\xi i} \xi_{ji}^2 + \frac{1}{2} u_{\zeta\zeta i} \zeta_{ji}^2 + \psi_{\xi\zeta i} \xi_{ji} \zeta_{ji} \quad (6)$$

$$\xi_{ji} = x_j - x_i; \quad \zeta_{ji} = y_j - y_i; \quad (7)$$

Por lo tanto, todas las $\psi_j \in \Omega_{1i}$ son descritas por una función lineal de las derivadas desconocidas en \mathbf{v}_i , las cuales pueden ser estimadas por medio de regresión lineal ordinaria o ponderada (RLP) para satisfacer

$$\sum_{j \in \Omega_{1i}} w_{ij}^2 (\psi_j - \psi_i)^2 \rightarrow \min \quad (8)$$

El problema de RLP para cada \mathbf{v}_i involucra la solución (en el sentido de mínimos cuadrados) del sistema

$$\mathbf{C}_i \mathbf{D}_i = \mathbf{U}_i \quad (9)$$

$$\mathbf{D}_i^T = [\psi_{xi} \quad \psi_{yi} \quad \psi_{xxi} \quad \psi_{yyi} \quad \psi_{xyi}] \in R^{1 \times 5} \quad (10)$$

$$\mathbf{C}_i = \begin{bmatrix} \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ w_{ij}^2 x_{ji} & w_{ij}^2 y_{ji} & w_{ij}^2 x_{ji}^2 & w_{ij}^2 y_{ji}^2 & w_{ij}^2 x_{ji} y_{ji} \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \end{bmatrix} \in R^{N_{1i} \times 5} \quad (11)$$

$$\mathbf{U}_i^T = [\dots \quad w_{ij}^2 \psi_j - w_{ij}^2 \psi_i \quad \dots] \in R^{N_{1i} \times 1} \quad (12)$$

Algoritmo de deformación. Sea λ_{ij} la distancia que se acorta a lo largo de los ejes ξ o ζ debido a la pérdida de agua entre los vértices \mathbf{v}_i (para $i=1,2,\dots,N$) y $\mathbf{v}_j \in \Omega_{1i}$, donde $\lambda_{ij} = f(\psi_i, \psi_j)$ se relaciona con las posiciones deformadas desconocidas ξ_i y ξ_j por

$$\xi_{ij} = \xi_j - \xi_i \quad (13)$$

Cada ξ_{ij} representa una distancia objetivo que debe ser satisfecha por las coordenadas de la malla deformada y puede ser calculada una vez que los contenidos locales de humedad son actualizados. El desplazamiento total esperado ε_i a lo largo de los ejes ξ o ζ para el vértice i es

$$\varepsilon_i = \sum_{j \in \Omega_{1i}} \xi_{ij} = \sum_{j \in \Omega_{1i}} \xi_j - \xi_i \quad (14)$$

Las ecuaciones de desplazamiento total para cada vértice en la malla se pueden combinar como

$$\mathbf{C}\mathbf{P} = \mathbf{E} \quad (15)$$

$$\mathbf{E}^T = [\varepsilon_1 \quad \varepsilon_2 \quad \dots \quad \varepsilon_N] \in R^{1 \times N} \quad (16)$$

$$\mathbf{Z}^T = [\xi_1 \quad \xi_2 \quad \dots \quad \xi_N] \in R^{1 \times N} \quad (17)$$

$$\mathbf{C} \in \mathbb{R}^{N \times N} \quad \text{donde} \quad c_{ii} = -N_{1i} \quad \text{y} \quad c_{ij} = \begin{cases} 1 & \text{si } \mathbf{v}_j \in \Omega_{1i} \\ 0 & \text{de otra forma} \end{cases} \quad (18)$$

donde \mathbf{P} es el vector de coordenadas deformadas desconocidas, \mathbf{E} es el vector de desplazamientos totales y \mathbf{C} es la matriz de conectividad de los vértices. Una solución en el sentido de mínimos cuadrados de la ecuación (15) se puede usar para estimar la malla actualizada.

Experimentos de secado. Se obtuvieron las curvas de secado convectivo de papa (0.8 cm \times 0.95 cm \times 0.95 cm) obtenidas a 50, 60, 70 and 80°C con una velocidad de aire de 2 m/s. El producto se colocó sobre una malla de acero inoxidable de tal forma que el aire fluyera de forma paralela a la dimensión de mayor tamaño de las muestras. La evolución de la humedad se determinó a partir del registro continuo de la pérdida de peso del producto. El contenido de humedad inicial de la papa se determinó por medio de secado en estufa a 105°C hasta alcanzar un peso constante, como 84.5 \pm 3.1 g agua/100 g producto.

Determinación de las características de deformación del producto. Al finalizar el proceso, se cortó una lámina de 1 mm de espesor de la porción central de los prismas de papa deformados en cada una de las temperaturas estudiadas. Los prismas se fotografiaron y la información de color de la imagen resultante se redujo mediante análisis de conglomerados (Press *et al.*, 2007). Se eliminó el fondo de las imágenes con colores reducidos y se transformaron a escala de grises. Esta última imagen se usó para estimar el contorno de la lámina (Figura 2). Los contornos resultantes se alinearon y promediaron para obtener un solo perfil deformado representativo del producto. El contorno promedio se utilizó para generar un modelo matemático que sirvió como objetivo a satisfacer en la simulación del proceso de secado (Figura 3).

Estimación de la difusividad efectiva. Las curvas de secado experimentales se ajustaron por medio de regresión lineal a la solución adimensional promedio obtenida mediante simulación. Al final del procedimiento de regresión se calcularon los intervalos de confianza (IC) al 95% de los parámetros ajustados. Todos los cálculos y procedimientos descritos se realizaron en el software Matlab R2012a (Math Works Inc., Natick, MA, USA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La simulación de la humedad promedio durante el transcurso del secado, las curvas experimentales y los ajustes obtenidos se muestran en la Figura 4. En dichos ajustes sólo se

consideró la porción de datos correspondiente a $0.1 \leq \psi \leq 0.7$. La primera porción inicial se descartó debido a posibles efectos de precalentamiento del producto. Los resultados de la estimación de la difusividad efectiva del agua en el producto se muestran en la Tabla 1. En dicha tabla se observa que la movilidad del agua aumenta con un incremento en la temperatura de secado ($p < 0.05$). Estos resultados son similares a los obtenidos en otros estudios donde únicamente se ha considerado el encogimiento del producto (Ruiz-López y García-Alvarado, 2007; Ruiz-López *et al.*, 2013). Una muestra representativa de las simulaciones de los perfiles de humedad en el producto se muestra en la Figura 5, permitiendo identificar las zonas del alimento que generan mayores gradientes de humedad. Es importante señalar, que el modelo es capaz de reproducir cualquier perfil de deformación suministrado, siendo su única limitación la dificultad de obtener experimental esta información.

CONCLUSIONES

Se desarrollaron las bases teóricas para un modelo de secado que considera el encogimiento y deformación simultánea de los productos. Aunque la teoría desarrollada se aplicó a un proceso de secado controlado por difusión, los resultados obtenidos pueden generalizarse para considerar la resistencia externa a la eliminación de agua en la superficie del producto, incluir el transporte simultáneo de calor o aplicarse a una simulación en 3D.

BIBLIOGRAFÍA

Press, W.H.; Teukolsky, S.A.; Vetterling, W.T.; Flannery, B.P. 2007. Numerical Recipes. The Art of Scientific Computing. Third edition. Cambridge University Press. New York, USA.

Ruiz-López, I.I.; Ruiz-Espinosa, H.; Arellanes-Lozada, P.; Bárcenas-Pozos, M.E.; García-Alvarado, M.A. 2012. Analytical model for variable moisture diffusivity estimation and drying simulation of shrinkable food products. *Journal of Food Engineering* 108 (3), 427-435.

Ruiz-López, I.I.; Ruiz-Espinosa, H.; Pacheco-Aguirre, F.M.; García-Alvarado, M.A. 2013. Drying of food products shaped as longitudinal sections of solid and annular cylinders: modeling and simulation. *Drying Technology* 31 (10), 1148-1159.

Tabla 1. Valores de difusividad efectiva de agua.

Temperatura (°C)	$D \times 10^{10}$ (m ² /s)	IC $\times 10^{10}$ (95%)
50°C	1.71	1.61/1.81
60°C	2.07	1.98/2.16
70°C	2.62	2.46/2.78
80°C	3.00	2.75/3.25

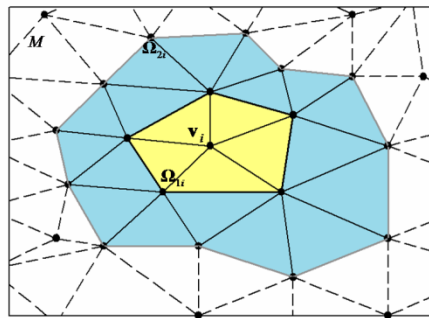


Figura 1. Representación de una malla triangular mostrando los vecinos de primer nivel (Ω_{1i}) y segundo nivel (Ω_{2i}) del vértice v_i .

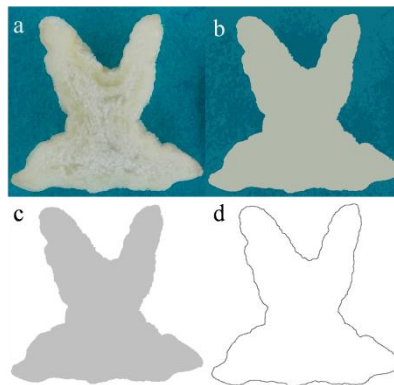


Figura 2. Contorno de encogimiento y deformación de una lámina representativa obtenida del producto secado a 50°C: (a) Sección recortada de una fotografía, (b) imagen agrupada en 3 colores o *clusters*, (c) imagen en escala de grises con el fondo removido y (d) contorno final.

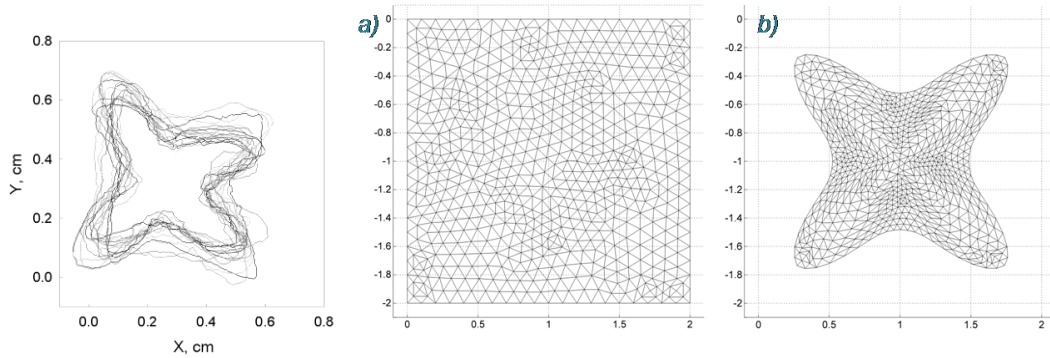


Figura 3. Contornos deformados de láminas de papa: (izquierda) contornos alineados para tener la mejor sobreposición y (derecha) malla usada en la simulación: (a) inicial y (b) final.

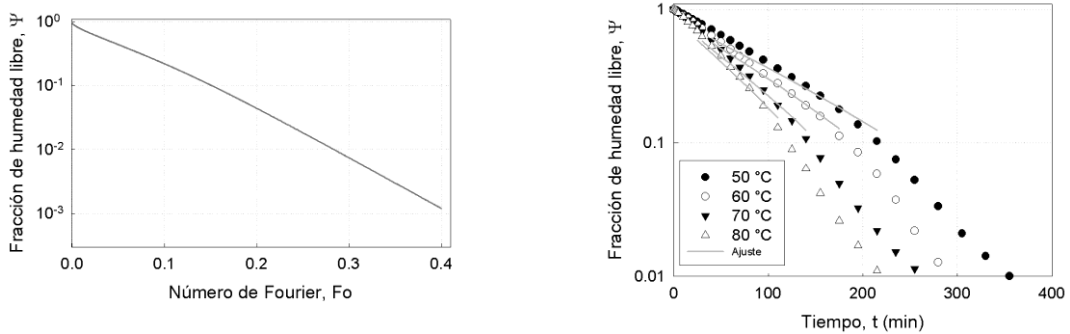


Figura 4. Simulación de la humedad promedio (izquierda) y ajuste a los datos experimentales (derecha).

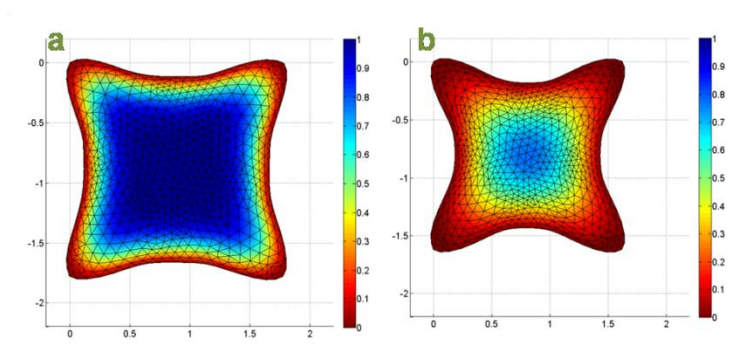


Figura 5. Perfiles de humedad simulados en las muestras de papa a diferentes tiempos: (a) $Fo = 0.025$ y (b) $Fo = 0.085$.

EFFECTO DE LA COMPOSICIÓN SOBRE LAS PROPIEDADES DIELECTRICAS DE SOLUCIÓN SIMULADA DE AGUA DE COCO VERDE

Franco, A.P.; Yamamoto, L.; Gut, J.A.W.; Tadini, C.C.

Universidade de São Paulo, Escola Politécnica, Departamento de Engenharia Química.
NAPAN – Núcleo de Apoio à Pesquisa em Alimentos e Nutrição.

INTRODUCCIÓN

El calentamiento por microondas como método alternativo de conservación ofrece ventajas en términos de calidad y valor nutricional con relación a los procesos térmicos convencionales debido a la reducción del tiempo de proceso como consecuencia de la interacción a nivel molecular entre el alimento y el campo eléctrico alternante. Esta interacción es caracterizada por las propiedades dieléctricas, las cuales están definidas en términos de la permitividad relativa compleja, descrita por la siguiente ecuación:

$$\hat{\epsilon} = \epsilon' - j\epsilon''$$

Donde la parte real es llamada permitividad relativa (ϵ') y es definida como la capacidad de un material almacenar energía en respuesta a un campo eléctrico aplicado. La parte imaginaria es conocida como factor de pérdidas (ϵ'') y se relaciona con la disipación de energía en el material en la forma de calor. A frecuencias de microondas el factor de pérdidas está compuesto por dos mecanismos: la pérdida iónica y la pérdida por dipolos. Estos dos mecanismos son correlacionados con la siguiente ecuación (Ryynänen, 1995):

$$\epsilon'' = \epsilon''_d + \epsilon''_\sigma$$

Donde los subíndices d y σ corresponden a las contribuciones debido a la rotación de los dipolos y a la conducción iónica, respectivamente.

Las propiedades dieléctricas son características de cada material y están influenciadas principalmente por la composición, temperatura del material y la frecuencia de oscilación del campo eléctrico (Giese, 1992; Datta et al., 2005; Ryynänen, 1995). Muchos estudios se han realizado con la finalidad de determinar la influencia de estos factores sobre las propiedades dieléctricas de diferentes alimentos. Entre los alimentos líquidos evaluados a diferentes rangos

de frecuencias y temperaturas se encuentran: jugos de manzana, pera, naranja, uva y piña (Zhu et al., 2012), miel (Guo et al., 2011b), leche, productos lácteos y bebidas a base de soya (Coronel et al., 2008), jugo de uva (Garcia et al., 2001), uvas y soluciones de azúcares (Tulasidas et al., 1995), leche (Kudra et al., 1992); sin embargo, no hay referencias sobre estudios de propiedades dieléctricas de agua de coco verde.

En este trabajo fue estudiado el efecto de la composición sobre las propiedades dieléctricas de una solución simulada de agua de coco verde, preparada con la composición media reportada para agua de coco verde extraída de frutos con 7 meses de desarrollo (Matsui et al., 2007).

MATERIALES Y MÉTODOS

La solución simulada de agua de coco fue preparada disolviendo glucosa, fructosa, sacarosa, cloruro de calcio, cloruro de magnesio, fosfato monobásico de potasio, sulfato de sodio y sulfato de potasio en agua destilada, imitando la composición media de agua de coco verde con 7 meses de desarrollo, reportada por Matsui et al. (2007). Para determinar la influencia de la composición sobre las propiedades dieléctricas de este producto, fueron evaluadas las propiedades dieléctricas de agua destilada, solución simulada de agua de coco verde, solución de azúcares y solución de sales separadamente. Las diferentes muestras fueron almacenadas en refrigeración hasta la realización de los ensayos y la temperatura de las muestras durante el experimento fue ajustada entre 0 y 90 °C usando un baño termostático modelo TC550 (Brookfield, U.S.A), usando aceite como fluido térmico.

La permitividad eléctrica relativa (ϵ') y el factor de pérdidas (ϵ'') fueron determinados usando la técnica sonda coaxial de punta abierta, usando la sonda 85070E (Agilent Technologies, Malaysia) conectada a un analizador de red E5061B (Agilent Technologies, Malaysia). Para mejorar la calidad de las mediciones fue utilizado un módulo de calibración electrónica Ecal 85093C (Agilent Technologies, Malaysia). Las mediciones fueron realizadas en el rango de frecuencias de 500 a 3000 MHz y temperaturas entre 0 y 90 °C.

La profundidad de penetración, definida como la profundidad a la cual la potencia presenta una disminución de aproximadamente 63%, fue calculada con los valores de permitividad relativa y factor de pérdidas obtenidos experimentalmente, usando la siguiente ecuación (Datta et al., 2005):

$$\delta_p = \frac{\lambda_0}{2\pi\sqrt{2\varepsilon'}} \left[\sqrt{1 + \left(\frac{\varepsilon''}{\varepsilon'}\right)^2} - 1 \right]^{-\frac{1}{2}}$$

Donde δ_p es la profundidad de penetración (m) y λ_0 es la longitud de onda en el vacío (m). La profundidad de penetración de las microondas en la solución simulada de agua de coco verde fue calculada a 915 y 2450 MHz (frecuencias comerciales para calentamiento por microondas) a temperaturas entre 0 y 90 °C.

La conductividad eléctrica de la solución simulada de agua de coco verde fue medida con un conductivímetro YSI 3200 (YSI incorporated, Ohio, USA), usando la célula de medición 3252 y su efecto sobre el factor de pérdidas fue calculado de acuerdo con la ecuación presentada por Ryyänen (1995):

$$\varepsilon''_{\sigma} = \frac{\sigma}{2\pi f \varepsilon_0}$$

Donde σ es la conductividad iónica del material (S/m), f es la frecuencia (Hz) y ε_0 es la permitividad del vacío ($8,854 \times 10^{-12}$ F/m).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La permitividad relativa de las tres soluciones evaluadas presentó una tendencia similar en función del incremento de la temperatura y de la frecuencia de oscilación del campo eléctrico, ilustrada en las Figuras 1(a), 2(a) y 3(a). Como puede apreciarse en estas figuras, el comportamiento de ε' fue poco afectado por el contenido de azúcares o sales, al ser comparada con el comportamiento del agua pura medido y el reportada por Kaatze (1989). El bajo efecto de estos compuestos sobre ε' es debido a que estas sustancias no polarizan y las moléculas de agua libres responden al cambio de polaridad del campo eléctrico alternante.

En el caso del factor de pérdidas, fue observado que los azúcares ejercen poca influencia sobre esta propiedad con relación al agua pura (Figura 3b). Sin embargo, todos los valores obtenidos experimentalmente fueron mayores a los presentados por el agua pura a temperaturas inferiores a 70 °C. Este aumento del factor de pérdidas con el contenido de azúcares también fue reportado por Tulasidas et al. (1995) para soluciones de azúcares a diferentes concentraciones.

En presencia de sales fue notado un marcado incremento del factor de pérdidas con el aumento de la temperatura a frecuencias inferiores a 1000 MHz. Este comportamiento puede ser atribuido a la contribución de la conductividad eléctrica sobre ϵ'' a bajas frecuencias de microondas (Wang et al., 2003). La contribución del mecanismo de pérdida iónica incrementa con la temperatura debido a la reducción de la viscosidad del líquido y al aumento de la movilidad de los iones (Datta et al., 2005).

A frecuencias entre 2000 y 3000 MHz, la tendencia del factor de pérdidas con el incremento de la temperatura fue similar a la presentada por el agua pura en este rango de frecuencias y por tanto, independientemente de la presencia de sales y azúcares, el mecanismo predominante a estas frecuencias es la pérdida por dipolos, y este mecanismo disminuye con el incremento de la temperatura (Datta et al., 2005).

El efecto de la conductividad eléctrica sobre el factor de pérdidas de la solución simulada de agua de coco fue significativo en el rango de frecuencia estudiado. Este efecto fue observado en todas las temperaturas evaluadas. La contribución de la conductividad sobre el factor de pérdidas de la solución simulada de agua de coco verde a 10 °C es presentada en la Figura 4. Como puede ser apreciado en esta figura, la conductividad eléctrica ejerce una mayor influencia sobre el factor de pérdidas a frecuencias inferiores a 500 MHz. Wang et al. (2003) afirma que la conductividad iónica tiene mayor influencia a frecuencias inferiores a 200 MHz. Esta influencia de la conductividad sobre el factor de pérdida a bajas frecuencias fue reportada también para jugo de manzana a frecuencias entre 10 y 1000 MHz (Guo et al., 2011) y jugo de naranja a frecuencias entre 20 y 4500 MHz (Zhu et al., 2012).

La profundidad de penetración presentó una notable disminución con el contenido de sales a las frecuencias de 915 y 2450 MHz, con relación a los valores presentados por el agua pura. La presencia de azúcares ocasionó un leve incremento de la profundidad de penetración a temperaturas de 80 y 90 °C a frecuencia de 915 MHz. Los valores calculados de la profundidad de penetración de la solución simulada de agua de coco verde a temperaturas entre 10 y 90 °C y frecuencias de 915 y 2450 MHz son presentados en la Figura 5.

CONCLUSIONES

La permitividad relativa de las diferentes soluciones estudiadas fue poco afectada por la presencia de sales y azúcares en el rango de frecuencia estudiado. El factor de pérdidas y la

profundidad de penetración fueron las propiedades dieléctricas que presentaron mayor dependencia a la composición de la solución simulada de agua de coco verde. El efecto de la conductividad eléctrica sobre el factor de pérdidas fue detectado en todas las temperatura evaluadas. La contribución de los azúcares sobre las propiedades dieléctricas de la solución simulada de agua de coco verde fue mínima con relación al efecto presentado por la presencia de sales en la solución.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a: São Paulo Research Foundation (FAPESP) beca #2012/04073-0, CNPq (National Council for Scientific and Technological Development) y CAPES (Coordination for the Improvement of Higher Level Personnel).

BIBLIOGRAFÍA

- Datta, A. K.; Sumnu, G.; Raghavan, G. (2005), “Dielectric properties of food”, In *Engineering Properties of Foods*, M. A. Rao, S. Rizvi and A. K. Datta, eds. USA, CRC Press.
- García, A.; Torres, J. L.; Prieto, L.; De Blas, M. (2001), “Dielectric properties of grape juice at 0.2 and 3 GHz”, *Journal of Food Engineering*, 48, pp. 203-211.
- Giese, J. (1992), “Advances in microwave food processing”, *Food Technology*. 46(9), pp. 118-123.
- Guo, W.; Zhu, X.; Nelson, S. O.; Yue, R.; Liu, H.; Liu, Y. (2011a). “Maturity Effects on Dielectric Properties of Apples from 10 to 4500 MHz”. *Food Science and Technology*, 44, pp. 224-230.
- Guo, W.; Liu, Y.; Zhu, X.; Wang, S. (2011b), “Temperature-dependent dielectric properties of honey associated with dielectric heating”, *Journal of Food Engineering*, 102, pp. 209-216.
- Kaatze, U. (1989). “Complex Permittivity of Water as function of Frequency and Temperature”. *Journal of Chemical Engineering Data*, 34, pp. 371-374.
- Kudra, T.; Raghavan, G.; Akyel, C.; Bosisio, R.; Van De Voort, F. (1992), “Electromagnetics properties of milk at its constituents at 2.45 GHz”, *International Microwave Power*, 27(4), pp.199-204.
- Matsui, K.N.; Granado, L.M.; De Oliveira, P.V.; Tadini, C.C. (2007), “Peroxidase and polyphenol oxidase in green coconut water simulated solutions”, *LWT Food Science and Technology*, 40, pp. 852-859.
- Ryynänen, S. (1995). “The electromagnetic properties of food materials: A review of the basic principles”. *Journal of Food Engineering*, 26, pp. 409-429.

Tulasidas, T.N.; Raghavan, G.S.; Van de Voort, F.; Girard, R. (1995), “Dielectric properties of grapes and sugar solutions at 2.45 GHz”, *International Microwave Power Institute*, 30(2), pp. 117-123.

Wang, Y.; Wig, T.; Tang, J.; Hallberg, L. (2003). Dielectric properties of food relevant to RF and microwave pasteurization and sterilization. *Journal of Food Engineering*, 57, pp. 257-268.

Zhu, X.; Guo, W.; Wu, X. (2012). “Frequency and Temperature Dependent Dielectric Properties of Fruit Juices Associated with Pasteurization by Dielectric Heating”. *Journal of Food Engineering*, 109, pp. 258-266.

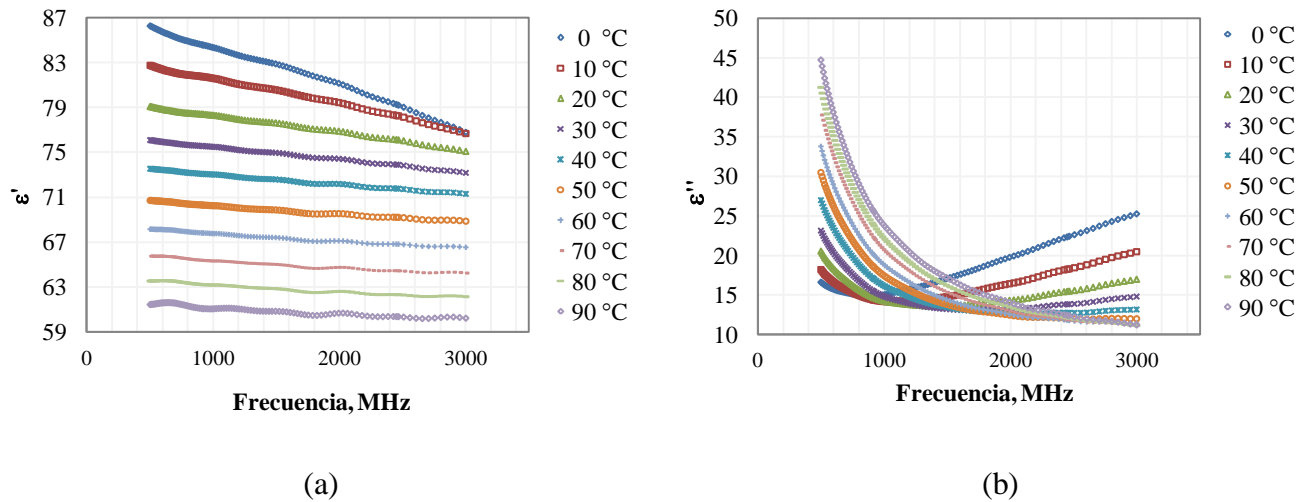


Figura 1. Permitividad relativa (a) y factor de pérdida (b) de la solución simulada de agua de coco verde.

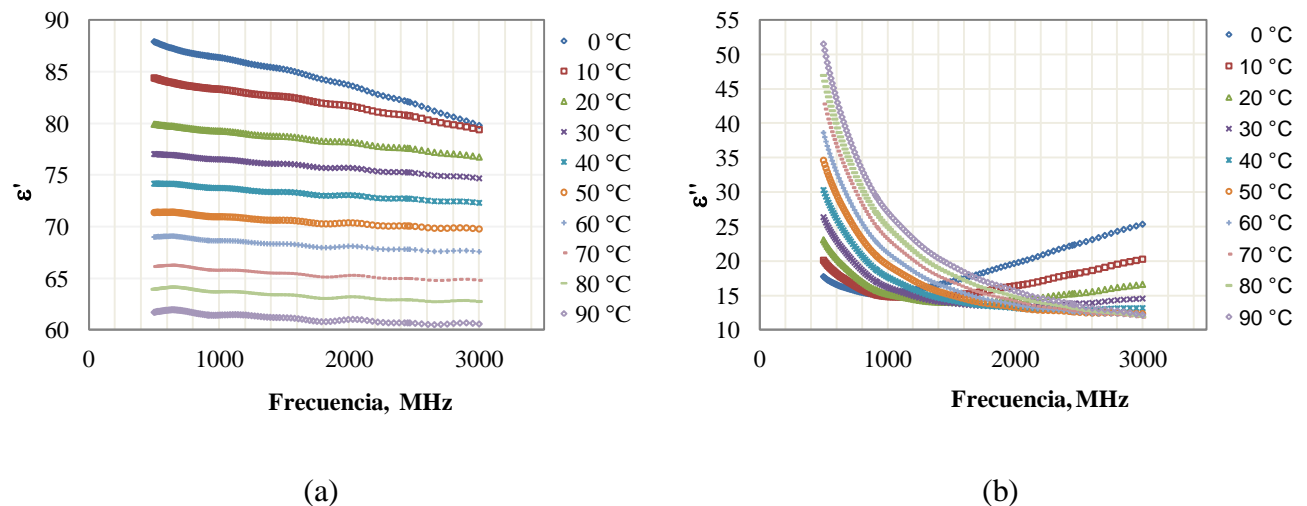


Figura 2. Permitividad relativa (a) y factor de pérdidas (b) de la solución salina.

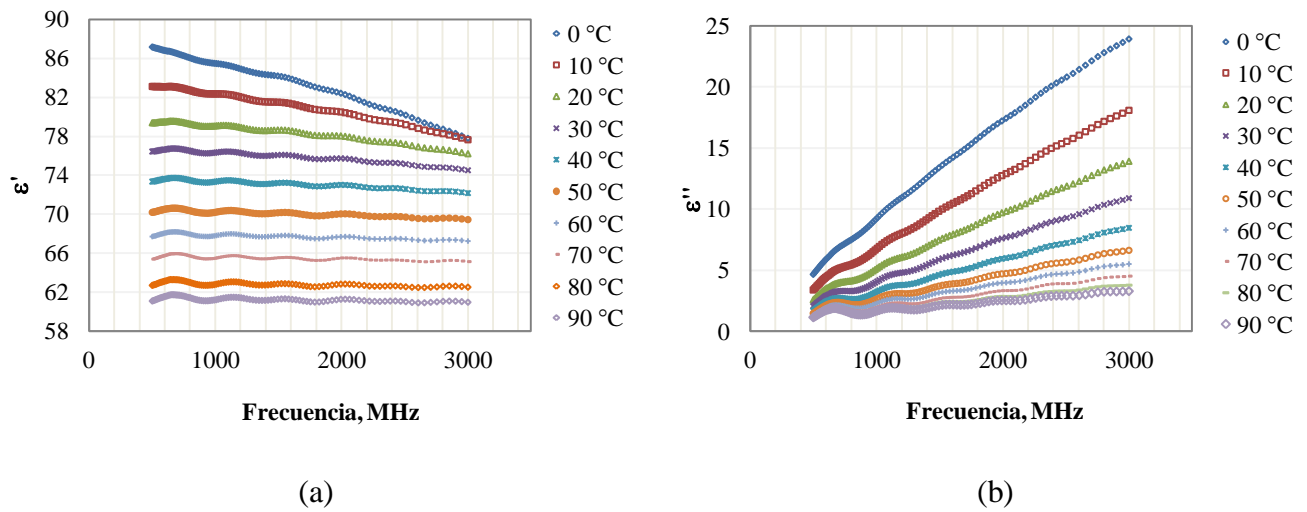


Figura 3. Permitividad relativa (a) y factor de pérdidas (b) de la solución de azúcares.

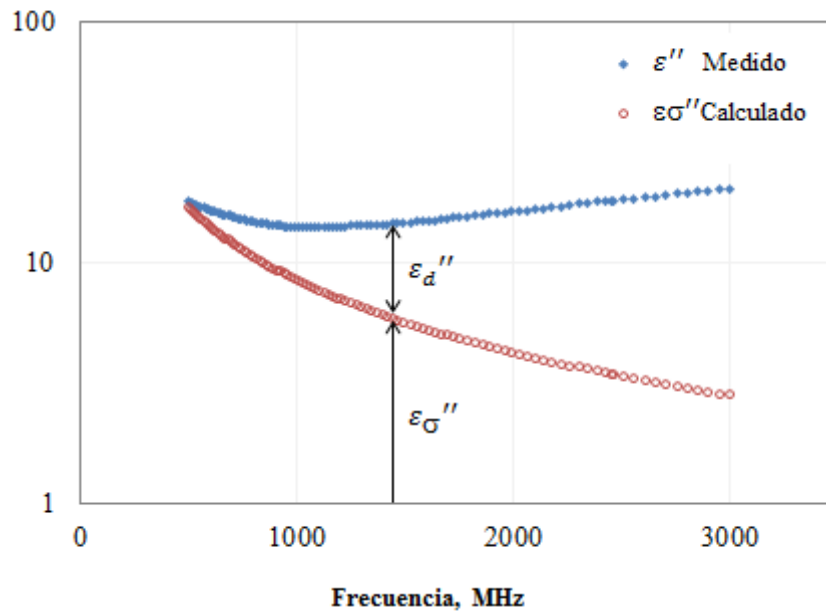


Figura 4. Factor de pérdidas medido y calculado con la conductividad eléctrica de solución simulada de agua de coco verde a 10 °C y frecuencias entre 500 y 3000 MHz.

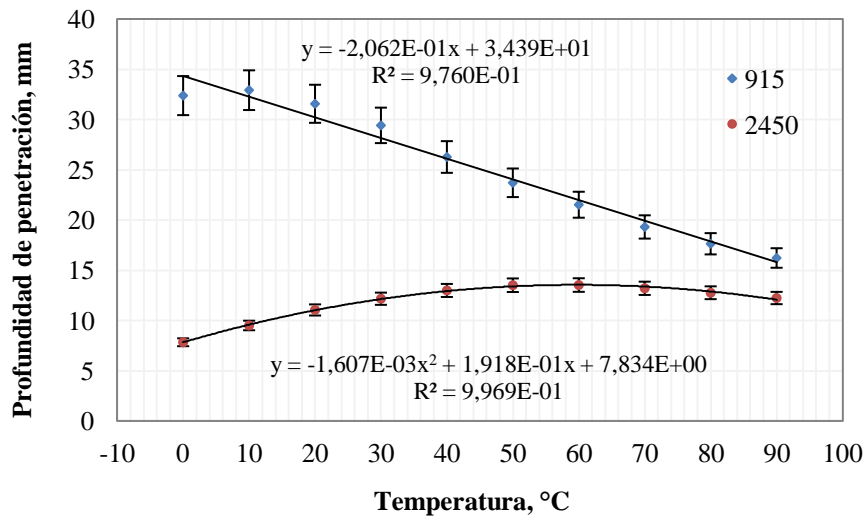


Figura 5. Profundidad de penetración de las microondas en la solución simulada de agua de coco verde a frecuencias de 915 y 2450 MHz.

INTERACCIÓN DE DIFERENTES COMPUESTOS EN LA OXIDACIÓN DEL COLESTEROL E FORMACIÓN DE ÓXIDOS DE COLESTEROL

Elisângela Serenato Madalozzo¹, Neura Bragagnolo¹

¹Departamento de Ciencia de los Alimentos – Facultad de Ingeniería de Alimentos – Universidad de Campinas, Campinas, São Paulo

INTRODUCCIÓN

El colesterol es la materia prima para la síntesis de hormonas, sales biliares y vitamina D₃ también es constituyente esencial de las membranas celulares. Además, es necesario para el crecimiento y la viabilidad de las células. El mismo se comporta de una manera particular en relación a la oxidación debido a la doble enlace y el grupo hidroxilo presentes en las posiciones 5 y 3, respectivamente, de la estructura cíclica formando los productos de oxidación de colesterol o COP's (Echarte et al., 2001) siendo susceptibles a sufrir oxidación cuando se expone a diversas condiciones, tales como alta temperatura, el aire, iniciadores de radicales libres, luz, metal como Fe, Cu y Zn o una combinación de estos factores. La oxidación del colesterol puede ser interrumpida o frenada por la acción de los compuestos que reducen la formación de radicales libres o actuar quelando metales presentes en el medio (Maraschiello et al., 1998; Castro et al., 2011).

El objetivo de este estudio fue evaluar el impacto de la utilización de diferentes antioxidantes (bixina, eritorbato de sodio y ácido cítrico), mioglobina y ácidos grasos con diferentes grados de insaturación (ácido oleico, ácido eicosapentaenoico y ácido palmítico) en la degradación térmica del colesterol en sistemas modelo. La acción de los antioxidantes y pro-oxidante será supervisada por la degradación del colesterol y formación de COP's y cambios en la composición de ácidos grasos, así como la degradación de los antioxidantes añadidos a los sistemas modelo sometidos a temperaturas de 130 y 160°C.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sistemas de modelo

Para la preparación de los sistemas modelo se llevó a cabo un diseño experimental del tipo Plackett y Burman, con siete variables de entrada estudiados en dos niveles y tres puntos centrales, por un total de 15 ensayos, de acuerdo con la Tabla 1. Para cada ensayo del diseño

experimental se prepararon 21 tubos de ensayo, suficientes para dar 7 puntos, por triplicado. Después de mezclar todos los ingredientes para cada ensayo, los disolventes se evaporaron bajo una corriente de N₂ y los tubos fueron llevados inmediatamente al bloque de calentamiento. Los sistemas se calentaron a temperaturas de 130 y 160°C bajo flujo constante de O₂ (10 ml/min). Después de calentar, los tubos se enfriaron en un baño de hielo.

Confirmación y cuantificación del colesterol y COP's

Después del tratamiento térmico y enfriamiento, los tubos que contienen los sistemas modelo se diluyeron en 1 ml de fase móvil y una alícuota fue filtrada en membrana Millipore de 0,45 µm e inyectada directamente en el cromatógrafo líquido con detector de UV y RID modelo LC10 (Shimadzu, Kyoto, Japón). Para la separación de los compuestos se empleó la columna CN (Waters, Millford, MS, EE.UU.), 30 cm x 5 mm x 4 µm de diámetro de partícula, con una fase móvil de hexano:isopropanol (97:3) y una tasa de flujo de 1 ml/min. La temperatura de la columna fue de 32°C. Los picos fueron identificados por comparación con los tiempos de retención de los padrones de COP's (Sigma, Milford, MA): 20α-OH, 22R-OH, 22S-OH, 25-OH, 5,6-α y 5,6β-epoxicolesterol, 7-ketocolesterol, 7α y 7β-OH (Sigma-Aldrich o Steraloids, Newport, RI) y cuantificados a través de curvas analíticas con concentraciones que varían desde 0,08 hasta 4 mg/ml para el colesterol y 0,5 a 100 µg/ml para los COP's.

La confirmación se realizó mediante espectrometría de masas usando cromatografía líquida de alta eficacia con detector de matriz de diodos (Shimadzu, modelo LC-20AD) acoplada con espectrometría de masas con analizador de *ion-trap* (MSⁿ) Modelo (Esquire 4000, Bruker, Billerica, EE.UU.). El espectrómetro de masas operó a ionización a presión atmosférica (APCI) como una fuente de ionización en el modo positivo. Las condiciones de temperatura y tensión fueron las mismas utilizadas por Mariutti et al. (2008).

Determinación de los ácidos grasos

Para determinar los ácidos grasos, fue retirada una alícuota del sistema modelo (200µL), que fue saponificada y esterificada de acuerdo con el método descrito por Joseph y Ackman (1992). Las muestras se resuspendieron con 1 ml de hexano (grado HPLC) a partir de la cual se retira 2 µl para su inyección en el cromatógrafo a través de la técnica *hot needle* durante 5 segundos.

La cuantificación de los ácidos grasos se realizó en un cromatógrafo de gases, modelo GC2010 (Shimadzu, Kyoto, Japón) con una columna capilar de sílice fundida (100 m de

longitud, 0,25 mm de diámetro, 0,20 mm de espesor de fase estacionaria) (CP-SIL 88 Chromopack, Middleburg, Holanda) de acuerdo con el método descrito por Sancho et al. (2011). La identificación de los ácidos grasos se realizó por comparación de tiempos de retención de padrones de ésteres metílicos de ácidos grasos de 4:0 a 24:0 (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) con los tiempos de retención de los ésteres metílicos de ácidos grasos de las muestras. La cuantificación se realizó por padrón interno, usando el éster metílico del ácido graso tricosanoico (99% GC, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA). Las cantidades de ácidos grasos fueron calculadas como mg/ml de muestra (AOCS, 1997).

Determinación de ácido cítrico y eritorbato de sodio

Una alícuota (200µL) fue retirada a partir del sistema modelo y el disolvente se evaporó. Después la muestra se resuspendió en el mismo volumen de fase móvil para la determinación de ácido cítrico y eritorbato de sodio al mismo tiempo. Se utilizó un cromatógrafo de líquidos de alto rendimiento con un detector de matriz de diodos (Shimadzu, Kyoto, Japón) y columna analítica C18 (Vydac, Hesperia, CA) 250 mm x 4,6 mm x 5 µm de diámetro de partícula, se mantuvo a 30°C. Los análisis se realizaron en modo isocrático con un flujo de 1 ml/min de fase móvil con detección a 205 y 265 nm para el ácido cítrico y eritorbato de sodio, respectivamente. La fase móvil consistió de una solución 3 mM de ácido fosfórico (Uckoo et al., 2011).

Determinación de bixina

De la dilución de los sistemas modelo fueron retirados 200 µL del extracto, donde fue evaporado el disolvente bajo un flujo de N₂, y se diluyó con la misma cantidad de diclorometano. La absorbancia se midió en un espectrofotómetro Beckman (Beckman Coulter Inc., Fullerton, EE.UU.) y la concentración de bixina se calculó en mg/g usando el coeficiente de absorción de 2.826 a 470 nm (FAO/OMS, 1982; Lara, 1984). Todo el proceso se llevó a cabo bajo la luz.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Degradación de colesterol

Las concentraciones finales de colesterol a 130°C osciló desde 0,73 hasta 0,03 mg/ml, con 31 y 97,2 % de degradación al final de 240 minutos de calentamiento, respectivamente, y la temperatura 160°C mostró variación desde 0,57 hasta 0,03 mg/ml, con una degradación de 45,8 y 97,2 %, respectivamente. Basándose en los datos presentados en la Figura 1, se puede observar

que la degradación de colesterol era dependiente de la temperatura y la composición de cada sistema modelo.

Analizando los efectos de la variación de la degradación del colesterol, podemos ver que las variables de efecto significativo ($p < 0,1$) fueron diferenciadas a lo largo del tiempo de exposición a temperatura y O_2 . Las variables que tienen un efecto positivo protegen de la degradación de colesterol, ya las variables que tienen un efecto negativo aceleran la degradación.

En 130°C , se encontró que durante todo el tiempo de exposición de colesterol, el ácido graso EPA (ácido eicosapentaenoico) tuvo un efecto negativo sobre la degradación del colesterol. Otras dos variables que tuvieron efectos negativos sobre la degradación del colesterol fueron la bixina, en los tiempos de 90 y 120 minutos y el ácido oleico, en 120 minutos. Bixina probablemente no era protectora contra la oxidación del colesterol, pues a partir de 15 minutos se había deteriorado, probablemente debido a largo tiempo de exposición a la temperatura y la presencia de O_2 . Ya ácidos grasos, oleico y EPA mostraron una degradación promedio de alrededor de 70 % y 95 %, respectivamente, durante el tiempo de calentamiento, lo que explicaría la influencia negativa en la oxidación del colesterol.

Las variables que mostraron efectos positivos fueron: eritorbato de sodio, comenzando 60 minutos hasta el fin del calentamiento y el ácido palmítico sólo en 60 minutos. El eritorbato de sodio presentó un fuerte efecto antioxidante en la prevención del desarrollo de la oxidación de lípidos. Ya ácido palmítico, porque tiene en su estructura, dobles enlaces, puede disminuir la formación de radicales libres que aceleran la oxidación.

Estos resultados explican el diferente comportamiento de las pruebas 1, 2 y 4 cuanto a degradación del colesterol, pues todos tienen presentes en su composición el eritorbato de sodio, que protegió la degradación del colesterol, este hecho se puede ver en la Figura 1, donde, al fin del calentamiento, las pruebas 1 y 2 son las que tienen la más alta concentración de colesterol, y la prueba 4 mostró la lenta degradación de colesterol hasta el tiempo de 120 minutos. La prueba 2, además de eritorbato de sodio, presentó en su composición el ácido palmítico que, aunque se muestra con efecto significativo en sólo un tiempo de exposición, también tiene un efecto protector sobre la degradación. La 4 también presenta una lenta degradación en el tiempo de la exposición, pero, a diferencia de las pruebas 1 y 2, en 120 minutos ya comenzó a mostrar un deterioro más pronunciado de la concentración de colesterol. Este hecho podría atribuirse a la presencia de ácido oleico en su composición, ya que, como se ve en el análisis de los efectos este

constituyente, a partir de 120 minutos de calentamiento, presenta un efecto negativo en la degradación, o sea, aceleró la misma.

Para la temperatura de 160°C, el análisis muestra que el EPA presenta efecto negativo sobre la degradación del colesterol desde el comienzo de la exposición y queda con el mismo comportamiento hasta el momento de 10 minutos de exposición. En el tiempo final 30 minutos no muestra más un efecto significativo debido al hecho de que toda la concentración inicial del ácido graso EPA ya tener sido degradada dentro de los 10 minutos de calentamiento. Dentro de los 10 minutos de exposición, bixina tuvo un efecto negativo en la degradación del colesterol, así como el ácido oleico, sin embargo, esto mostró este efecto también en 30 minutos de exposición. Probablemente, el efecto negativo de ácido oleico sólo en 30 minutos debido al hecho de que hasta 10 minutos oxidación el EPA todavía estaba presente en el sistema, y por tener un alto número de insaturaciones es más susceptibles a la oxidación. Después de ese tiempo, o dentro de 30 minutos, ácido oleico aún estaba presente en el sistema, y es por lo tanto un inductor de la formación de radicales libres que pueden iniciar la oxidación del colesterol.

Por otra parte, el eritorbato de sodio comenzó a mostrar un efecto protector sobre la degradación del colesterol en 4 minutos, permaneció con el mismo comportamiento hasta el tiempo final de 30 minutos. Las mismas conclusiones extraídas de la temperatura de 130°C pueden ser reportados a una temperatura de 160°C para las pruebas 1, 2 y 4.

Las variables que no mostraron efectos significativos fueron el ácido cítrico y la mioglobina. El ácido cítrico no presentó efecto significativo debido al hecho de que, en el inicio del calentamiento, a ambas temperaturas, no fue posible detectar tal componente en los sistemas. Y, contrariamente a las expectativas, la mioglobina también no presentó efecto significativo sobre la degradación del colesterol, es decir, el hierro presente en su estructura no era pro-oxidante. Puede asumir que esto ha ocurrido debido a la presencia de ácidos grasos poliinsaturados en los ensayos, pues el metal (hierro) presente en la mioglobina es capaz de complejar con los ácidos carboxílicos. La complejación del metal bloquea los orbitales impidiendo la transferencia de electrones pudiendo reducir el potencial redox, que puede reducir las tasas de oxidación (Schaich et al., 2013). Otra razón por la que esta variable no ha sido efectivamente significativa, ya que puede no haber ocurrido la oxidación de Fe^{+2} a Fe^{+3} , siendo este último un pro-oxidante eficaz.

Según Schaich et al. (2013) metales oxidados son iniciadores fuertes de radicales que se forman a través de la abstracción de los electrones de los dobles enlaces. En contraste, los metales en la forma reducida tienden a ser iniciadores indirectos; preferentemente reaccionar con el oxígeno para formar complejos o especies reactivas de oxígeno que luego pueden reaccionar de manera más eficiente con los lípidos.

Formación de COP's

La Figura 2 muestra la formación total de los COP's en cada prueba para cada tiempo de calentamiento. Hemos observado que las concentraciones de óxidos a una temperatura de 130°C oscilaron desde 0 hasta 614,38 µg/ml, respectivamente, y la concentración máxima fue observada en la prueba 11 en 15 minutos mientras que se calienta. En cuanto a la temperatura de 160°C concentraciones oscilaron desde 0 hasta 588,69 µg/ml. También se observó la máxima concentración de óxidos para el tiempo de 6 minutos en la prueba 11. Este resultado se correlaciona con la mayor degradación del colesterol, ya que, mediante la observación de la Figura 1, podemos ver que el ensayo que mostró la concentración final más bajo de colesterol era la 11.

La prueba 1 mostró una pequeña degradación de colesterol (31 y 46 % en 130 y 160°C, respectivamente) a lo largo del calentamiento, presentando una formación de óxido inferior durante este período, con concentraciones por debajo de 7 µg/ml en 130°C, y 50 µg/ml a una temperatura de 160°C. Ya la prueba 2 que también mostró una degradación de colesterol por debajo de 60%, mostró altas concentraciones de óxidos en los tiempos finales de la exposición. Tales concentraciones fueron 319,69 µg/ml a 130°C y 303,22 µg/ml a 160°C. Un comportamiento diferente se observó en la prueba 3 a 130°C. La misma presentó una alta concentración de óxido (210,3 µg/ml) en 15 minutos, siendo que esta concentración decayó drásticamente en el tiempo de 60 minutos, alcanzando un nivel de sólo 7,34 µg/ml. Las otras pruebas para ambas temperaturas, mostraron un comportamiento similar.

CONCLUSIÓN

Cuanto mayor fue la temperatura de calentamiento, mayor la degradación del colesterol, con la pérdida de más de 95 % de la cantidad inicial y consecuentemente mayor formación de COP's. La presencia de ácidos grasos insaturados contribuyó a tal degradación mientras la

presencia de antioxidantes como eritorbato de sodio puede retrasar la oxidación. Por otra parte, el hierro presente en la mioglobina no presentó efecto pro-oxidante.

BIBLIOGRAFÍA

Echarte, M.; Zulet, M. A.; Astiasaran, I. (2001). Oxidation process affecting fatty acids and cholesterol in fried and roasted salmon. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(11): 5662-5667.

Maraschiello, C.; Esteve, E.; Regueiro, J. A. G. (1998). Cholesterol oxidation in meat from chickens fed α -tocopherol- and β -carotene- supplemented diets with different unsaturation grades. *Lipids*, 33(7): 705-713.

Castro, W. F.; Mariutti, L. R. B.; Bragagnolo, N. (2011). The effects of colorífico on lipid oxidation, colour and vitamin E in raw and grilled chicken during frozen storage. *Food Chemistry*, 124(1): 126-131.

Mariutti, L. R. B.; Nogueira, G. C.; Bragagnolo, N. (2008). Optimization and validation of analytical conditions for cholesterol and cholesterol oxides extraction in chicken meat using response surface methodology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(9): 2913-2918.

Joseph, J. D.; Ackman, R. G. (1992). Capillary column gas chromatographic method for analysis of encapsulated fish oils ethyl esters: collaborative study. *Journal of AOAC International*, 75: 488-506.

Sancho, R. A. S.; Bragagnolo, N.; Costa, G. G.; Mariutti, L. R. B.; De Lima, F.A. (2011). Effect of annatto seed and coriander leaves as natural antioxidants in fish meatballs during frozen storage. *Journal of Food Science*, 76: 838-845.

AOCS. Official Method Ce 1b-89. In Firestone D (Ed). *Official methods and recommended practices of the American oil chemists' society* (5th ed.). Champaign: American Oil Chemists' Society Press, 1997.

Uckoo, R. M.; Jayaprakasha, G. K.; Nelson, S. D.; Patil, B. S. (2011). Rapid simultaneous determination of amines and organic acids in citrus using high-performance liquid chromatography. *Talanta*, 83: 948-954.

FAO/WHO (1982). *Food and Nutrition Paper* (Vol. 25). Rome: FAO.

Lara, W. H. (editor) (1984). *Monografias de Corantes Naturais para Fins Alimentícios. Padrões de Identidade e Qualidade*, São Paulo, p. 22-29.

Schaich, K. M.; Shahidi, F.; Zhong, Y.; Eskin, N. A. M. (2013). Lipid oxidation. In: *Biochemistry of foods*. Elsevier Inc.

Pruebas	x1	x2	x3	x4	x5	x6	x7
1	1	-1	1	-1	-1	-1	1
2	1	1	-1	1	-1	-1	-1
3	-1	1	1	-1	1	-1	-1
4	1	-1	1	1	-1	1	-1
5	1	1	-1	1	1	-1	1
6	1	1	1	-1	1	1	-1
7	-1	1	1	1	-1	1	1
8	-1	-1	1	1	1	-1	1
9	-1	-1	-1	1	1	1	-1
10	1	-1	-1	-1	1	1	1
11	-1	1	-1	-1	-1	1	1
12	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1
13	0	0	0	0	0	0	0
14	0	0	0	0	0	0	0
15	0	0	0	0	0	0	0

			-1	0	1
x1	AO1	mg/mL	0	0,02	0,04
x2	AO2	mg/mL	0	0,02	0,04
x3	AO3	mg/mL	0	0,02	0,04
x4	AG1	mg/mL	0	1,5	3
x5	AG2	mg/mL	0	1,5	3
x6	AG3	mg/mL	0	1,5	3
x7	PO1	mg/mL	0	0,02	0,04

Tabla 1 - Matriz codificada del diseño experimental Plackett y Burman (PB) y la concentración de las variables del diseño y sus niveles codificados

AO1 = eritorbato de sodio

AG2 = EPA

AO2 = bixina

AG3 = ácido oleico

AO3 = ácido cítrico

PO1 = mioglobina

AG1 = ácido palmítico

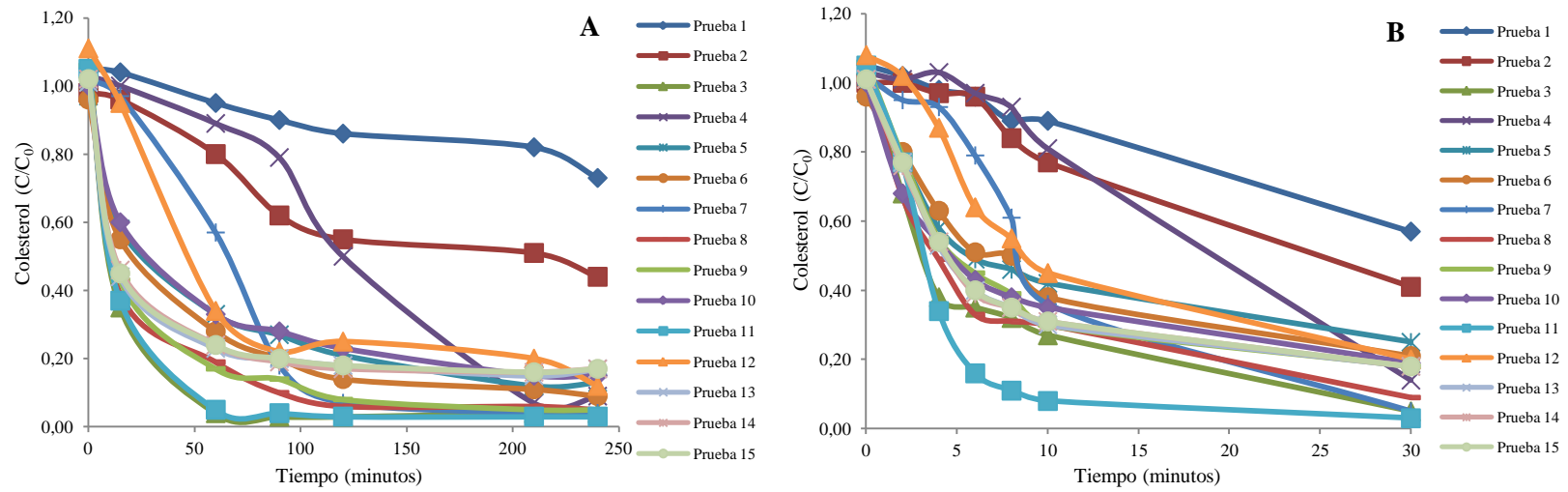


Figura 1 – Degradación del colesterol en sistemas modelo seco en función del tiempo x temperatura a 130 ° C (A) y 160 ° C (B)

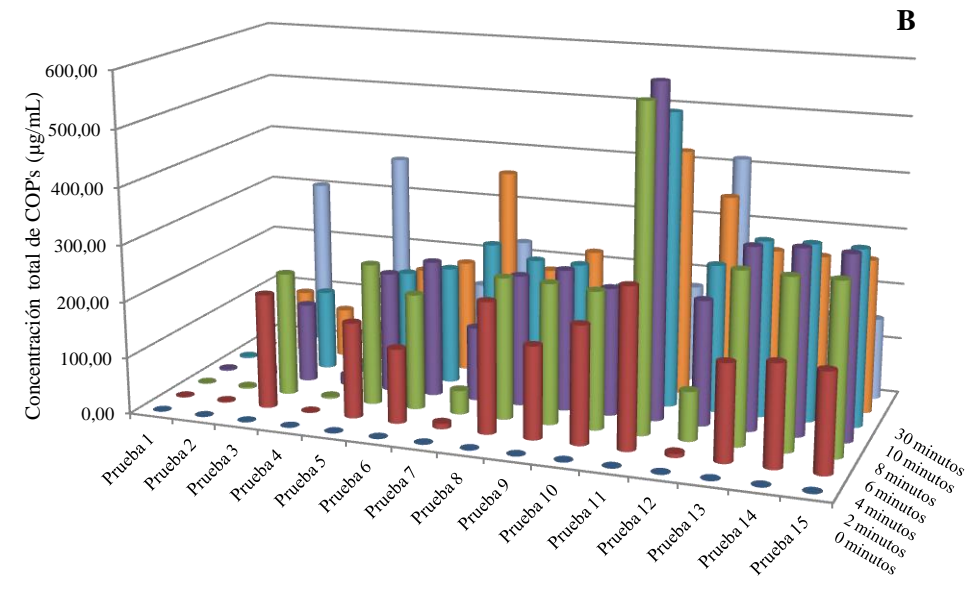
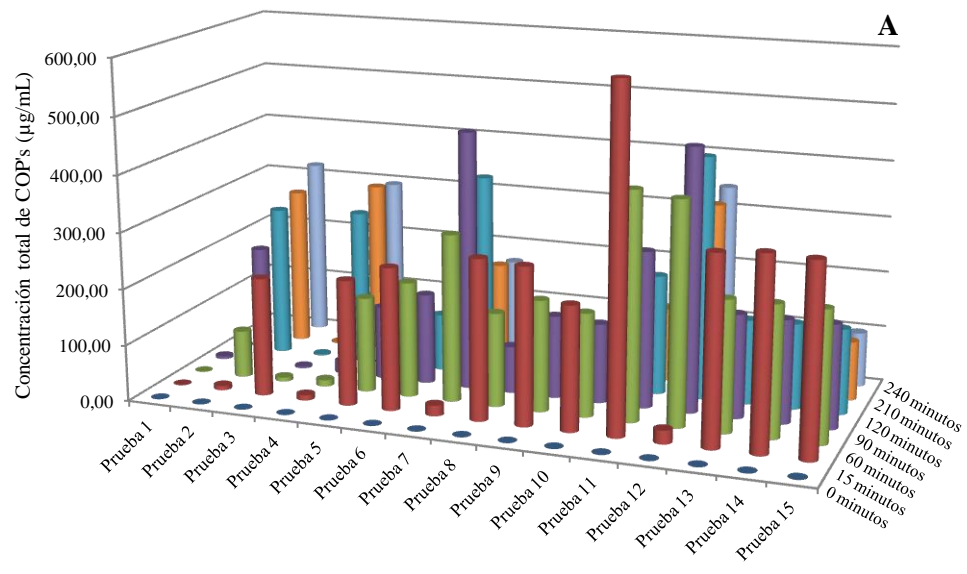


Figura 2 – Formación de COP's totales en sistemas modelo secos en función del tiempo x temperatura a 130 ° C (A) y 160 ° C (B)

DEGRADACIÓN DEL COLESTEROL E FORMACIÓN DE ÓXIDOS EN SISTEMAS MODELO CALENTADOS A 230°C Y FLUJO CONSTANTE DE O₂

Elisângela Serenato Madalozzo¹, Neura Bragagnolo¹

¹Departamento de Ciencia de los Alimentos – Facultad de Ingeniería de Alimentos – Universidad de Campinas, Campinas, São Paulo

INTRODUCCIÓN

Los principales tratamientos térmicos utilizados en los alimentos utilizan el binomio temperatura x tiempo para asegurar que su trabajo llega a la meta deseada. Por lo tanto, las condiciones dependen de la matriz utilizada y también de las condiciones empleadas. En general, cuanto más corto el tiempo de exposición mayor sea la temperatura empleada. En el almacenamiento, menor es la temperatura mayor será el tiempo de almacenamiento que puede ser empleado. Los procesos tecnológicos para la producción de alimentos tales como secado por pulverización, freír y horno convencional utilizando gas o eléctricos pueden alcanzar temperaturas de hasta 250°C, dependiendo del tiempo utilizado, puede ocurrir la oxidación y la degradación del colesterol, con formación de óxidos de colesterol (COP's) y la degradación de estos óxidos cuando los alimentos de colesterol tienen como uno de sus componentes el colesterol. Además, puede haber un cambio en la composición de ácidos grasos. Con el fin de minimizar estos cambios, el uso de antioxidantes, especialmente naturales, es recomendable.

Este estudio tuvo como objetivo evaluar la influencia de diferentes ácidos grasos con diferentes grados de insaturación (ácido oleico, ácido eicosapentaenoico y ácido palmítico), antioxidantes (bixina, eritorbato de sodio y ácido cítrico) y pro-oxidante (mioglobina) en la degradación térmica del colesterol en sistemas modelo. Se evaluaron los sistemas modelo para la degradación de colesterol y la formación de COP's y el cambio en la composición de ácidos grasos, así como la degradación de antioxidantes añadido a los sistemas modelo sometidos a temperaturas de 230°C.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sistemas modelo

Los sistemas modelo se prepararon de acuerdo a un diseño experimental Plackett y Burman con siete variables de entrada estudiados en dos niveles y tres puntos medios, un total de

15 ensayos, como se puede ver en la Tabla 1. Para cada ensayo del diseño se prepararon 21 tubos para obtener 7 puntos por triplicado. Después de mezclar todos los ingredientes para cada prueba, los disolventes se evaporaron bajo una corriente de N₂ y los tubos fueron llevados inmediatamente al bloque de calentamiento a 230°C bajo un flujo constante de O₂ (10 ml/min). Después de calentar los tubos se enfriaron inmediatamente en un baño de hielo.

Confirmación y cuantificación de colesterol y COP's

Los tubos que contienen los sistemas modelo se diluyeron en 1 ml de fase móvil, se filtraron y una alícuota fue inyectada en el cromatógrafo líquido con detector de UV y RID, modelo LC10 (Shimadzu, Kyoto, Japón). Los compuestos se separaron usando una columna CN (Waters, Millford, MS, EE.UU.), 30 cm x 5 mm x 4 µm de diámetro de partícula con una fase móvil de hexano:isopropanol (97:3) a una velocidad de flujo de 1 ml/min y temperatura de columna de 32°C. Los picos fueron identificados por comparación con tiempos de retención de padrones de colesterol (Sigma, Milford, MA) y COP's: 20α-OH, 22R-OH, 22S-OH, 25-OH, 5,6α- e 5,6β-epoxicolesterol, 7-cetocolesterol, 7α- e 7β-hidroxicolesterol (Sigma-Aldrich ou Steraloids, Newport RI). La cuantificación se realizó usando las curvas de calibración con concentraciones que van desde 0,08 hasta 4 mg/ml para el colesterol y 0,5 a 100 µg/ml para los COP's.

La confirmación se realizó mediante espectrometría de masas y cromatografía líquida tal como se describe Mariutti et al. (2008).

Determinación de los ácidos grasos

Una alícuota (200 µL) del sistema modelo fue retirada, saponificada y esterificada de acuerdo con el método descrito por Joseph y Ackman (1992). Las muestras se resuspendieron con 1 ml de hexano (grado HPLC) a partir de la cual se retira 2 µL para su inyección en el cromatógrafo a través de la técnica de *hot needle* durante 5 segundos.

La cuantificación de los ácidos grasos se realizó en un cromatógrafo de gases, Modelo GC2010 (Shimadzu, Kyoto, Japón) con una columna capilar de sílice fundida (100 m de longitud, 0,25 mm de diámetro, 0,20 mm de espesor de fase estacionaria) (CP-SIL 88, Chromopack, Middleburg, Holanda) de acuerdo con el método descrito por Sancho et al. (2011).

La identificación de los ácidos grasos se realizó por comparación de los tiempos de retención de padrones de ésteres metílicos de ácidos grasos de 4:00 a 24:0 (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, EE.UU.) con los tiempos de retención de los ésteres metílicos ácidos grasos en la

muestra. La cuantificación se realizó mediante la padronización interna usando el éster metílico del ácido graso tricosanoico (99 % GC, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EE.UU.), y los ácidos grasos fueron calculados en mg/ml de muestra (AOCS , 1997).

Determinación de ácido cítrico y eritorbato de sodio

Se retiró una muestra de 200 μ L del sistema modelo inicial y el disolvente se evaporó. Después la muestra se resuspendió en el mismo volumen de fase móvil para la determinación de ácido cítrico y eritorbato de sodio al mismo tiempo. Se utilizó un cromatógrafo de líquidos de alto rendimiento con un detector de matriz de diodos (Shimadzu, Kyoto, Japón). La columna analítica usada fue una columna C18 (Vydac, Hesperia, CA) 250 mm x 4,6 mm x 5 μ m de diámetro de partícula, se mantuvo a 30°C. Los análisis se realizaron en modo isocrático con un flujo de 1 ml/min de fase móvil con detección a 205 y 265 nm para el ácido cítrico y eritorbato de sodio, respectivamente. La fase móvil consistió de una solución 3 mM de ácido fosfórico (Uckoo et al., 2011). La cuantificación se realizó usando las curvas de calibración en concentraciones que van de 20 a 500 μ g/ml para el ácido cítrico y de 1 a 100 μ g/ml para eritorbato de sodio.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Degradación de colesterol

La concentración final de colesterol fue dependiente de la temperatura y la composición de cada prueba, variando 0,13 a 0,04 mg/ml en 300 segundos de calentamiento. Estas concentraciones corresponden a una degradación de 89 y 96 % de colesterol inicial añadido al sistema, como se puede ver en la Figura 1.

Cuanto al efecto de las variables (Tabla 2) sobre la degradación de colesterol, se observa que las variables que tuvieron un efecto significativo ($p < 0,1$) se diferenciaron durante el tiempo de calentamiento. Cuanto mayor fue la cantidad de eritorbato de sodio (nivel +1), mayor fue la protección contra la degradación del colesterol. Este hecho se puede observar entre 25 y 120 segundos de calentamiento. Ya ácido eicosapentaenoico (EPA), la bixina, el ácido palmítico, el ácido oleico y la mioglobina mostraron un comportamiento inverso a la encontrada para el eritorbato de sodio, o sea, pequeñas cantidades (nivel -1) estos constituyentes han sido capaces de aumentar la degradación de colesterol.

Estos resultados se pueden confirmar mediante la visualización de la Figura 1, ya que la prueba que mostró una lenta degradación del colesterol, en comparación con los otros, fue la prueba 2, que tiene en su composición el eritorbato de sodio. Otro hecho que se puede observar en la Figura 1 es el comportamiento de la prueba 1. El mismo mostró la mayor degradación del colesterol en 50 segundos de calentamiento y se mantuvo con este comportamiento hasta el final de 300 segundos. La muestra 11 presenta en su composición la bixina, el ácido oleico y la mioglobina tres constituyentes que, incluso en concentraciones más bajas fueron capaces de acelerar la degradación de colesterol.

Formación de COP's

La Figura 2 muestra la formación del total de COP's en cada prueba del diseño experimental. Como puede verse la concentración de COP's en los sistemas van desde 0 hasta 464,37 $\mu\text{g/ml}$, concentración esta que se encuentra en la prueba de 11 en 50 segundos de calentamiento. Sin embargo el análisis de la figura 2 se puede observar una tendencia a la baja en las concentraciones de COP's a partir de 50 segundos en casi todas las pruebas. Esto es debido al hecho de que, después de este tiempo ha llevado a cabo incluso la degradación de los COP's, produciendo otros productos no detectado de la degradación del colesterol.

Las variables (Tabla 3) que mostraron un efecto significativo ($p < 0,1$) en la formación de los COP's fueron eritorbato de sodio efecto negativo, es decir, la concentración más baja de eritorbato (nivel -1) ha sido capaz de retrasar la formación de COP's. Lo contrario era el caso con el ácido palmítico, EPA y la mioglobina, ya que una mayor cantidad de estos componentes (nivel +1) presenta una mayor formación de óxidos de colesterol. Como puede verse en la Figura 2 a partir de 90 segundos para la mayoría de los ensayos de calentamiento comienza a mostrar una disminución en la cantidad de óxidos, probablemente debido al hecho de que después de algún tiempo los óxidos de colesterol comienzan a degradarse y otros compuestos que no fueron identificados son formados.

CONCLUSIÓN

Se puede concluir que el eritorbato de sodio mostró un efecto protector sobre la degradación térmica de colesterol y EPA, bixina, ácido palmítico, ácido oleico y la mioglobina, incluso en pequeñas cantidades, aceleraron la degradación. Cuanto la formación de óxidos de

colesterol, el eritorbato de sodio también mostró un efecto protector, a diferencia del ácido palmítico, EPA y mioglobina que se aceleraron la formación de COP's.

BIBLIOGRAFÍA

Mariutti, L. R. B.; Nogueira, G. C.; Bragagnolo, N. (2008). Optimization and validation of analytical conditions for cholesterol and cholesterol oxides extraction in chicken meat using response surface methodology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56: 2913-2918.

Joseph, J. D.; Ackman, R. G. (1992). Capillary column gas chromatographic method for analysis of encapsulated fish oils ethyl esters: collaborative study. *Journal of AOAC International*, 75: 488-506.

Sancho, R. A. S.; Bragagnolo, N.; Costa, G. G.; Mariutti, L. R. B.; De Lima, F.A. (2011). Effect of annatto seed and coriander leaves as natural antioxidants in fish meatballs during frozen storage. *Journal of Food Science*, 76: 838-845.

AOCS. Official Method Ce 1b-89. In Firestone D (Ed). *Official methods and recommended practices of the American oil chemists' society* (5th ed.). Champaign: American Oil Chemists' Society Press, 1997.

Uckoo, R. M.; Jayaprakasha, G. K.; Nelson, S. D.; Patil, B. S. (2011). Rapid simultaneous determination of amines and organic acids in citrus using high-performance liquid chromatography. *Talanta*, 83: 948-954.

FAO/WHO (1982). *Food and Nutrition Paper* (Vol. 25). Rome: FAO.

Lara, W. H. (editor) (1984). *Monografias de Corantes Naturais para Fins Alimentícios. Padrões de Identidade e Qualidade*, São Paulo, p. 22-29.

Tabla 1 - Matriz codificada del diseño experimental Plackett & Burman (PB) y las concentraciones de las variables del diseño PB y sus respectivos niveles codificados

Pruebas	x1	x2	x3	x4	x5	x6	x7
1	1	-1	1	-1	-1	-1	1
2	1	1	-1	1	-1	-1	-1
3	-1	1	1	-1	1	-1	-1
4	1	-1	1	1	-1	1	-1
5	1	1	-1	1	1	-1	1
6	1	1	1	-1	1	1	-1
7	-1	1	1	1	-1	1	1
8	-1	-1	1	1	1	-1	1
9	-1	-1	-1	1	1	1	-1
10	1	-1	-1	-1	1	1	1
11	-1	1	-1	-1	-1	1	1
12	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1
13	0	0	0	0	0	0	0
14	0	0	0	0	0	0	0
15	0	0	0	0	0	0	0

			-1	0	1
x1	AO1	mg/mL	0	0,02	0,04
x2	AO2	mg/mL	0	0,02	0,04
x3	AO3	mg/mL	0	0,02	0,04
x4	AG1	mg/mL	0	1,5	3
x5	AG2	mg/mL	0	1,5	3
x6	AG3	mg/mL	0	1,5	3
x7	PO1	mg/mL	0	0,02	0,04

AO1 = eritorbato de sódio
 AO2 = bixina
 AO3 = ácido cítrico
 AG1 = ácido palmítico

AG2 = EPA
 AG3 = ácido oleico
 PO1 = mioglobina

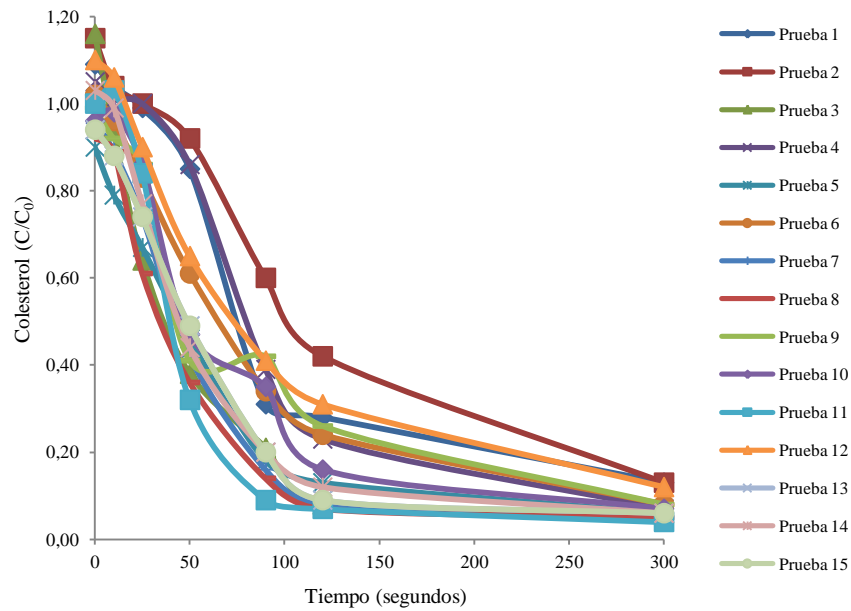


Figura 1 – Degradación del colesterol en sistema modelo seco en función del tiempo x temperatura a 230°C

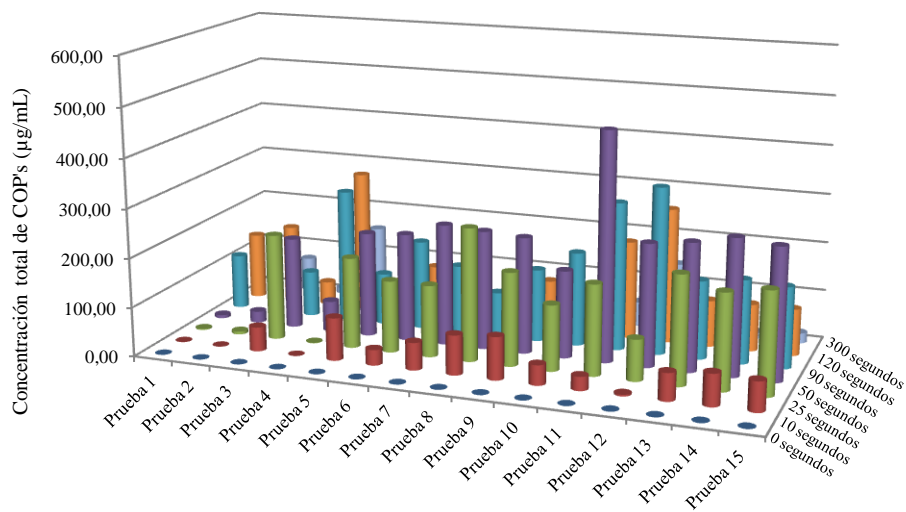


Figura 2 – Formación total de COP's en los sistema modelo seco en función del tiempo x temperatura a 230°C

Tabla 2 - Efectos de las variables sobre la oxidación del colesterol para la temperatura de 230°C

Factores	10 seg				25 seg				50 seg				90 seg				120 seg				300 seg			
	Efecto	Erro padrón	t(7)	p-valor	Efecto	Erro padrón	t(7)	p-valor	Efecto	Erro padrón	t(7)	p-valor	Efecto	Erro padrón	t(7)	p-valor	Efecto	Erro padrón	t(7)	p-valor	Efecto	Erro padrón	t(7)	p-valor
Media	0,95	0,01	65,45	<0,0001	0,81	0,02	48,82	<0,0001	0,54	0,02	32,44	<0,0001	0,28	0,02	11,56	<0,0001	0,18	0,02	8,29	0,0001	0,07	0,01	13,31	<0,0001
1	0,02	0,03	0,46	0,6591	0,13	0,04	3,40	0,0114	0,27	0,04	7,27	0,0002	0,12	0,05	2,28	0,0569	0,10	0,05	2,08	0,0762	0,02	0,01	1,86	0,1053
2	-0,04	0,03	-1,28	0,2415	-0,08	0,04	-2,24	0,0602	-0,08	0,04	-2,19	0,0651	-0,07	0,05	-1,35	0,2179	-0,05	0,05	-1,02	0,3409	-0,02	0,01	-1,33	0,2258
3	-0,02	0,03	-0,46	0,6591	-0,05	0,04	-1,43	0,1950	0,04	0,04	1,12	0,3016	-0,08	0,05	-1,54	0,1679	-0,06	0,05	-1,30	0,2336	-0,01	0,01	-0,80	0,4517
4	-0,08	0,03	-2,41	0,0471	-0,03	0,04	-0,81	0,4468	0,02	0,04	0,67	0,5249	0,03	0,05	0,55	0,5970	0,01	0,05	0,18	0,8651	-0,01	0,01	-0,80	0,4517
5	-0,10	0,03	-3,02	0,0194	-0,17	0,04	-4,48	0,0029	-0,22	0,04	-5,93	0,0006	-0,05	0,05	-0,98	0,3577	-0,08	0,05	-1,59	0,1568	-0,02	0,01	-1,86	0,1053
6	0,00	0,03	0,15	0,8823	0,05	0,04	1,43	0,1950	-0,09	0,04	-2,36	0,0500	-0,02	0,05	-0,31	0,7673	-0,04	0,05	-0,88	0,4076	-0,03	0,01	-2,13	0,0712
7	-0,05	0,03	-1,59	0,1567	-0,09	0,04	-2,33	0,0527	-0,16	0,04	-4,24	0,0039	-0,19	0,05	-3,51	0,0099	-0,13	0,05	-2,64	0,0333	-0,02	0,01	-1,86	0,1053

Tabla 3 - Efectos de las variables en la formación de COP's para la temperatura de 230°C

Factores	10 seg				25 seg				50 seg				90 seg				120 seg				300 seg			
	Efecto	Erro padrón	t(7)	p-valor	Efecto	Erro padrón	t(7)	p-valor	Efecto	Erro padrón	t(7)	p-valor	Efecto	Erro padrón	t(7)	p-valor	Efecto	Erro padrón	t(7)	p-valor	Efecto	Erro padrón	t(7)	p-valor
Media	43,15	4,01	10,76	<0,0001	145,87	12,95	11,26	<0,0001	209,07	19,76	10,58	<0,0001	175,73	13,92	12,62	<0,0001	124,43	12,49	9,96	<0,0001	41,08	8,94	4,60	0,0025
1	-24,06	8,97	-2,68	0,0314	-102,74	28,97	-3,55	0,0094	-153,82	44,18	-3,48	0,0102	-15,21	31,13	-0,49	0,6401	19,21	27,94	0,69	0,5138	11,36	19,98	0,57	0,5876
2	6,72	8,97	0,75	0,4782	33,77	28,97	1,17	0,2818	63,37	44,18	1,43	0,1946	-29,70	31,13	-0,95	0,3717	-43,59	27,94	-1,56	0,1626	-31,95	19,98	-1,60	0,1538
3	-4,73	8,97	-0,53	0,6143	0,02	28,97	0,00	0,9994	-66,83	44,18	-1,51	0,1741	-58,50	31,13	-1,88	0,1022	-33,19	27,94	-1,19	0,2736	-11,62	19,98	-0,58	0,5791
4	26,08	8,97	2,91	0,0227	5,19	28,97	0,18	0,8628	-46,56	44,18	-1,05	0,3269	-51,02	31,13	-1,64	0,1452	-20,75	27,94	-0,74	0,4818	-1,56	19,98	-0,08	0,9401
5	48,03	8,97	5,36	0,0011	119,79	28,97	4,14	0,0044	37,51	44,18	0,85	0,4239	-85,15	31,13	-2,74	0,0291	-117,35	27,94	-4,20	0,0040	-60,24	19,98	-3,02	0,0195
6	3,78	8,97	0,42	0,6862	6,22	28,97	0,21	0,8361	81,09	44,18	1,84	0,1091	55,99	31,13	1,80	0,1151	23,12	27,94	0,83	0,4353	4,26	19,98	0,21	0,8373
7	20,20	8,97	2,25	0,0590	46,24	28,97	1,60	0,1544	62,16	44,18	1,41	0,2022	-42,03	31,13	-1,35	0,2189	-65,78	27,94	-2,35	0,0508	-46,32	19,98	-2,32	0,0535

FORMULACIÓN DE UNA BEBIDA SIMBIÓTICA LÁCTEA CON FRUTAS Y A-GALACTÓSIDOS EXTRAÍDOS DE LEGUMINOSAS

Colina, Jhoana y Torres, Alexia

Universidad Simón Bolívar. Departamento de Procesos Biológicos y Bioquímicos
Apdo. 89000. E-mail: jhoanacolina@usb.ve, aitorres@usb.ve
Caracas- Venezuela

INTRODUCCIÓN

El desarrollo de alimentos funcionales constituye una oportunidad real de contribuir a mejorar la calidad de la dieta y la selección de alimentos que pueden afectar positivamente la salud y el bienestar del individuo. Cualquier definición de alimento funcional debe converger hacia aquel alimento que tenga un impacto positivo en la salud del individuo, ya sea previniendo o disminuyendo los efectos de alguna enfermedad, además del valor nutritivo que contiene. Surge entonces a partir de estos nuevos enfoques, otros conceptos para identificar características particulares dentro de estos alimentos novedosos: los prebióticos y los probióticos (Rivero *et al.* 2005).

Según Gibson y Roberfroid (1995), un prebiótico es un componente de la dieta que tiene una vía de fermentación específica dirigida a estimular poblaciones de bacterias intestinales que son beneficiosas para la salud; éstos microorganismos vivos y bacterias, que al ser ingeridas en cantidades adecuadas producen efectos beneficiosos para la salud más allá de los inherentes al valor nutricional se conocen como probióticos (Figuroa *et al.* 2006).

Los oligosacáridos han recibido mucha atención como ingredientes alimenticios funcionales por su propiedad prebiótica. Los prebióticos más estudiados son la inulina y los fructooligosacáridos, sin embargo, las leguminosas son una buena fuente de oligosacáridos conocidos como α -galactósidos u oligosacáridos de la familia de la rafinosa (OFR), los cuales también son utilizados por las bífidobacterias (Gulewicz *et al.* 2002; Martínez-Villaluenga y Gómez 2007). Estos α -galactósidos son oligosacáridos solubles de bajo peso molecular representados por rafinosa, estaquiosa, verbascosa y otros oligosacáridos formados por α -(1 \rightarrow 6)-galactósidos ligados al C-6 de la glucosa residual de la sacarosa (Dey 1990). Estos oligosacáridos de bajo peso molecular están presentes en diferentes semillas, como el lupino (Martínez-Villaluenga *et al.* 2004), la soya (Kim *et al.* 2003), las lentejas y guisantes (Gulewicz *et al.* 2000), siendo la familia *Leguminosae* la que presenta el mayor contenido de OFR (Muzquiz *et al.* 1999).

Por otra parte, la estrategia para alcanzar la nutrición óptima comprende el consumo de frutas. Este rubro contiene vitaminas, minerales, fibra dietaria, antioxidantes, entre otros, necesarios para obtener un estado de salud y bienestar y para disminuir el riesgo de enfermedad, de allí, que la FAO recomienda un consumo mínimo de 5 raciones de frutas al día (Olivares y Bustos 2006). El objetivo de esta investigación fue formular una bebida láctea con probióticos, guanábana y α -galactósidos extraídos de leguminosas como prebióticos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia Prima: se utilizó pulpa de guanábana comercial sin aditivos ni agua añadida y se mantuvo en congelación hasta su uso (-20 °C). Se utilizó leche de larga duración comercial. El cultivo seleccionado contiene cepas de *Lactobacillus acidophilus* La5 y *Bifidobacterium lactis* Bb12 (Chr. Hansen), reconocidas como probióticos. Se utilizó azúcar blanca refinada obtenida del mercado local y los α -galactósidos extraídos del lupino (*Lupinus* sp.).

Proceso de Elaboración: Se fermentó la leche con el cultivo (1:1) a una temperatura de 42 °C hasta alcanzar un pH de 4,5 (aproximadamente 7 h). Al alcanzar el pH deseado se enfrió rápidamente y se agitó fuertemente para romper el coágulo y obtener una bebida fluida, luego se le añadió la pulpa de guanábana y el azúcar más los α -galactósidos. Se envasó en frascos de vidrio estériles (250 mL) y se almacenó a 4 °C para su posterior análisis.

Formulación de la bebida: para la selección de las proporciones de los ingredientes (leche fermentada, pulpa de guanábana y azúcar) se usó un diseño D-optimal (Tabla 1), la variable respuesta fue la aceptabilidad medida con una escala hedónica no estructurada con un panel de 100 consumidores.

Análisis físicos y químicos: se determinó el pH (COVENIN 1315 1979), la acidez titulable (COVENIN 658 1997), el contenido de proteínas por Kjeldahl utilizando un factor de conversión a proteína de 6,25 (COVENIN 370 1997), el contenido de grasas por el método de Babcock (COVENIN 503 1982), cenizas (COVENIN 368 1997), minerales utilizando la Espectroscopia de Emisión Atómica con Plasma Acoplado Inducido, además se determinó la bioaccesibilidad de minerales midiendo la dializabilidad de los minerales como indicador de la biodisponibilidad potencial de los minerales por medio de un método *in vitro* (Binaghi *et al* 2011). La fibra dietética según el método de Goñi *et al* (2009), que determina la fibra dietética como una fracción no digerible de los alimentos, incluyendo almidón resistente y proteínas resistentes. Los carbohidratos se estimaron por diferencia.

Análisis microbiológicos: se realizó el recuento de las bacterias del cultivo láctico: *Bifidobacterium lactis* Bb12 y *Lactobacillus acidophilus* La5, mohos y levaduras (AOAC 997.02), *Staphylococcus aureus* (AOAC 2003.11), coliformes y *E.coli* (AOAC 991.14).

Análisis sensorial: se evaluó la aceptabilidad de la bebida seleccionada, aplicando una prueba sensorial con escala hedónica no estructurada ante un panel de consumidores de 150 personas.

Vida útil: la bebida fue almacenada a 8 °C por 8 semanas y se le determinó la acidez titulable, el color, el pH, mohos, levaduras y la viabilidad de las bacterias del cultivo iniciador cada semana.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Después de evaluar la habilidad predictiva de los modelos matemáticos verificando el cumplimiento de los principios de normalidad, homocedasticidad e independencia, se construyeron y evaluaron los modelos matemáticos, se obtuvo que tanto los modelos: lineales, cuadráticos y cúbicos, como sus componentes e interacción no son significativos ($p > 0,05$), lo que indica que ninguno de los modelos predice el comportamiento de la variable respuesta. Sin embargo, se utilizó el modelo cuadrático para explorar una posible zona donde la respuesta fue máxima y evaluar los efectos antagónicos o sinérgicos de los ingredientes. El modelo cuadrático en términos de L-pseudo componentes se muestra a continuación:

$$\text{Aceptabilidad} = -50,63a + 11,78b + 12,35c + 77,52ab + 70,27ac + 3,24 bc$$

Se puede observar que existe una posible sinergia entre cada uno de los ingredientes. Se exploró la gráfica de contornos del modelo cuadrático (Figura 1) y se observa una zona donde la aceptabilidad fue más alta. Los límites de esta zona fueron utilizados como restricciones para escoger la fórmula desde el punto de vista de costo, además se tomó en cuenta que la fórmula tuviera la mayor cantidad de fruta posible. La optimización de costos de formulación se realizó mediante programación lineal, utilizando el módulo *Solver* de Microsoft Excel, se planteó una ecuación de costos con los ingredientes del producto y se definieron como restricciones las regiones cercanas al punto estacionario que garantizan la mayor aceptabilidad, conociendo el costo en US\$/Kg de cada ingrediente se planteó la siguiente ecuación:

$$\text{Costo (US\$)} = 1,63(\text{US\$/Kg})X_1 + 2,79(\text{US\$/L})X_2 + 8,14(\text{US\$/Kg})X_3$$

Donde X_1 : cantidad de azúcar, X_2 : cantidad de leche, X_3 : cantidad de guanábana para un litro de bebida.

Las restricciones fueron las siguientes:

$$\Sigma (X_1, X_2, X_3) = 1$$

$$0,08 \geq X_1 \leq 0,10$$

$$0,63 \geq X_1 \leq 0,75$$

$$0,22 \geq X_1 \leq 0,28$$

Después de optimizar la ecuación de costo, utilizando el método de resolución *Simplex* que corresponde a funciones lineales, se obtuvo que la formulación más económica es azúcar = 10%, leche = 68% y guanábana = 22%, con un costo de 3,85 US\$ por cada litro de bebida.

Según la Norma Técnica Andina para leches fermentadas (2007), esta bebida puede ser denominada “Leche fermentada con ingredientes” definida como productos lácteos compuestos, que contienen un máximo del 30 % (m/m) de ingredientes no lácteos (tales como edulcorantes nutritivos y no nutritivos, frutas y verduras así como jugos, purés, pastas, preparados y conservadores derivados de los mismos, cereales, miel, chocolate, frutos secos, café, especias y otros alimentos aromatizantes naturales e inocuos) y/o sabores. Los ingredientes no lácteos pueden ser añadidos antes o luego de la fermentación. Esta definición es similar a la encontrada en la norma CODEX para leche fermentada (2003), donde se denomina a este tipo de bebidas como “Leches fermentadas aromatizadas”, solo que permite que los ingredientes no lácteos sea como máximo un 50% (m/m).

Al comparar los resultados obtenidos (Tabla 2) con los requisitos fisicoquímicos de la norma *CODEX* y la norma técnica andina para leches fermentadas, se puede decir que la leche fermentada aromatizada cumple con estos requisitos, además, puede ser clasificada según su contenido de grasa en tipo III, por ser elaborada con leche descremada o desnatada y por el proceso de elaboración en bebible. La acidez titulable de la bebida fue $0,63 \pm 0,02$ g ácido láctico/100 mL, cumpliendo con el requisito mínimo de las normas (0,6%).

En la composición proximal se destaca la alta humedad debido a que es una bebida, el contenido de carbohidratos totales, lo cual era de esperarse por el azúcar y fibra adicionada; y el bajo contenido de grasa. Entre los minerales se observa una mayor cantidad de potasio, sodio y calcio. Sin embargo, al evaluar la bioaccesibilidad de estos elementos, definida como la cantidad de un nutriente ingerido que es potencialmente disponible para la absorción (Etcheverry *et al.* 2012), midiendo la dializabilidad de los mismos, se observa un 36, 25, 15 y 37% de aprovechamiento para el calcio, potasio, magnesio e hierro, respectivamente. Cabe destacar que la bioaccesibilidad depende de la digestión y de la liberación del nutriente de la

matriz alimenticia (Etcheverry *et al.* 2012), por ende, los componentes presentes en la bebida van afectar la biodisponibilidad potencial de estos micronutrientes. El aporte calórico de la bebida proviene principalmente del contenido de carbohidratos. El contenido de grasa, fibra y proteínas permite el calificativo en el empaque de “Libre de grasa”, por poseer menos de 0,5 g de grasa, “Buena fuente de fibra” y “Buena fuente de proteínas”, porque el aporte a las Recomendaciones de Ingesta Diaria (RID) se encuentra entre 10 y 19% (COVENIN 2952-1-97).

En la Tabla 3 se muestra la calidad microbiológica de la leche fermentada aromatizada, se puede decir que cumple con los requisitos microbiológicos según la norma técnica andina y la norma *CODEX* para leches fermentadas.

Se evaluó la aceptabilidad de la leche fermentada aromatizada con 150 consumidores, los cuales presentaban características similares a los utilizados en la formulación del producto, en cuanto a frecuencia de consumo, edad y sexo. El 51% del panel era del sexo femenino y el 49% masculino; el mayor porcentaje del panel (63%) estaba entre 20 y 40 años de edad, siendo el 98% consumidor de bebidas lácteas, donde el 57% consume bebidas lácteas de 3 a 4 veces por semana. En una escala de 15 cm se obtuvo un promedio de 14,1, un mínimo de 9,0 y un máximo 15,0 cm. La distribución de los datos se encontró en la zona de agrado de la escala, mostrando una mayor frecuencia hacia el extremo de “me gusta” (70%), indicando una alta aceptabilidad de la bebida.

En la Figura 2 se muestra el comportamiento del pH y la acidez titulable durante el almacenamiento de la leche fermentada aromatizada a una temperatura de 4 °C. Se observa que estos parámetros se mantuvieron estables durante 5 semanas, tiempo a partir del cual se ve una disminución del pH y un aumento de la acidez titulable, esto se debe al crecimiento de mohos y levaduras, microorganismos capaces de acidificar el medio. El recuento de las bacterias probióticas se mantuvo constante durante todo el almacenamiento, a pesar de la disminución del pH de la bebida.

La Norma Técnica Andina (2007) para leches fermentadas establece como límite máximo para el recuento de mohos y levaduras 10 ufc/g, por lo que la vida útil del producto vendría determinada por parámetros microbiológicos, siendo de 5 semanas debido a que el recuento de estos microorganismos supera el límite establecido en este tiempo, sin embargo, cabe resaltar que el recuento de bacterias probióticas se mantuvo y estuvo por encima del límite mínimo establecido 10^6 ufc/g durante todo el almacenamiento. Durante el almacenamiento se observa un oscurecimiento de la bebida a medida que transcurren las semanas, esto lo indica la disminución de la luminosidad hacia valores del negro. Este

oscurecimiento probablemente sea producto de reacciones enzimáticas. Desde el punto de vista sensorial, la leche fermentada aromatizada en la semana 6 todavía presentaba una alta aceptabilidad, a pesar del cambio de sabor por la acidificación por parte de los mohos y levaduras presentes en la bebida.

CONCLUSIONES

Se obtuvo una bebida catalogada como leche fermentada aromatizada con guanábana, la cual contiene prebióticos y probióticos, además cumplió con los requisitos fisicoquímicos y microbiológicos establecidos, mostró ser rica en fibra, baja en grasa y con una alta aceptabilidad. Lo que indica que la bebida representa un producto potencialmente funcional y una alternativa de consumo de frutas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. [AOAC] Association of Official Analytical Chemists. 1990. Official methods of analysis. 15th edition. Washington DC: USA.
2. Binaghi MJ, Cagnasso CE, Pellegrino NR, Drago SR, González R, Ronayne PA, Valencia ME. 2011. Disponibilidad potencial *in vitro* de hierro y zinc en una dieta infantil con pan fortificado con distintas fuentes de hierro o con agregado de promotores de la absorción. Arch Latinoamer Nutr 61(3): 316 – 321.
3. Codex Standard 243. 2003. Norma del codex para leches fermentadas. 2^{da} revisión. Codex Alimentarius. 9 p.
4. Dey PM. 1990. Oligosaccharides. En: Dey PM, Harborne JB (eds). Methods in plant biochemistry. Academic Press: San Diego, pp 189 – 218.
5. Etcheverry P, Grusak M, Fleige L. 2012. Application of *in vitro* bioaccessibility and bioavailability methods for calcium, carotenoids, folate, iron, magnesium, polyphenols, zinc, and vitamins B6, B12, D, and E. Frontiers Physiol 3: 1-22.
6. Figueroa Velasco JL, Chi Moreno EE, Cervantes Ramírez M, Domínguez Vara IA. 2006. Alimentos funcionales para cerdos al destete. Veterinaria México 37(1):117–136.
7. Gibson G, Roberfroid M. 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. J Nutr 125(6):1401-1412.
8. Goñi I, Díaz-Rubio ME, Pérez-Jiménez J, Saura-Calixto F. 2009. Towards an updated methodology for measurement of dietary fiber, including associated polyphenols, in food and beverages. Food Research Int 42: 840 – 846.
9. Gulewicz P, Ciesiolka D, Frías J, Vidal-Valverde C, Frejnagel S, Trojanowska K, Gulewicz K. 2000. Simple method of isolation and purification of α -galactosides from legumes. J Agric Food Chem 48:3120–3123.

10. Gulewicz p, Szymaniec S, Bubak b, Frias J, Vidal-Valverde C, Trojanowska K, Gulewicz K. 2002. Biological activity of α -galactoside preparations from *Lupinus angustifolius* L. and *Pisum sativum* L. seeds. *J Agric Food Chem* 50:384–389.
11. Kim S, Kim W, Hwang IK. 2003. Optimization of the extraction and purification of oligosaccharides from defatted soybean meal. *Int J Food Sci Technol* 38:337–342.
12. Martínez-Villaluenga C, Frías J, Gulewicz K, Vidal-Valverde C. 2004. Improved method to obtain pure α -galactosides from lupin seeds. *J Agric Food Chem* 52: 6920 – 6922.
13. Martínez-Villaluenga C, Gómez R. 2007. Characterization of bifidobacteria as starters in fermented milk containing raffinose family of oligosaccharides from lupin as prebiotic. *Int Dairy J* 17:116 – 122.
14. Muzquiz M, Burbano C, Pedrosa MM, Folkman W, Gulewicz K. 1999. Lupins as a potential source of raffinose family oligosaccharides. Preparative method for their isolation and purification. *Ind Crops Prod* 19:183–188.
15. Norma COVENIN 1315. 1979. Alimentos. Determinación del pH (Acidez iónica). Comisión Venezolana de Normas Industriales. Caracas: FONDONORMA.
16. Norma COVENIN 503. 1982. Leche fluida. Determinación de grasa. Método de Babcock. Comisión Venezolana de Normas Industriales. Caracas: FONDONORMA. 5 p.
17. Norma COVENIN 658. 1997. Leche y sus derivados. Determinación de la acidez titulable. 3^{ra} Revisión. Comisión Venezolana de Normas Industriales. Caracas: FONDONORMA.
18. Norma COVENIN 368. 1997. Leche y sus derivados. Determinación de cenizas. 2^{da} Revisión. Comisión Venezolana de Normas Industriales. Caracas: FONDONORMA.
19. Norma COVENIN 370. 1997. Leche y sus derivados. Determinación de proteínas. 2^{da} Revisión. Comisión Venezolana de Normas Industriales. Caracas: FONDONORMA.
20. Norma COVENIN. 2952-1-97. Directrices para la declaración de propiedades nutricionales y de salud en el rotulado de los alimentos envasados. Comisión Venezolana de Normas Industriales. Caracas: FONDONORMA.
21. Norma Técnica Andina 16 007. 2007. Leches fermentadas. Requisitos. Instituto Boliviano de Normalización y Calidad (IBNORCA). 9 p.
22. Olivares S, Bustos N. 2006. Consumo de verduras y frutas en grupos específicos de consumidores chilenos: elementos a considerar en su promoción. *Rev Chil Nutr* 33 (1). Versión on line. Disponible en: www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0717-75182006000300007&script=sci_arttext, consultada el 02/02/2008.
23. Rivero M, Santamaría A, Rodríguez-Palmero M. 2005. Alimentos funcionales: La importancia de los ingredientes funcionales en las leches y cereales infantiles. *Nutr Hosp* 20(2):135-146.

Tabla 1. Diseño *D-optimal* para la formulación de la bebida

Orden Estándar	Corrida	Componentes		
		Azúcar	Leche Fermentada	Pulpa de Guanábana
1	8	12,00	78,00	10,00
2	7	8,00	82,00	10,00
3	12	11,00	74,00	15,00
4	11	11,00	74,00	15,00
5	13	11,00	74,00	15,00
6	9	8,00	75,33	16,67
7	15	12,00	68,00	20,00
8	4	12,00	68,00	20,00
9	2	8,00	72,00	20,00
10	3	8,00	68,67	23,33
11	14	11,00	64,00	25,00
12	5	12,00	58,00	30,00
13	6	10,00	60,00	30,00
14	1	10,00	60,00	30,00
15	10	8,00	62,00	30,00

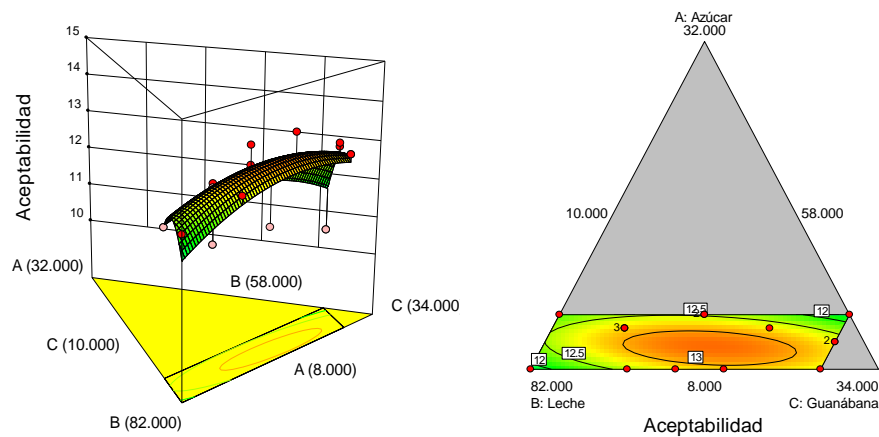


Figura 1. Gráfica de superficie 3D y de contorno para la aceptabilidad

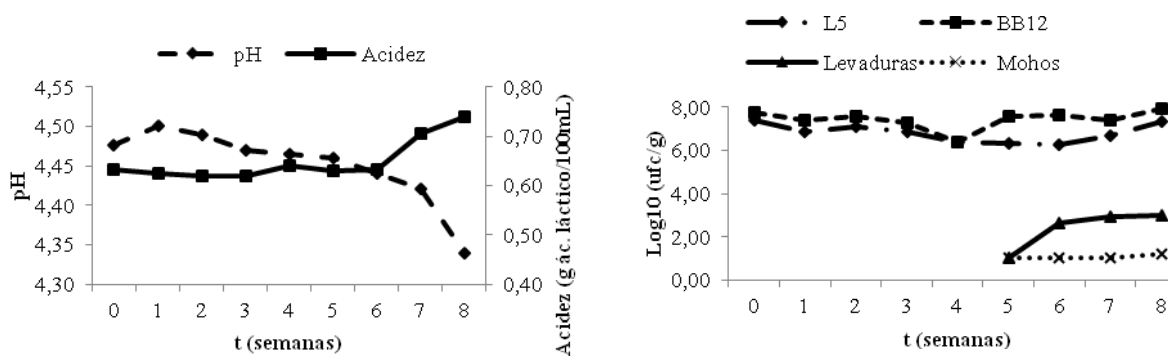
Tabla 2. Composición proximal y contenido de minerales de la leche fermentada aromatizada

Componente (g/100g)	Leche fermentada aromatizada	Requisitos
Humedad	79,07 ± 0,02	-
Proteínas	2,84 ± 0,16	Min 2,7%
Grasa	< 0,1	Máx < 1%
Cenizas	0,61 ± 0,02	
Carbohidratos totales	17,49 ± 0,15	
Fibra dietética total	4,57 ± 0,12	
Fibra soluble	1,72 ± 0,14	
Fibra insoluble	2,80 ± 0,09	

Mineral (mg/100g)		Dializabilidad (%)
Calcio	22,24 ± 1,31	36
Sodio	50,80 ± 3,52	-
Potasio	158,60 ± 13,05	25
Magnesio	6,17 ± 0,92	15
Zinc	0,37 ± 0,02	-
Cobre	0,04 ± 0,01	-
Hierro	0,17 ± 0,04	37
Manganeso	ND	-

Tabla 3. Calidad microbiológica de la leche fermentada aromatizada

Microorganismo	Recuento (ufc/g)	Requisito (ufc/g)
Coliformes totales	< 10	10
<i>E. coli</i>	< 10	0
Mohos y levaduras	< 10	10
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	0
Cultivo iniciador	3,90*10 ⁷	Min 10 ⁷
Bacterias probióticas	3,90*10 ⁷	Min 10 ⁶


Figura 2. pH, acidez titulable y recuento de bacterias probióticas, mohos y levaduras de la leche fermentada aromatizada durante el almacenamiento

DISEÑO DE PELÍCULAS ECO-ACTIVAS BASADAS EN NANOCOMPOSITOS DE ACETATO DE CELULOSA

F. J. Rodríguez, P. E. Moya, V. P. Jordan, M. J. Galotto, A. Guarda, J. E. Bruna, R. L. Abarca.

Centro para el Desarrollo de la Nanociencia y la Nanotecnología (CEDENNA). Laboratorio de Envases (LABEN-CHILE). Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Facultad Tecnológica. Universidad de Santiago de Chile.
Email: francisco.rodriguez.m@usach.cl

INTRODUCCIÓN

Frente a la problemática medio ambiental originada a partir de la gran cantidad de desechos de materiales plásticos tradicionales, el desarrollo de nanocompositos a partir de fuentes renovables ha sido planteado como una alternativa para enfrentar esta problemática. Además los nanocompositos han sido reconocidos como potenciales materiales para el desarrollo de nuevos envases de alimentos más respetuosos del medio ambiente (Cushen *et al.* 2012). A su vez, si estos materiales incorporan sustancias activas que le confieran otras propiedades, su utilización puede verse favorecida en dicha área (Suppakul *et al.* 2003). Basado en lo anterior, nuestros trabajos han estado orientados al desarrollo de eco-nanocompositos con la capacidad de presentar acción antimicrobiana. Es así como el presente trabajo presenta los resultados alcanzados en las preparación y caracterización de películas basadas en nanocompositos de acetato de celulosa, una organoarcilla comercial (Cloisite®30B), plastificante (citrato de trietilo – TEC) y timol o cinamaldehído como agentes activos.

MATERIALES Y MÉTODOS

La organoarcilla comercial Cloisite®30B (C30B) fue suministrada por Southern Clay Products, Inc. Acetato de celulosa (39,8 % en peso de contenido acetilo, Mn 30.000), citrato de trietilo (>99 %), timol (≥99,5 %) y cinamaldehído (99 %) fueron suministrados por Aldrich.

Diferentes mezclas, con contenido variable únicamente de los agentes activos, fueron preparadas manualmente. Así los diferentes nanocompositos fueron preparados a partir de mezclas de acetato de celulosa (AC), C30B (5 % en peso), TEC (20 % en peso) y timol (T) o cinamaldehído (C) en concentraciones variables de 0, 0,5, 1,0, 1,5 y 2,0 % en peso.

Los nanocompositos fueron elaborados por fundido en una extrusora de doble tornillo de 20 mm (Labtech, LTE-20) El perfil de temperatura fue ajustado entre 200 – 240 °C con una temperatura de cabezal de 240 °C. La velocidad de los tornillos principales fue ajustada a 80 rpm y la de tornillo de alimentación a 60 rpm. Las películas obtenidas del proceso de extrusión fueron recolectadas en un sistema de bobinas (Labtech, LBCR-150) acoplado al cabezal de la extrusora (Figura 1).



Figura 1. Obtención de películas en sistema de bobinas LBCR-150 acoplada a extrusora de doble tornillo LTE-20.

Por su parte las películas elaboradas fueron caracterizadas mediante medidas de color utilizando un colorímetro (Minolta CR-410), análisis nano-estructural en difractor de Rayos X (Siemens D5000) y en un microscopio electrónico de transmisión (Phillips Tecnai 12). Por su parte las pruebas antimicrobianas fueron realizadas frente a *E.coli* y *L.innocua* utilizando el protocolo establecido en la norma ASTM 2149-10.

Finalmente la cuantificación en el tiempo del agente activo cinamaldehído contenido en las películas fue realizada a partir de extracciones con metanol utilizando ultrasonido (Elmasonic S60H) de acuerdo a lo reportado por Quintero (2012). Las extracciones obtenidas de esta forma fueron posteriormente analizadas mediante cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) en un equipo Hitachi Elite LaChrom, provisto de una columna C-8 Lichrospher y un detector de arreglo de diodos (210 nm). Por su parte la fase móvil consistió de *agua:acetonitrilo:metanol* (55:35:10). La temperatura de horno fue mantenida a 35°C con un flujo constante de 1 mL/min para la fase móvil y un volumen de inyección de 5 µL.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Figura 2 muestra una fotografía de las películas obtenidas en este estudio. De sobremanera sorprende la coloración de los nanocompositos. La presencia de un color marrón

en éstas podría ser explicada producto de la degradación de la parte orgánica de la organoarcilla en el proceso de extrusión, situación que ya ha sido reportada en otros estudios vinculados a la preparación de nanocompositos (Stoeffler *et al.* 2008). Dichos cambios de coloración quedan evidenciados además en los parámetros de color determinados para algunas de las películas elaboradas (Tabla 1).

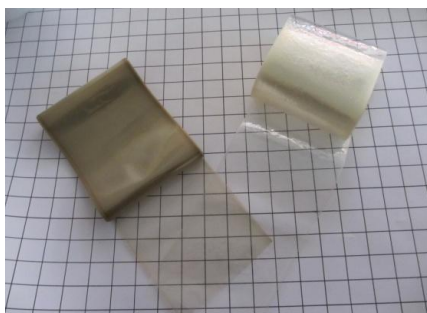


Figura 2. Películas de acetato de celulosa. Izquierda con C30B, derecha sin C30B.

Tabla 1. Resumen de los parámetros de color para las películas activas basadas en nanocompositos de acetato de celulosa.

<i>Película</i>	<i>L*</i>	<i>a*</i>	<i>b*</i>	ΔE
CA/TEC (Control)	97,1±0,35	0,03±0,005	3,15±0,35	
CA/TEC/C30B	94,2±0,26	0,07±0,01	7,56±0,15	5,32±0,26
CA/TEC/C30B/0.5T	92,9±0,51	0,05±0,01	8,98±0,54	7,19±0,65
CA/TEC/C30B/2.0T	95,2±0,58	-0,03±0,01	6,73±0,66	4,08±0,86
CA/TEC/C30B/0.5C	92,3±0,26	-0,26±0,01	7,24±0,14	4,52±0,18
CA/TEC/C30B/2.0C	94,6±1,13	-0,53±0,02	9,97±0,25	7,36±0,34

Por su parte la Figura 3 muestra los patrones de difracción de rayos X (DRX) de los nanocompositos elaborados. Todos ellos muestran un desplazamiento del máximo de difracción hacia valores de 2θ más bajo que los de la C30B. Este comportamiento da cuenta, al menos, de la intercalación del acetato de celulosa dentro de la estructura de la arcilla, dado el incremento de la distancia interlamilar de ésta lo cual queda determinado por los valores de 2θ observados. La presencia de estructuras intercaladas queda en evidencia además a partir de las micrografías TEM de las muestras elaboradas con 0,5 y 2,0 % en peso de los agentes activos. Sumado a lo anterior, aunque en menor número, la presencia de estructuras exfoliadas también pueden ser observadas (Figura 4).

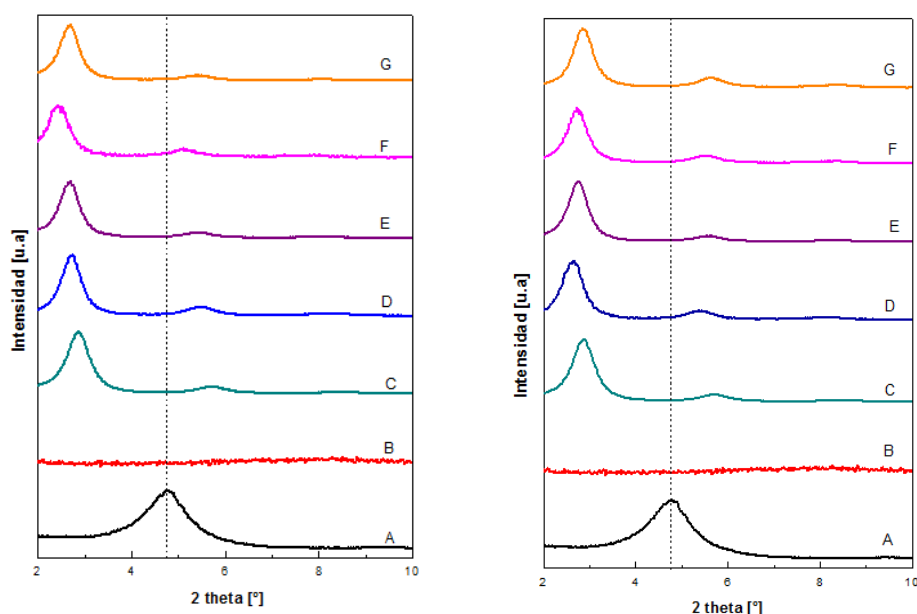


Figura 3. Patrones de difracción de rayos X de las películas elaboradas con timol (izquierda) y cinamaldehído (derecha). A) C30B, B) AC. Nanocompositos con 0 (C), 0,5 (D), 1,0 (E), 1,5 (F) y 2.0 % en peso (G) de agente activo.

Por otro lado, las Tablas 2 y 3 resumen los resultados alcanzados en cuanto a la capacidad antibactericida de las películas elaboradas tanto para *E.Coli* como *L.innocua*. Dichos resultados confirman una mayor efectividad de cinamaldehído frente al crecimiento de ambos microorganismos. Además, es posible observar un leve incremento de la actividad antimicrobiana en las películas elaboradas con C30B. Ambos efectos están de acuerdo con los reportado en una estudio basado en la preparación de nanocompositos de acetato de celulosa mediante la técnica de disolución-evaporación (Rodríguez *et al.* 2013), en donde una mayor solubilidad de cinamaldehído en agua en contraste con el timol, y la presencia de surfactante de amonio cuaternario fueron responsabilizados de estos comportamientos.

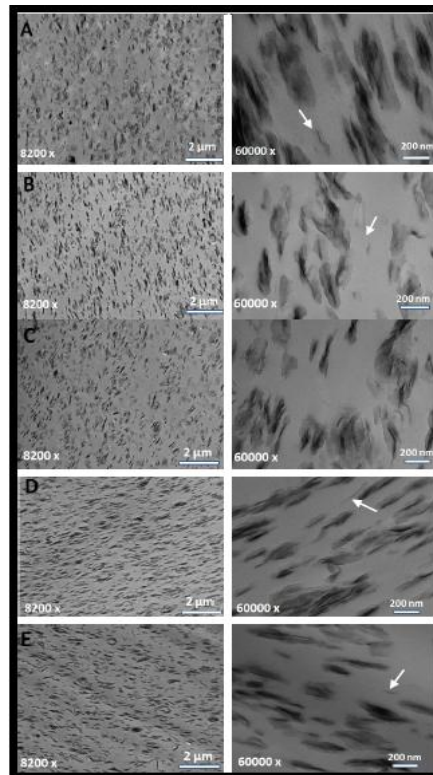


Figura 4. Micrografías TEM de A) AC/TEC/C30B, B) AC/TEC/C30B/0.5T, C) AC/TEC/C30B/2.0T, D) AC/TEC/C30B/0.5C y E) AC/TEC/C30B/2.0C.

Tabla 2. Efecto de los agentes activos en la actividad antimicrobiana frente a *E. coli* para películas de AC preparadas en presencia y ausencia de C30B.

<i>Película</i>	<i>Sin C30B</i>		<i>Con C30B</i>	
	<i>Reducción (%)</i>	<i>Reducción (log)</i>	<i>Reducción (%)</i>	<i>Reducción (log)</i>
CA/TEC/C30B/0.5T	34,3±4,61	0,18±0,03	Sin reducción	Sin reducción
CA/TEC/C30B/2.0T	43,0±6,47	0,25±0,05	Sin reducción	Sin reducción
CA/TEC/C30B/0.5C	89,2±5,58	1,02±0,28	95,6±1,43	1,36±0,14
CA/TEC/C30B/2.0C	89,4±1,70	0,98±0,07	96,8±1,21	1,50±0,16

Tabla 3. Efecto de los agentes activos en la actividad antimicrobiana frente a *L. innocua* para películas de AC preparadas en presencia y ausencia de C30B.

<i>Película</i>	<i>Sin C30B</i>		<i>Con C30B</i>	
	<i>Reducción (%)</i>	<i>Reducción (log)</i>	<i>Reducción (%)</i>	<i>Reducción (log)</i>
CA/TEC/C30B/0.5T	Sin reducción	Sin reducción	Sin reducción	Sin reducción
CA/TEC/C30B/2.0T	53,0±8,27	0,33±0,08	25,2±1,64	0,13±0,01
CA/TEC/C30B/0.5C	40,3±6,44	0,23±0,05	69,1±8,37	0,46±0,19
CA/TEC/C30B/2.0C	57,0±3,37	0,22±0,08	84,5±0,71	0,81±0,02

Debido a la volatilidad de los agentes activos utilizados, se realizó un estudio orientado a evaluar la variación de la concentración de cinamaldehído en las películas de acetato de celulosa elaboradas con y sin C30B durante un periodo de 65 días (Tabla 4). En primer lugar es importante destacar que alrededor de un 25 % del compuesto activo es perdido durante el proceso de extrusión. Las altas temperaturas utilizadas en el proceso de extrusión (>200 °C) serían la principal causa de este comportamiento. Como puede observarse además al cabo de 65 días el contenido del aldehído ha sido reducido en alrededor de un 40 % respecto al contenido inicial. A pesar de esta reducción, las películas aún presentan un contenido de cinamaldehído por sobre la concentración mínima inhibitoria (Sepúlveda 2011). Es importante destacar que este último hecho es trascendental en el desarrollo de materiales con actividad antimicrobiana, ya que se permite validar la eficacia de las películas activas incluso después de transcurrido más de 2 meses desde la elaboración de éstas. Además, los resultados obtenidos permiten confirmar la buena interacción entre la matriz polimérica y el cinamaldehído, hecho que permite reducir en parte la pérdida de este compuesto por volatilización hacia el entorno.

Tabla 4. Variación de la concentración efectiva de cinamaldehído en películas activas basadas en nanocompositos de acetato de celulosa preparadas con una concentración nominal de 2 % en peso.

Tiempo (días)	Contenido efectivo de cinamaldehído (% en peso)	
	AC/TEC/2.0C	AC/TEC/C30B/2.0C
1	1,50±0,19	1,49±0,10
35	1,64±0,18	1,68±0,47
50	1,43±0,08	1,47±0,09
65	1,33±0,07	1,18±0,03

CONCLUSIONES

Fue posible elaborar películas activas basadas en acetato de celulosa, C30B, TEC y agentes activos consistentes de derivados de aceites esenciales. Los nanocompositos elaborados se caracterizaron por presentar mayoritariamente estructuras intercaladas con una leve presencia de estructuras exfoliadas. Las películas activas elaboradas mostraron la capacidad de inhibir el crecimiento de *E.coli* y *L.innocua*, sin embargo, las fabricadas a partir de cinamaldehído presentaron los mejores resultados. Una pérdida de alrededor del 25% de cinamaldehído fue detectada en el proceso de extrusión. A pesar de esto último, el contenido presente, incluso después de 65 días, permite validar la efectividad antimicrobiana de las películas elaboradas con cinamaldehído.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a CONICYT, por el apoyo a través del Programa de Financiamiento Basal para Centros Científicos y Tecnológicos de Excelencia (FB0807) y Programa FONDECYT de Iniciación (11100389).

BIBLIOGRAFÍA

- Cushen M., Kerry J., Morris M., Cruz-Romero M., Cummins E. (2012). *Trends in Food Science and Technology*. Nanotechnologies in the food industry – Recent developments, risks and regulation. 24, 30-46.
- Quintero R. (2012). Desarrollo de una película con actividad antimicrobiana a base de nanocomposito de derivado de celulosa. Tesis. Universidad de Santiago de Chile. Santiago – Chile.

Rodríguez F., Sepúlveda H. M., Bruna J., Guarda A., Galotto M. J. (2013). *Packaging Technology and Science*. Development of Cellulose Eco-nanocomposites with Antimicrobial Properties Oriented for Food Packaging. 26, 149-160.

Sepúlveda H. (2012). Desarrollo de eco-nanocompositos basados en acetato de celulosa-Cloisite30B con potencial actividad antimicrobiana. Tesis. Universidad de Santiago de Chile. Santiago – Chile.

Stoeffler K., Lafleur P. G., Denault J. (2008). *Polymer Degradation and Stability*. Thermal decomposition of various alkyl onium organoclays: Effect on polyethylene terephthalate nanocomposites' properties. 93, 1332-1350.

Suppakul P., Miltz J., Sonneveld K., Bigger S. W. (2003). *Journal of Food Science*. Active Packaging technologies with and emphasis on antimicrobial packaging and its applications. 68, 408-420.

NUEVOS NANOCOMPOSITOS ANTIMICROBIANOS BASADOS EN POLIÁCIDO LÁCTICO Y MONTMORILLONITAS MODIFICADAS CON COBRE OBTENIDOS MEDIANTE EXTRUSION EN FUNDIDO

J. E. Bruna, L. Espinoza, F. Rodríguez, A. Guarda, M^a. José Galotto.

Laboratorio de Envases para los Alimentos (Laben-Chile) Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Facultad Tecnológica, Centro para el Desarrollo de Nanociencia y Nanotecnología (CEDENNA), Universidad de Santiago de Chile. Obispo Manuel Umaña 050. Estación Central. Santiago. Chile.
E-mail: julio.bruna@usach.cl

INTRODUCCIÓN

Los polímeros de origen petroquímico han sido ampliamente utilizados para el envasado de alimentos, debido a su gran versatilidad, bajo costo, peso ligero y facilidad de procesamiento (Duncan, 2011). Sin embargo, gran parte de los envases plásticos terminan transformándose en residuos que se acumulan en los vertederos y hábitats naturales, generando un serio problema de contaminación medioambiental, causado por la baja degradabilidad que este tipo de materiales posee (Siracusa y col., 2008). El reciclado de los materiales plásticos, podría ser la solución a este problema medioambiental, sin embargo, la mayoría de los plásticos desechados se encuentran contaminados por productos alimenticios y sustancias biológicas, provocando que su reciclado sea poco práctico e inconveniente desde el punto de vista económico (Siracusa y col., 2012).

En el último tiempo se ha dado gran énfasis, al desarrollo de polímeros biodegradables con el fin de ser utilizados en el envasado de alimentos, debido a que son materiales que son degradados por microorganismos, lo cual no produce residuos tóxicos o perjudiciales para el medio ambiente (Rhim y col., 2013), siendo considerados como un sustituto potencial de los polímeros no biodegradables y/o renovables en el envasado de alimentos. Uno de los biopolímeros prometedores para este fin es el poliácido láctico (PLA), el cual es un polímero termoplástico, biocompatible y biodegradable (Saeidlou y col., 2012), que además posee una alta resistencia, alto módulo de elasticidad, buena procesabilidad, transparencia y compostabilidad (Rhim y col., 2009; Saeidlou y col., 2012). A pesar de todas las ventajas que posee este polímero, este material posee alta permeabilidad al vapor de agua y gases, siendo una característica limitante en el envasado de algunos tipos de alimentos, por lo que se ve la necesidad de desarrollar nuevas estrategias con el fin de mejorar sus deficiencias (Arora y col., 2010).

Una alternativa prometedora con el fin de mejorar estas deficiencias es el uso de la nanotecnología, la que podría permitir mejorar las propiedades de barrera de los biopolímeros mediante la incorporación de nanopartículas, siendo las arcillas uno de los refuerzos más estudiados para este fin, debido a que las arcillas presentan alta disponibilidad, bajo costo, buen rendimiento y buena procesabilidad (Majeed y col., 2013), siendo la montmorillonita una de las arcillas más utilizadas para mejorar las propiedades de barrera a gases, térmicas (especialmente la temperatura de transición vítrea (Tg)) y mecánicas de los materiales en los que han sido incorporadas (Azeredo y col., 2011; Duncan, 2011).

A pesar de todo el desarrollo que ha sido realizado con el fin de mejorar las propiedades de los materiales utilizados en los envases para alimentos, existe la necesidad de desarrollar materiales que sean capaces de tener una interacción positiva con el alimento, como respuesta a las exigencias de los consumidores por alimentos frescos, con buena apariencia y con una conservación adecuada de sus propiedades; del cambio de estilo de vida al requerir productos de fácil consumo y semi elaborados; y a la globalización del mercado, el cual exige mayor frescura y durabilidad de los alimentos (García, 2008). Los denominados envases activos se han desarrollado con la finalidad de satisfacer estas necesidades, siendo el principal interés el prolongar la vida útil de los productos alimenticios de una forma más eficaz que los envases convencionales o tradicionales.

Dentro de los envases activos uno de los que a atraído mayor interés son los denominados envases antimicrobianos, debido a que poseen incorporados agentes activos que inhiben o retardan el crecimiento de microorganismos patógenos que pueden estar presentes en el alimento envasado o en el envase en sí (Mensitieri y col., 2011). Para ello, han sido estudiados diferentes tipos de agentes antimicrobianos, tales como ácidos orgánicos, enzimas, quelantes, antibióticos y metales (Rhim y col., 2013), en específico, se ha investigado el efecto inhibitorio de nanopartículas de diferentes metales como: de plata, oro, zinc, titanio y cobre, siendo este último uno de los agentes antimicrobianos más destacados por poseer una fuerte actividad antimicrobiana frente a un amplio rango el cual comprende bacterias, levaduras, hongos y virus (Grass y col., 2011; Longano y col., 2012)

El objetivo de este trabajo fue obtener nanocompositos de poliácido láctico (PLA) con actividad antimicrobiana mediante técnica de extrusión en fundido, utilizando como agente activo montmorillonita modificada con cobre en estado iónico y metálico ($MtCu^{2+}$ y $MtCu^0$) en diferentes composiciones, siendo evaluadas sus propiedades ópticas, estructurales, térmicas, mecánicas, así como sus actividades antimicrobianas frente a *Escherichia coli* (ATCC25922) y *Listeria innocua* (ATCC33090).

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Los materiales utilizados en este estudio fueron: Poliácido láctico (PLA), Ingeo™ Biopolymer 2003D, NatureWorks LLC. Polietilenglicol (PEG), Mn 400, Aldrich. Montmorillonita natural obtenida en Southern Clay Products, Inc. bajo el nombre comercial de Cloisite® Na⁺. Sulfato de cobre pentahidratado (CuSO₄ × 5H₂O) con 99.995% traza de metales, Aldrich. Borohidruro de sodio (NaBH₄), polvo, 98%, Aldrich. Medio de cultivo Luria-Bertani (LB) para bacterias. *Escherichia coli* (ATCC25922) y *Listeria innocua* (ATCC33090), obtenidas desde el instituto de salud pública, ISP (Santiago, Chile).

Modificación de Montmorillonita (Mt)

Mt fue modificada en solución acuosa mediante intercambio iónico, de acuerdo al trabajo previo realizado en nuestros laboratorios (Bruna y col., 2012). Luego la arcilla modificada (MtCu²⁺) fue reducida en una solución de NaBH₄ con agitación continua, durante 1 h a 40°C. Una vez finalizada la reducción, se centrifugó durante 1 h a 4000 rpm y se realizaron lavados al sólido con soluciones etanol/agua. La arcilla reducida fue secada a 40°C durante 48 h, reduciendo finalmente su tamaño en un molino a un tamaño inferior a 45 µm.

Obtención de Nanocompositos

Se obtuvieron films de PLA y los nanocompositos PLA/PEG/MtCu mediante la técnica de extrusión en fundido a 185 °C, en composiciones de 1, 3 y 5 % en masa tanto para MtCu²⁺ como para MtCu⁰. Utilizando una extrusora doble tornillo (Lab Tech LTE 20-40). Los films obtenidos fueron de 12 cm con un espesor aproximado de 90 µm.

Caracterización

Se realizó el análisis de difracción de rayos X mediante un equipo Siemens D5000 (30mA y 40kV) provisto de una radiación CuKα (λ=1,54 Å). Todos los espectros se realizaron en un intervalo de ángulo 2θ entre 2 a 10° a una velocidad de barrido de 0,02° / seg.

La morfología de los nanocompositos fue analizada mediante un microscopio electrónico de transmisión (TEM) Phillips Tecnai 12 Bio Twin a 80 kV, obteniendo micrografías a 43000x y 60000x de magnificación.

Se realizó el estudio térmico mediante calorimetría diferencial de barrido, DSC, usando un equipo Mettler Toledo, DSC 822e, en donde las muestras fueron sometidas a una

velocidad constante 10 °C/min, calentando de 0 a 200 °C. Los datos fueron obtenidos desde el barrido del segundo calentamiento.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Difracción de Rayos X (DRX)

En la Figura 1 y 2 se muestran los resultados obtenidos de DRX, para la montmorillonita pura (Mt) y modificadas (MMTCu²⁺ y MMTCu⁰) y los nanocompositos con cada arcilla modificada MtCu²⁺ y MtCu⁰. Para ambos nanocompositos puede observarse un aumento en el espacio interlamilar al ser comparados con sus respectivos nanorellenos, desde 1,22nm hasta 1,79 nm para PLA/MtCu²⁺ y desde 1,25 nm hasta 1,77 nm para PLA/MtCu⁰, lo que evidencia la incorporación de las cadenas de PLA en el interior de las arcillas.

Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM)

Se analizaron los films mediante TEM con el fin de evaluar el comportamiento de las arcillas modificadas en la matriz polimérica, siendo posible observar en la figura 3 que las arcillas modificadas se encuentran distribuidas en forma homogénea en la matriz polimérica. Además, es posible observar que las arcillas se encuentran intercaladas corroborando los resultados obtenidos por DRX. Cabe señalar que en el caso de nanocompositos conteniendo MtCu⁰, se observan nanopartículas de Cu⁰ fuera de la estructura de la arcilla.

Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)

Se evaluó, el efecto de la adición de las arcillas modificadas sobre temperatura de transición vítrea (Tg), temperatura de cristalización en frío (Tcc) y temperatura de fusión (Tm) con sus entalpías correspondientes, así como el porcentaje de fracción cristalina en el polímero. En las tablas 1 y 2 se puede observar que las temperaturas de fusión no presentan diferencias significativas tanto para los nanocompositos PLA/MtCu²⁺ como para PLA/MtCu⁰, al ser comparadas con el PLA/PEG. Sin embargo se observa, que tanto Tg, Tcc, y la cristalinidad de los nanocompositos varían de forma significativa tras la adición de MtCu²⁺ y MtCu⁰.

Actividad Antimicrobiana

Se evaluó la actividad antimicrobiana de los nanocompositos frente a *E. coli* y *L. innocua*, sobre placas de LB. En las tablas 3 y 4 se muestran los resultados obtenidos (ciclos logarítmicos y el porcentaje de reducción) para cada uno de los evaluados, pudiendo observar que la presencia de ambas arcillas modificadas (MtCu²⁺ y MtCu⁰) inhibe el crecimiento

microbiano, llegando a obtener 3,54 ciclos logarítmicos al adicionar un 10% de nanocompuesto.

CONCLUSIONES

Es posible obtener nanocompositos PLA/MtCu²⁺ y PLA/MtCu⁰ mediante la técnica de extrusión en fundido, siendo posible evidenciar mediante DRX y TEM que las arcillas modificadas se encuentran intercaladas en el interior de la matriz polimerica. Además fue posible observar que incorporación de MtCu²⁺ y MtCu⁰ en PLA provocó cambios en las propiedades térmicas de los films obtenidos frente a PLA.

Por otra parte, se evidenció actividad antimicrobiana en los nanocompositos obtenidos frente a los dos microorganismos evaluados, observando un mayor porcentaje de reducción para los nanocompositos de 10% de MtCu²⁺.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el soporte financiero de CONICYT (Proyecto Fondecyt de iniciación N°11110518) y al programa de Financiamiento Basal para Centros Científicos y Tecnológicos de Excelencia (Proyecto FB0807).

BIBLIOGRAFIA

- Arora, A. Padua, G. W. (2010). Review: Nanocomposites in Food Packaging. *Journal of Food Science*, 75(1), R43-R49.
- Azeredo, H. M. C., Capparelli, L. McHugh, T. (2011). Nanocomposites in Food Packaging – A Review. In D. B. Reddy (Ed.), *Advances in Diverse Industrial Applications of Nanocomposites*, (pp. 57-78): InTech.
- Bruna, J. E., Peñalosa, A., Guarda, A., Rodríguez, F. Galotto, M. J. (2012). Development of MtCu²⁺/LDPE nanocomposites with antimicrobial activity for potential use in food packaging. *Applied Clay Science*, 58(0), 79-87.
- Duncan, T. V. (2011). Applications of nanotechnology in food packaging and food safety: Barrier materials, antimicrobials and sensors. *Journal of Colloid and Interface Science*, 363(1), 1-24.
- García, M. L. (2008). Envasado a vacío y en atmósfera modificada y utilización de los envases activos e inteligentes en carnes de aves. *Revista del Comité Científico de la AESAN*, 7, 45-54.
- Grass, G., Rensing, C. Solioz, M. (2011). Metallic copper as an antimicrobial surface. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(5), 1541-1547.

- Longano, D., Ditaranto, N., Sabbatini, L., Torsi, L., Cioffi, N. (2012). Synthesis and Antimicrobial Activity of Copper Nanomaterials. In N. Cioffi, M. Rai (Eds.), *Nano-Antimicrobials*, (pp. 85-117): Springer Berlin Heidelberg.
- Majeed, K., Jawaid, M., Hassan, A., Abu Bakar, A., Abdul Khalil, H. P. S., Salema, A. A., Inuwa, I. (2013). Potential materials for food packaging from nanoclay/natural fibres filled hybrid composites. *Materials & Design*, 46(0), 391-410.
- Mensitieri, G., Di Maio, E., Buonocore, G. G., Nedi, I., Oliviero, M., Sansone, L., Iannace, S. (2011). Processing and shelf life issues of selected food packaging materials and structures from renewable resources. *Trends in Food Science & Technology*, 22(2-3), 72-80.
- Rhim, J. W., Hong, S.-I., Ha, C.-S. (2009). Tensile, water vapor barrier and antimicrobial properties of PLA/nanoclay composite films. *LWT - Food Science and Technology*, 42(2), 612-617.
- Rhim, J. W., Park, H. M., Ha, C. S. (2013). Bio-nanocomposites for food packaging applications. *Progress in Polymer Science*(0).
- Saeidlou, S., Huneault, M. A., Li, H. B., Park, C. B. (2012). Poly(lactic acid) crystallization. *Progress in Polymer Science*, 37(12), 1657-1677.
- Siracusa, V., Blanco, I., Romani, S., Tylewicz, U., Rocculi, P., Dalla Rosa, M. (2012). Poly(lactic acid)-modified films for food packaging application: Physical, mechanical, and barrier behavior. *Journal of Applied Polymer Science*, 125(S2), E390-E401.
- Siracusa, V., Rocculi, P., Romani, S., Dalla Rosa, M. D. (2008). Biodegradable polymers for food packaging: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 19(12), 634-643.

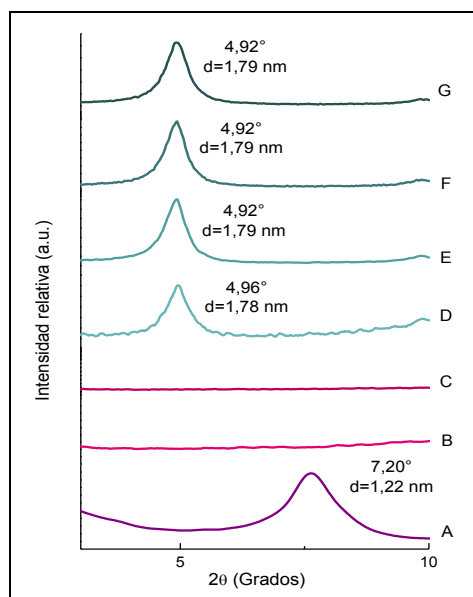


Figura 1: Patrones DRX de arcilla y nanocompositos:
A) MtCu²⁺, B) PLA, C) PLA/PEG, D) PLA/PEG/1%MtCu²⁺, E) PLA/PEG/3%MtCu²⁺, F) PLA/PEG/5%MtCu²⁺, G) PLA/PEG/10%MtCu²⁺.

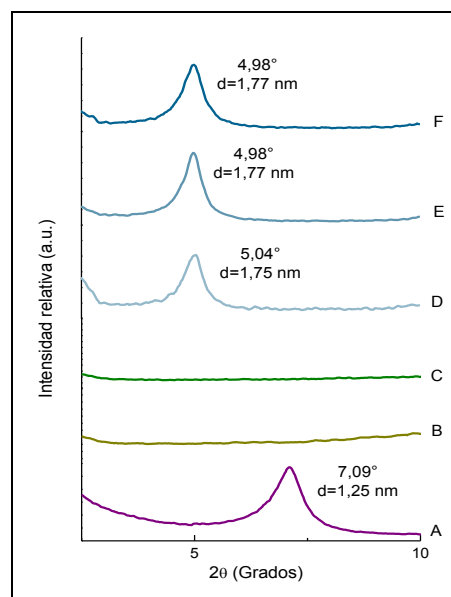


Figura 2: Patrones DRX de arcilla y nanocompositos:
A) MtCu⁰, B) PLA, C) PLA/PEG, D) PLA/PEG/1%MtCu⁰, E) PLA/PEG/3%MtCu⁰, F) PLA/PEG/5%MtCu⁰.

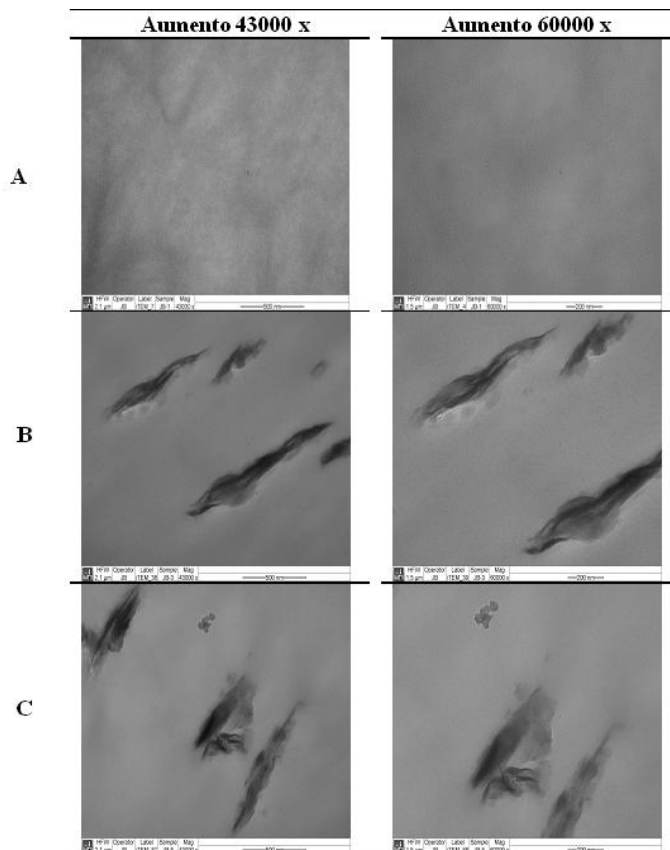


Figura 3: Micrografías TEM de nanocompositos:
A) PLA; B) PLA/PEG/5%MtCu²⁺; C) PLA/PEG/5%MtCu⁰

Tabla 1: Propiedades térmicas de PLA, PLA/PEG y nanocompositos PLA/PEG/MtCu²⁺

Muestra	Tg [°C]	Tcc [°C]	Tm [°C]	ΔHcc [J/g]	ΔHm [J/g]	Xc
PLA	59,1	113,3	149,4	23,1	24,1	1,1
PLA/PEG	36,6	83,4	153,2	18,3	27,5	9,9
PLA/PEG/1%MtCu ²⁺	36,7	81,9	153,1	18,0	29,4	12,2
PLA/PEG/3%MtCu ²⁺	35,7	82,7	152,9	18,5	31,1	13,6
PLA/PEG/5%MtCu ²⁺	40,1	85,8	152,4	17,3	25,6	8,9
PLA/PEG/10%MtCu ²⁺	43,2	91,6	153,3	17,7	22,4	5,0

Tabla 2: Propiedades térmicas de PLA, PLA/PEG y nanocompositos PLA/PEG/MtCu⁰

Muestra	Tg [°C]	Tcc [°C]	Tm [°C]	ΔHcc [J/g]	ΔHm [J/g]	Xc
PLA	59,1	113,3	149,4	23,1	24,1	1,1
PLA/PEG	36,6	83,4	153,2	18,3	27,5	9,9
PLA/PEG/1%MtCu ⁰	29,19	67,02	151,13	1,84	31,43	31,82
PLA/PEG/3%MtCu ⁰	24,95	72,69	150,96	5,30	32,49	29,24
PLA/PEG/5%MtCu ⁰	18,68	67,15	149,56	1,83	32,72	33,22

Tabla 3: Actividad antimicrobiana de nanocompositos frente a *E. coli*.

Muestra	UFC/mL x 10 ⁻³	Reducción	
		Log (UFC/mL)	%
PLA/PEG/1%MtCu ²⁺	559 ± 423	1,97	98,93
PLA/PEG/3%MtCu ²⁺	139 ± 76	2,58	99,73
PLA/PEG/5%MtCu ²⁺	125 ± 88	2,62	99,76
PLA/PEG/10%MtCu ²⁺	15 ± 3	3,54	99,97
PLA/PEG/1%MtCu ⁰	17000 ± 7860	0,49	67,45
PLA/PEG/3%MtCu ⁰	206 ± 142	2,40	99,61
PLA/PEG/5%MtCu ⁰	133 ± 29	2,59	99,74

Los valores son presentados como la media ± SD de tres replicas

Tabla 4: Actividad antimicrobiana de nanocompositos frente a *L. innocua*

Muestra	UFC/mL x 10 ⁻³	Reducción	
		Log (UFC/mL)	%
PLA/PEG/1%MtCu ²⁺	19444 ± 694	0,98	89,58
PLA/PEG/3%MtCu ²⁺	700 ± 173	2,43	99,63
PLA/PEG/5%MtCu ²⁺	66 ± 8	3,45	99,96
PLA/PEG/10%MtCu ²⁺	17 ± 2	4,03	99,99
PLA/PEG/1%MtCu ⁰	18778 ± 385	1,00	89,94
PLA/PEG/3%MtCu ⁰	2033 ± 88	1,96	98,91
PLA/PEG/5%MtCu ⁰	264 ± 47	2,85	99,86

Los valores son presentados como la media ± SD de tres replicas

ECO-COMPOSITOS BASADOS EN UN DESECHO AGROINDUSTRIAL Y POLIÁCIDO LÁCTICO CON ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA Y ANTIOXIDANTE PARA POTENCIAL USO EN ENVASES DE ALIMENTOS

J. E. Bruna, M. Castillo, R. Ocampo, F. Rodríguez, A. Guarda, Ma. José Galotto

Laboratorio de Envases para los Alimentos (Laben-Chile) Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Facultad Tecnológica, Centro para el Desarrollo de Nanociencia y Nanotecnología (CEDENNA), Universidad de Santiago de Chile. Obispo Manuel Umaña 050. Estación Central. Santiago. Chile.
E-mail: julio.bruna@usach.cl

INTRODUCCIÓN

En el último tiempo se han realizado gran cantidad de estudios e investigaciones orientadas a aumentar la vida útil de los alimentos y evitar o disminuir su deterioro, tanto por agentes biológicos (mayoritariamente por presencia de microorganismos) (Katiyar et al. 2011) como no biológicos (temperatura, humedad, luz, pH y la presencia de oxígeno) (Gram et al. 2002; Marsh and Bugusu 2007). De esta forma, el envasado juega un rol fundamental en la disminución del deterioro de los alimentos, ya que al contenerlos y protegerlos, permiten conservar su calidad, disminuyendo el impacto que los agentes externos puedan ocasionar a los alimentos envasados.

En la actualidad, los envases para alimentos son elaborados a partir de distintos tipos de materiales, como metales, vidrio, papel y plásticos (Marsh and Bugusu 2007). Dentro de los cuales, los plásticos son los más utilizados debido a que poseen un bajo coste de producción, disponibilidad a gran escala, gran versatilidad y buenas propiedades de barrera (Arrieta 2011). Sin embargo, a pesar de las múltiples ventajas que ofrecen, los materiales predominantes para este tipo de aplicaciones son derivados del petróleo, tales como polietileno, poliestireno, polipropileno, policloruro de vinilo y poliéster, representando un creciente problema para el medio ambiente, ya que se vuelven una fuente importante de contaminación y residuos, debido a su débil y escasa degradación (Siracusa et al. 2008). Es por este motivo, que se ha vuelto un tema imperioso el desarrollo de nuevos materiales que sean ecológicamente amigables (ecoamigables), ya sea por el uso de materias primas renovables o permitiendo la disminución en la acumulación de desechos por medio de la biodegradación. En este sentido, los denominados biopolímeros han presentado un fuerte interés como alternativa a los polímeros convencionales (Tokiwa et al. 2009). Los biopolímeros son materiales que tienen el atributo de ser altamente biodegradables en condiciones de compostaje (Mina et al. 2012), los cuales han generado un gran interés para

ser utilizados en envases para alimentos. Entre los biopolímeros más usados se encuentra el polihidroxialcanato (PHA), la policaprolactona (PCL) y el ácido poliláctico (PLA) (Herryman et al. 2005; Siracusa et al. 2008; Katiyar et al. 2011). A pesar de permitir la reducción del impacto ambiental, estos materiales, a diferencia de los polímeros sintéticos, poseen bajas propiedades mecánicas, al ser frágiles y quebradizos (Mina et al. 2012). Es por esto, que se han realizado diferentes estudios en torno al mejoramiento de estos polímeros, reforzándolos con nuevos componentes, como arcillas y plastificantes, con el fin de mejorar sus propiedades, tanto mecánicas como fisicoquímicas (Avella et al. 2005; Zhang et al. 2005). Por otra parte, en el último tiempo, se ha desarrollado un nuevo tipo de envases denominados activos, en los cuales un agente activo es incorporado a la matriz polimérica otorgándole cualidades que permitan alargar la vida útil de los alimentos (Gemili et al. 2010). Los envases activos pueden clasificarse dependiendo de la característica que el aditivo posea, entre los cuales, los que presentan actividad antioxidante o antimicrobiana son los que presenta mayores expectativas (Suppakul et al. 2003; Jamshidian et al. 2012). Los primeros retardan y previenen la aparición de radicales libres en el alimento, actuando en las reacciones de oxidación de las moléculas presentes (Kähkönen et al. 1999; Siddhuraju and Becker 2003), mientras que los segundos inhiben la acción de los microorganismos causantes de la contaminación de los productos. Además, es sabido que existen compuestos, tales como los polifenoles, que presentan ambos tipos de actividad (Wanasundara and Shahidi 2005), siendo estos encontrados en diferentes tipos de verduras, semillas, flores, frutas y bayas. El objetivo de este trabajo fue obtener biocompositos de poliácido láctico (PLA) con un desecho agroindustrial (DA) mediante la técnica de extrusión en fundido, en diferentes composiciones, con nuevas propiedades mecánicas y físico-químicas, así como con actividad antioxidante y antimicrobiana.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Los materiales utilizados en este estudio fueron: Poliácido láctico (PLA), Ingeo™ Biopolymer 2003D, NatureWorks LLC. Glicerol (Sigma-Aldrich, 99% de pureza, PM: 92,09 g/mol). Material de Desecho agroindustrial (DA). *Escherichia coli* (ATCC25922) y *Listeria innocua* (ATCC33090), cepas obtenidas del Instituto de Salud Pública, ISP (Santiago, Chile).

Preparación de Desecho Agroindustrial

Debido a que el material de desecho agroindustrial (DA) provenía directamente de la industria, se realizó un procedimiento previo a la incorporación en la matriz polimérica (PLA). Para esto, primeramente el DA fue separado de todas las impurezas, siendo posteriormente secado en una estufa a 50 °C, durante 72 horas. Posteriormente, se redujo de tamaño mediante un molino, para finalmente ser separado en un tamiz de 200 mallas, obteniendo de esta forma partículas $\leq 75 \mu\text{m}$.

Obtención de Nanocompositos

Para la obtención de los biocompositos PLA/DA primero se realizó un mezclado físico entre el DA y glicerol (Gli), usado como plastificante, con el fin de homogenizar el material. Los biocompositos se obtuvieron en diferentes composiciones respecto al aditivo adicionado (0,5; 1,0; 2,5; 5,0 y 10%), manteniendo la relación entre PLA y Gli constante (95:5). Posteriormente, el material homogenizado fue introducido en una extrusora doble tornillo (Scientif LabTech modelo LTE20), siendo extruido a 185°C. El material fundido, fue recibido en rodillos de enfriamiento Chill Roll LabTech LBCR-150, obteniendo de esta forma, films de 3 cm de ancho, con un espesor de aproximadamente 80 μm .

Caracterización

Las propiedades térmicas de los biocompositos fueron analizados mediante análisis DSC donde cada muestra (8mg) fue sometida a dos barridos térmicos a una velocidad constante de 10°C/min en un rango de temperatura de 25-200°C en atmósfera de nitrógeno, en un calorímetro Mettler Toledo model DSC 822e. Los datos fueron obtenidos del segundo barrido. Las propiedades mecánicas de los biocompositos se evaluaron mediante análisis de esfuerzo-deformación. Para esto los films fueron previamente acondicionados a una humedad relativa de 50% por 48 horas a 25°C. Los análisis se realizaron utilizando una máquina universal de ensayo de tracción Zwick Roell modelo BDO-FT 0.5 TH de acuerdo con la norma ASTM D-882. La capacidad de inhibición de radicales libres de los biocompositos, se determinó utilizando la técnica de 2,2-difenil-1 picrihidrazil (DPPH), para esto se puso en contacto la muestra analizada con la solución de DPPH determinando la variación de absorbancia en un tiempo y longitud de onda establecidos. El estudio de actividad antimicrobiana se realizó frente a E.coli ATCC 25922, utilizando para ello la norma ASTM E 2149-10.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)

En la tabla 1 es posible observar un leve aumento de la Temperatura de fusión (T_m) tras la incorporación del Gli, ya que como plastificante, este puede insertarse y posicionarse dentro de la matriz mejorando la movilidad de las cadenas. Sin embargo, tras la adición de DA no se observaron variaciones significativas en esta temperatura. Por último, al evaluar la cristalinidad (X_c) no se observa una variación importante tras la adición de Gli, mientras que al incorporar el DA aumenta la X_c del polímero, lo cual podría estar relacionado a una posible interacción entre la celulosa presente en el DA con la matriz polimérica, en donde el valor tiende a aumentar en forma proporcional a la concentración del aditivo incorporado al film, obteniendo 1,9% de cristalinidad para mínima concentración de DA (0,5%) y 3,4% para la mayor concentración (10%).

Propiedades Mecánicas

En la Tabla 2 Se puede observar que tras la incorporación de Gli en PLA, disminuye el módulo de elasticidad, debido a que reduce la interacción entre las cadenas biopolímero, aumentando la flexibilidad y extensibilidad del film. Por otra parte, tras la incorporación del DA se observa una disminución del módulo de elasticidad al incrementar la concentración de DA, llegando a un valor de 470 N/mm^2 al trabajar con un 10% de DA. El mismo efecto se puede apreciar en la fuerza de tensión. Por otra parte, la elongación a la ruptura sufre un ligero aumento al incorporar Gli, mientras que al incorporar DA es posible observar un leve incremento pero sin diferencias significativas entre las concentraciones 0,5 y 2,5% de DA en la matriz polimérica. Sin embargo, se observa un aumento con diferencia significativa a partir del 5% de DA llegando a obtener 6,9% de elongación a la ruptura, dando indicio que las fibras incorporadas del DA se unen con mayor fuerza a la matriz, otorgándole ductilidad y mayor resistencia en las concentraciones más altas.

Microscopia electrónica de Barrido (SEM)

En la Figura 1c es posible observar a nivel superficial la aparición de aglomeraciones, debido a la alta concentración de DA, lo que no es observado en la Figura 1a y 1b. Por otra parte, al evaluar las zonas transversales de corte es posible observar en las Figuras 1e y 1f la presencia de las fibras del DA dispersas en las muestras, estos resultados sugieren que el DA incorporado ayudó a la matriz a obtener mayor ductibilidad y elasticidad, lo que corrobora los resultados obtenidos anteriormente en las propiedades mecánicas.

Actividad Antioxidante

Como se observa (Tabla 2) los films de PLA y PLA/Gli no presentan actividad antioxidante. Por otra parte, los films que contienen DA presentan actividad antioxidante, siendo capaces de inhibir radicales libres, donde la actividad aumenta con la concentración de DA en el material desde 3,59 hasta 41,25% para 0,5 y 10% de DA respectivamente, esto debido a los polifenoles presentes en el DA que actúan como agentes reductores, donadores de hidrógeno o inhibidores de oxígeno singlete.

Actividad Antimicrobiana

Se evaluó la actividad antimicrobiana de los biocompositos frente a *E. coli*, observándose (Tabla 4) que los films de PLA y PLA/Gli no mostraron inhibición frente a *E.coli*, mientras que los films de compositos PLA/DA si presentaron actividad antimicrobiana, lo que está directamente relacionado con la presencia de DA en el film. Es posible observar, que a medida que se aumenta la concentración de DA en el material aumenta la actividad antimicrobiana frente a *E.coli*, llegando a un valor máximo de reducción de un 60,81% al tener la presencia de un 10% de DA en el film, este efecto antimicrobiano se debe a la presencia mayoritaria de compuestos fenólicos, los cuales actúan sobre la membrana celular, formando complejos inestables al inactivar las enzimas intracitoplasmáticas, quedando las moléculas lipofílicas atrapadas por los fosfolípidos de la membrana, teniendo un efecto bactericida sobre el microorganismo.

CONCLUSIONES

La incorporación de un desecho agroindustrial modifica las propiedades físico-mecánicas en una matriz de ácido poliláctico, obteniendo biocompositos con características más elásticas y menos quebradizos, reflejado en una disminución del modulo de elasticidad y la fuerza de tensión, además con un incremento en la elongación a la ruptura, solucionando en parte una de las desventajas del uso de biopolimeros frente a polímeros convencionales en la actualidad. El contenido fenólico presente en el DA le otorga a los biocompositos cualidades antioxidantes, llegando a obtener 41,25% de inhibición de radicales libres al trabajar con 10% de DA, demostrando que este material de desecho aún es procesable y reutilizable, ayudando al medio ambiente y otorgándole actividad a este tipo de materiales. Además, los biocompositos de PLA/DA presentaron actividad antimicrobiana frente a *E.coli*, obteniendo un 60,81% de reducción del microorganismo como máximo al trabajar con un 10% de DA.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el soporte financiero de CONICYT (Proyecto Fondecyt de iniciación N°11110518) y al programa de Financiamiento Basal para Centros Científicos y Tecnológicos de Excelencia (Proyecto FB0807).

BIBLIOGRAFIA

- Arrieta, M. P. (2011). "Biopelículas activas obtenidas a partir de proteínas lácteas." *Seguridad y Medio Ambiente*(121): 46 - 56.
- Avella, M., J. J. De Vlieger, Errico, M.E., Fisher, S., Vacca, P and Volpe, M.G. (2005). "Biodegradable starch/clay nanocomposite films for food packaging applications." *Food Chemistry* 93(3): 467-474.
- Gemili, S., A. Yemenicioğlu and Altınkaya, S. A. (2010). "Development of antioxidant food packaging materials with controlled release properties." *Journal of Food Engineering* 96(3): 325-332.
- Gram, L., L. Ravn, Rasch, M., Bruhn, J. B., Christensen, A. B. and Givskov, M. (2002). "Food spoilage—interactions between food spoilage bacteria." *International Journal of Food Microbiology* 78(1–2): 79-97.
- Herryman Munilla, M. and G. Blanco Carracedo (2005). "Ácido láctico y poliláctico: Situación actual y tendencias ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar." *Redalyc* 39(1): 49 - 59.
- Jamshidian, M., E. A. Tehrany, Imran, M., Akhtar, M. J., Cleymand, F. and Desobry, S. (2012). "Structural, mechanical and barrier properties of active PLA–antioxidant films." *Journal of Food Engineering* 110(3): 380-389.
- Kaewtatip, K. and J. Thongmee (2012). "Studies on the structure and properties of thermoplastic starch/luffa fiber composites." *Materials & Design* 40(0): 314-318.
- Kähkönen, M. P., A. I. Hopia, Vuorela, H. J., Rauha, J.P., Pihlaja, K., Kujala, T. S. and Heinonen, M. (1999). "Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47(10): 3954-3962.
- Katiyar, V., N. Gerds, Koch, C. B., Risbo, J., Hansen, H. C. B., and Plackett, D. (2011). "Melt processing of poly(L-lactic acid) in the presence of organomodified anionic or cationic clays." *Journal of Applied Polymer Science* 122(1): 112-125.
- Marsh, K. and B. Bugusu (2007). "Food Packaging—Roles, Materials, and Environmental Issues." *Journal of Food Science* 72(3): R39-R55.
- Mina, J. H., A. Valadez-González, Herrera-Franco, P., Zuluaga, F. and Delvasto, S. (2012). "Preparación y Caracterización físico-química y Mecánica de Mezclas Ternarias de Polilactida (PLLA), Policaprolactona (PCL) y Almidón termoplástico (TPS)." *Rev. LatinAm. Metal. Mat* 33(1): 82-91.
- Siddhuraju, P. and K. Becker (2003). "Antioxidant Properties of Various Solvent Extracts of Total Phenolic Constituents from Three Different Agroclimatic Origins of Drumstick Tree (*Moringa oleifera* Lam.) Leaves." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51(8): 2144-2155.

Siracusa, V., P. Rocculi, Romani, S. and Rosa, M. D. (2008). "Biodegradable polymers for food packaging: a review." *Trends in Food Science & Technology* 19(12): 634-643.

Suppakul, P., J. Miltz, Sonneveld, K. and Bigger, S. W. (2003). "Active Packaging Technologies with an Emphasis on Antimicrobial Packaging and its Applications." *Journal of Food Science* 68(2): 408-420.

Tokiwa, Y., B. Calabia, et al. (2009). "Biodegradability of Plastics." *International Journal of Molecular Sciences* 10(9): 3722-3742.

Wanasundara, P. K. J. P. D. and F. Shahidi (2005). "Antioxidants: Science, Technology, and Applications." *Bailey's Industrial Oil and Fat Products (6th Edition)* 1(11): 431-489.

Zhang, Y.-H., Z.-M. Dang, Fu, S. Y., Xin, J. H., Deng, J. G., Wu, J., Yang, S., Li, L. F. and Yan, Q. (2005). "Dielectric and dynamic mechanical properties of polyimide-clay nanocomposite films." *Chemical Physics Letters* 401(4-6): 553-557.

Tabla 1: Resultados de DSC para biocompositos PLA/DA

Muestra	T _g (°C)	T _{cc} (°C)	T _m (°C)	X _c
PLA	61,9	113,1	149,8	0,9
PLA/Gli	58,5	106,7	152,1	0,7
PLA/Gli/0,5%DA	56,5	102,5	151,8	1,9
PLA/Gli/1,0%DA	56,9	101,8	150,3	2,1
PLA/Gli/2,5%DA	56,4	103,3	152,8	2,1
PLA/Gli/5,0%DA	56,7	100,3	151,3	2,4
PLA/Gli/10%DA	56,6	102,8	152,6	3,4

Tabla 2: Propiedades mecánicas para biocompositos PLA/DA

Muestra	Módulo de elasticidad [N/mm ²]	Fuerza de tensión [N/mm ²]	Elongación a la ruptura [%]
PLA	2262 ± 174 ^a	61,6 ± 4,1 ^a	2,8 ± 0,3 ^a
PLA/Gli	1901 ± 76 ^b	53,6 ± 2,7 ^b	3,2 ± 0,2 ^{a,b}
PLA/Gli/0,5% DA	1604 ± 50 ^c	43,3 ± 1,9 ^c	3,4 ± 0,3 ^{a,b,c}
PLA/Gli/1,0%DA	1345 ± 116 ^d	32,4 ± 4,6 ^d	3,5 ± 0,2 ^{b,c,d}
PLA/Gli/2,5%DA	1029 ± 86 ^e	22,7 ± 1,8 ^e	3,9 ± 1,0 ^{a,b,c,d,e}
PLA/Gli/5,0%DA	582 ± 64 ^f	7,6 ± 1,1 ^f	6,9 ± 0,9 ^f
PLA/Gli/10,0%DA	470 ± 31 ^g	4,6 ± 0,9 ^g	7,7 ± 1,2 ^{f,g}

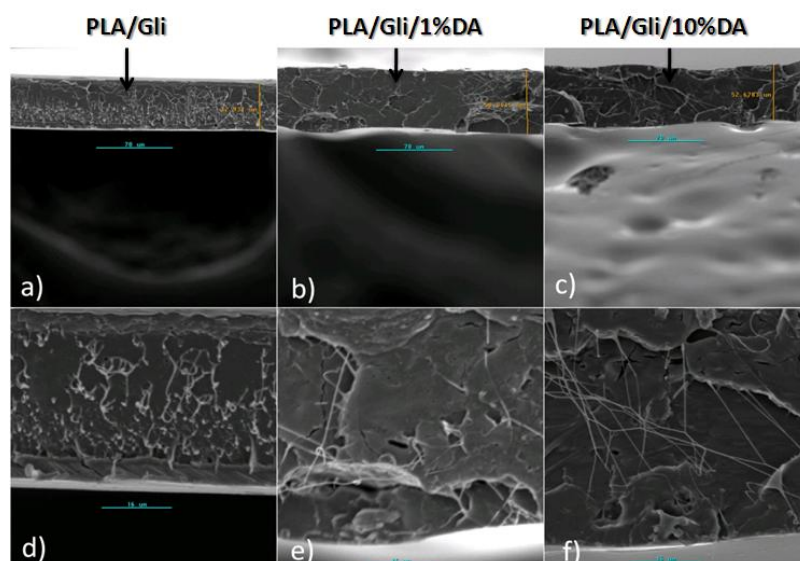


Figura 1: Microfotografías para las muestras de APL/Gli (a y d), APL/Gli/1,0%DA (b y e) y APL/Gli/10%DA en magnificaciones de 500x (a-c) y 2000x (d-f) respectivamente.

Tabla 3: Actividad antioxidante expresada en inhibición de radicales libres para los distintos biocompositos.

Muestra	% IR
PLA	ND
PLA/Gli	ND
PLA/Gli/0,5%DA	3,59 ± 0,66 ^a
PLA/Gli/1,0%DA	7,59 ± 1,22 ^b
PLA/Gli/2,5%DA	23,22 ± 0,99 ^c
PLA/Gli/5,0%DA	37,27 ± 1,94 ^d
PLA/Gli/10%DA	41,25 ± 1,44 ^e

Tabla 4: Actividad antimicrobiana de los biocompositos frente a *E. coli*.

Muestra	% Reducción	Ciclo Log
PLA	ND	ND
PLA/Gli	ND	ND
PLA/Gli/0,5%DA	25,60	0,13
PLA/Gli/1,0%DA	32,80	0,17
PLA/Gli/2,5%DA	39,20	0,22
PLA/Gli/5,0%DA	52,00	0,32
PLA/Gli/10%DA	60,81	0,41

MEJORA DE LA CALIDAD DE PANES SIN GLUTEN A TRAVÉS DE MEZCLAS DE ALMIDONES DE MAIZ Y TRIGO Y HARINAS DE ARROZ

Cristina Merino, Camino M. Mancebo, Mario M. Martínez^{*}, Manuel Gómez.

Área de Tecnología de los Alimentos. E.T.S. Ingenierías Agrarias de Palencia. Universidad de Valladolid.

*mario.martinez@iaf.uva.es

1. INTRODUCCIÓN.

La elaboración de productos de panificación sin gluten supone un gran reto tecnológico para las industrias alimentarias, ya que el gluten juega un papel fundamental en la elaboración de las masas (Mariotti, et al., 2013). Para el desarrollo de estos productos, además de un compuesto sustituyente del gluten, es necesaria la correcta elección de uno o varios compuestos de base harinosa.

Los fabricantes de productos sin gluten suelen recurrir al uso de almidones, de maíz, patata o mandioca, y harinas sin gluten, como la de arroz, maíz o sorgo, para sustituir la harina de trigo necesaria en estos procesos. Sin embargo, es necesario elegir el tipo y proporción de harina y almidón utilizados, debido a sus diferentes propiedades fisicoquímicas, tales como las propiedades de gelatinización, la capacidad de absorción de agua y sus propiedades de viscosidad, entre otras. Estas propiedades influyen decisivamente en la calidad del producto final. En los últimos años, la mejora de las técnicas de separación del almidón ha posibilitado la oferta de almidones de trigo libres de gluten, con unas propiedades particulares. Hoy en día no hay ningún estudio que analice el comportamiento del almidón de trigo, solo o mezclado con otras materias primas, en los panes sin gluten. En este trabajo se ha estudiado la influencia de las mezclas de almidones de maíz y trigo, y harina de arroz, sobre la reología y el desarrollo de masas sin gluten, así como sobre los parámetros de calidad (volumen específico, textura, densidad alveolar y análisis sensorial) de este tipo de panes.

2. MATERIALES Y MÉTODOS.

El almidón de maíz fue suministrado por Tate & Lyle (Reino Unido), el almidón de trigo por Roquette Laisa (Francia) y la harina de arroz por la harinera Los Pisones (España). Para la elaboración de los panes se ha utilizado levadura Saf-Instant (Lesaffre, Francia), sal refinada seca (Esco European Salt Company, Alemania), agua procedente de la red local,

azúcar blanco (AB Azucarera Iberia, España), aceite de girasol refinado (Faiges S.L., España) e hidroxipropilmetilcelulosa K4M (Rettenmeier, Alemania).

Para la fabricación de pan se utilizaron los siguientes ingredientes (g/100g en base harina o almidón o la mezcla harina/almidón): agua (90g/100g), levadura seca instantánea (3g/100g), sal (1.8g/100g), aceite (6g/100g), HPMC (2g/100g) y azúcar (5g/100g). Los ingredientes se amasaron durante 8 minutos a velocidad 2 con el gancho amasador, usando una batidora kitchen Aid 5KPM50 (Kitchen Aid, Michigan, Estados Unidos), las masas de pan se dividieron en porciones de 250 gramos y se introdujeron en moldes de aluminio de 232mm de largo, 108mm de ancho y 53mm de alto. La fermentación se llevó a cabo a 30°C y 75% de HR durante 90 minutos. Tras la fermentación las piezas se hornearon en un horno eléctrico modular durante 40 minutos a 190°C. Todas las elaboraciones se realizaron por duplicado.

Los parámetros reológicos de las masas fueron evaluados con el reómetro rotacional Haake RheoStress1 (Thermo Fischer Scientific, Alemania). Se realizó un ensayo oscilatorio consistente en un barrido de frecuencias a 25°C de 15 a 0,01 Hz, en la región viscoelástica lineal para obtener los valores de módulo elástico, G' [Pa], viscoso, G'' [Pa] y $\tan \delta$ para distintos valores de frecuencia, ω [Hz] (Dobraszczyk & Morgenstern, 2003).

También se realizó un ensayo de fluencia-recuperación donde se aplicó a la muestra un esfuerzo instantáneo constante en la región viscoelástica lineal durante 60 segundos. En la fase de recuperación se retiró el esfuerzo y se permitió a la muestra recuperar durante 180 segundos. Los datos de fluencia fueron descritos en términos de capacitancia de flujo J_c . Los datos del ensayo se ajustaron al modelo de Burgers de 4 parámetros (Van Bockstaele, et al., 2011):

$$J_c(t) = J_0 + J_1 \left(1 - \exp \frac{-t}{r_1} \right) + \frac{t}{\mu_0}$$

Donde J_c es la capacitancia de flujo, J_0 es deformación instantánea, J_1 deformación elástica retardada, r_1 tiempo medio de retardo y μ_0 es la viscosidad a cizalla cero. Para la fase de recuperación se aplicó el modelo de Burgers de 3 parámetros:

$$J_r(t) = J_0 + J_1 \left(1 - \exp \frac{-t}{r_1} \right)$$

Donde J_r es la capacitancia para la fase de recuperación, J_0 es la recuperación instantánea, J_1 es la recuperación retardada y r_1 tiempo medio de retardo. Las muestras fueron analizadas por duplicado.

El desarrollo de las masas durante la fermentación se midió con el reofermentómetro (Chopin, Tripette & Renaud, Francia).

Después de ser enfriados 1 hora, los panes horneados fueron pesados y se midió su volumen específico con el analizador de volumen Volscan Profiler (Stable Microsystems, UK). La textura de la miga fue medida por un TA-XT2 texture analyzer (Stable Microsystems, UK). Las determinaciones texturales fueron realizadas en rebanadas de 30 mm de diámetro de espesor a las 24 y 168 horas (7 días) después de la elaboración, mediante un análisis TPA y una sonda de 25mm de diámetro. El alveolado fue analizado con el software Image J V.1,38c. Finalmente se realizó una prueba hedónica de grado de satisfacción. En esta evaluación participaron un total de 63 jueces no entrenados. Los atributos que se midieron fueron el aspecto visual, sabor y la valoración global.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

3.1. Reología de masas

En la tabla 1 se muestran los parámetros reológicos de las masas obtenidos en el ensayo oscilatorio. En todos los casos se observa como los valores de G' son mayores que G'' , lo que indica que todas las masas tienen un comportamiento tipo sólido elástico. Se aprecia como las masas elaboradas con harina de arroz tienen menores valores de $\tan \delta$ (mayor consistencia de las masas), seguida de la mezcla de ésta con almidón de maíz. También se puede observar una menor dependencia de los módulos con la frecuencia en las masas elaboradas con harinas de arroz, lo que indica que este tipo de masas son más estables frente a oscilaciones de frecuencia.

En la tabla 2 se muestran los parámetros reológicos de las masas obtenidos en el ensayo de fluencia-recuperación. Se observa como la harina de arroz y sus mezclas reducen la capacitancia máxima al final de la fase de fluencia ($J_{c \max}$), lo que indica un incremento de la resistencia de la masa a la deformación. Por el contrario, los almidones puros y sus mezclas son las que mayor capacitancia de fluencia poseen. Atendiendo a la fase de recuperación, el almidón de trigo, seguido de la mezcla al 50% de almidones de maíz y trigo, son los que mayor capacitancia máxima de recuperación ($J_{r \max}$) presentan.

3.2. Desarrollo de masas en la fermentación

En la figura 1 se muestra la curva del desarrollo de las masas en el proceso fermentativo. Hay que destacar que no fue posible realizar un correcto ensayo a la masa

elaborada con 100% almidón de trigo, debido a su escasa consistencia. Se observa como las masas elaboradas con mezclas de harina de arroz y almidón, son las que mayores desarrollos alcanzan. Además, las mezclas al 50% de harina de arroz con un almidón (trigo o maíz) presentan un máximo desarrollo más temprano en comparación con la mezcla al 33% de harina de arroz y los otros dos almidones.

Se podría concluir que para un óptimo desarrollo de una masa sin gluten, son necesarios unos óptimos valores de consistencia y de capacidad de fluencia para la correcta expansión de la masa, los cuales se consiguen mezclando harina y almidón.

3.3. Parámetros de calidad de los panes: volumen, textura y densidad alveolar

En la tabla 3 se muestran los valores de los parámetros de calidad de los panes. Se comprueba que los panes elaborados con almidones son los que mayor volumen específico poseen. Por el contrario se observa como la adición de harina de arroz a las mezclas con almidones hace que el volumen específico del pan disminuya. Estos resultados están correlacionados con los ensayos reológicos y reofermentométricos de las masas. En cuanto a la densidad alveolar, se observa un mayor número de alveolos por cm^2 en los panes con almidón en su formulación, especialmente los elaborados con almidón de maíz. También se aprecia como los panes de mayor dureza son los elaborados con almidón de maíz. Estos datos sorprenden ya que era de esperar que panes con volúmenes mayores tuvieran valores de dureza inferiores. Esto podría ser debido a la mayor densidad alveolar de los panes elaborados con almidón de maíz, lo cuales tienen una estructura de la miga más compacta. En cuanto al incremento de dureza a lo largo del tiempo, los panes elaborados con 100% almidón de maíz son los que mayor endurecimiento presentaron.

3.4. Prueba hedónica de grado de satisfacción

En la figura 2, se observa como los panes elaborados con mezcla al 50% de harina de arroz y almidón (particularmente con almidón de trigo) son los que mejores puntuaciones obtuvieron en el aspecto visual, en la valoración global y en el sabor de la prueba hedónica. Esto puede ser debido a que la harina de arroz proporciona color a la corteza del pan haciéndolo atractivo visualmente y el almidón de trigo proporciona un sabor característico, más parecido a los panes tradicionales. A través de los resultados aquí obtenidos podemos comprobar cómo el volumen del pan no es el único parámetro que los consumidores valoran, sino que otros atributos, como el sabor, son muy valorados por los consumidores.

CONCLUSIONES.

La mezcla de diferentes harinas y almidones es necesaria para la obtención de panes sin gluten con unas características adecuadas. Se ha comprobado como los panes elaborados con almidones presentan mayores volúmenes, mayor densidad alveolar y menor área media de los alveolos que los panes elaborados con harina de arroz. Sin embargo el pan elaborado con la mezcla de harina de arroz y almidón de trigo ha demostrado ser el que mejor valoración sensorial obtuvo, tanto en la valoración global como en el sabor.

BIBLIOGRAFÍA.

Dobraszczyk, B., and Morgenstern, M. (2003). Rheology and the breadmaking process. *Journal of Cereal Science*, vol. 38, pp. 229-245.

Mariotti, M., Pagani, M.A. and Lucisano, M. (2013). The Role of Buckwheat and HPMC on the Breadmaking Properties of some Commercial Gluten-Free Bread Mixtures. *Food Hydrocolloids*, 1, vol. 30, no. 1, pp. 393-400.

Van Bockstaele, F., De Leyn, I., Eeckhout, M., & Dewettinck, K. (2011). Non-linear creep-recovery measurements as a tool for evaluating the viscoelastic properties of wheat flour dough. *Journal of Food Engineering*, 107(1), 50-59.

Tabla 1. Parámetros obtenidos en el ensayo oscilatorio de las masas.

	G'	a	G''	b	tan δ	c
H. Arroz	7269 f	0,413 a	3023 c	0,413 a	0,413 a	-0,014 e
A. Maíz	755 b,c	0,796 d,e	588 b	0,796 b,c	0,796 d,e	-0,097 a
A. Trigo	370 a	0,860 d,e	301 a	0,860 e	0,860 e	-0,075 a,b,c
H. Arroz-A. Maíz	1871 e	0,571 b	1067 c	0,571 b	0,571 b	-0,034 d,e
H. Arroz-A.Trigo	913 c,d	0,705 c,d	636 b	0,705 c,d	0,705 c,d	-0,053 c,d
A. Maíz-A. trigo	486 a,b	0,862 e	409 a	0,862 d,e	0,862 e	-0,086 a,b
Arroz-Maíz-Trigo	1065 d	0,667 b,c	706 b	0,667 b	0,667 c	-0,063 b,c

Valores con diferente letra en el mismo parámetro son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

Valores son la media de dos medidas.

Tabla 2. Parámetros obtenidos en el ensayo de fluencia-recuperación de las masas.

	J_c max (Pa-1) x10⁻²	J₀ (Pa-1) x10⁻⁴	J₁ (Pa-1) x10⁻⁴	r₁ (s)	μ₀ (Pa.s)
H. Arroz	0,09 a	1,796 a	3,533 a	6,624 a	129665 g
A. Maíz	3,17 e	6,328 e	91,128 e	17,632 e	2687,78 c
A. Trigo	3,64 f	14,127 f	124,669 f	12,828 c,d	2613,72 b
H. Arroz-A. Maíz	0,41 b	4,557 b	15,557 b	8,136 b,c	27346,5 f
H. Arroz-A.Trigo	0,96 d	7,747 d	36,848 d	7,905 a,b	11433,5 d
A. Maíz-A. trigo	4,05 g	11,211 g	122,073 g	13,380 c,d	2186,46 a
Arroz-Maíz-Trigo	0,66 c	7,034 c	33,898 c	11,804 b,c	22902,8 e

	J_r max (Pa-1) x10⁻⁴	J₀ (Pa-1) x10⁻⁴	J₁ (Pa-1) x10⁻⁴	r₁ (s)
H. Arroz	0,095 a	5,816 a	7,3635 a	69,840 g
A. Maíz	0,9 e	300,159 e	72,609 e	53,806 e
A. Trigo	1,90 g	322,243 f	151,900 g	51,098 d
H. Arroz-A. Maíz	0,24 b	33,182 b	15,533 b	31,113 a
H. Arroz-A.Trigo	0,42 c	75,396 d	42,058 c	38,420 c
A. Maíz-A. trigo	1,45 f	376,744 g	111,401 f	36,532 b
Arroz-Maíz-Trigo	0,59 d	50,874 c	43,733 d	59,557 f

Valores con diferente letra en el mismo parámetro son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

Valores son la media de dos medidas.

Tabla 3. Parámetros de calidad de los panes.

	Volumen específico	Dureza	Incremento de dureza	Densidad alveolar
H. Arroz	4,56a	0,53a	1,36a	46,66a
A. Maíz	7,35d	1,93e	2,91b	63,77b
A. Trigo	7,73d	0,64ab	1,67a	53,55ab
H. Arroz-A. Maíz	6,00b	0,91bc	1,04a	56,44ab
H. Arroz-A.Trigo	6,61bc	0,97cd	1,71a	58,77ab
A. Maíz-A. trigo	7,24cd	1,24d	1,59a	64,55b
Arroz-Maíz-Trigo	6,36b	0,99cd	1,05a	61,44b

Valores con diferente letra en el mismo parámetro son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

Valores son la media de dos medidas.

Figura 1. Curvas de desarrollo de las masas en la fermentación

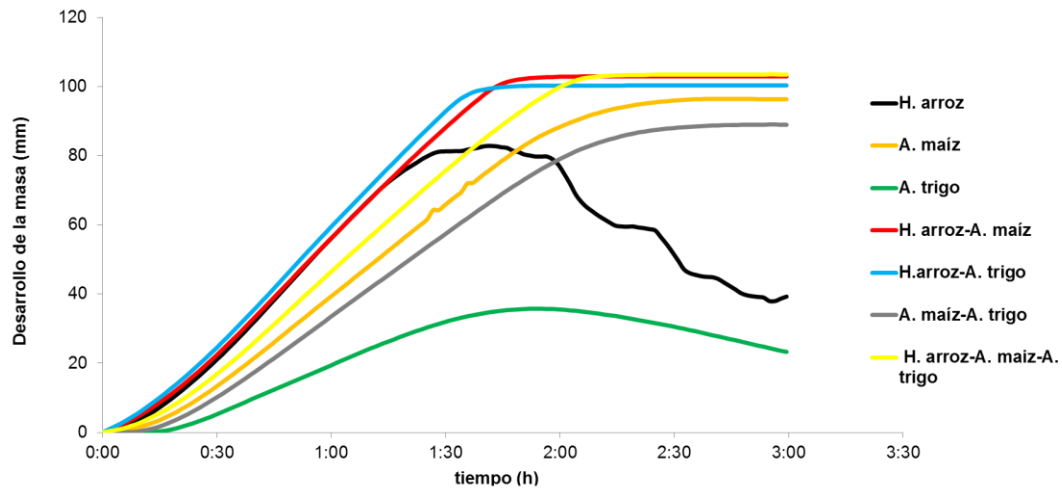
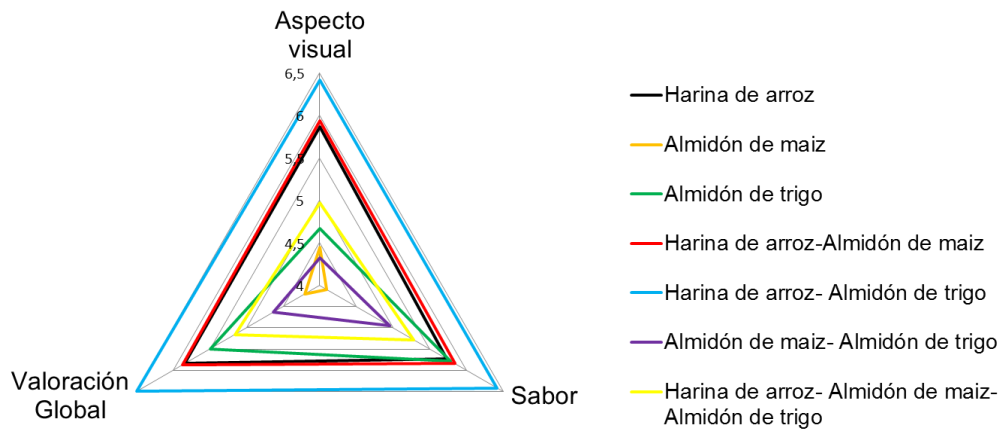


Figura 2. Perfil sensorial de la prueba hedónica de grado de satisfacción



LOS ACEITES ESENCIALES EN EL CONTROL DE *BIPOLARIS* AISLADO DEL ARROZ DE VALENCIA

Josefa Roselló¹, Francisca Sempere¹, Silvia Giménez¹, Maria Pilar Santamarina¹

(1) Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural de la Universitat Politècnica de València. Departamento de Ecosistemas Agroforestales. Camino de Vera, s/n 46022 Valencia – España. Telf.: 963877414 ext. (74140- 74142) mpsantam@eaf.upv.es ; jrosello@upvnet.upv.es

RESUMEN

Los aceites esenciales han mostrado en diversos trabajos propiedades antibacterianas y antifúngicas. La necesidad de reducir el uso de productos químicos sintéticos ha incrementado el interés por la aplicación de aceites esenciales y sus compuestos.

Se evalúa la capacidad antifúngica de los aceites esenciales de laurel, canela, clavo y orégano sobre *Bipolaris oryzae*, aislado del arroz almacenado producido en el área mediterránea de la Albufera de Valencia (España), se siguió la metodología utilizada por Santamarina y Roselló (2011).

Los resultados mostraron que el crecimiento de *Bipolaris* fue similar en PDA, y en PDA-laurel. Los aceites de clavo y canela inhibieron totalmente el crecimiento del hongo hasta el sexto día (canela) y octavo día (clavo) de lectura. Posteriormente, el aceite de canela redujo el 87% la velocidad de crecimiento del hongo con respecto al testigo, el de clavo en el 83%.

Se produjo inhibición total del crecimiento de *Bipolaris* hasta el decimosexto día de lectura cuando se añadió aceite de orégano al medio de cultivo.

Del estudio de los aceites se deduce que la actividad antifúngica de los aceites se debe al alto contenido en fenoles eugenol, carvacrol y thymol.

La adición de los aceites de orégano, clavo y canela podrían ser una alternativa para el control de *Bipolaris oryzae* en productos almacenados, como conservadores y aditivos en alimentos, así como en granos y semillas.

Palabras clave: Aceites esenciales, actividad antifúngica, laurel, canela, clavo, orégano, arroz, *Bipolaris oryzae*.

INTRODUCCIÓN

Bipolaris es un género frecuente en cereales, piensos y otros productos agrícolas. Es un patógeno de plantas y puede producir pérdidas importantes en el campo y en el almacén.

Bipolaris oryzae causa la “mancha marrón” (Brown spot), la enfermedad más importante del arroz en todo el mundo.

Los aceites esenciales son compuestos naturales volátiles complejos sintetizados por las plantas aromáticas como metabolitos secundarios. Estos pueden contener hasta 100 compuestos distintos, incluyendo terpenoides, fenoles, éteres, ésteres, aldehídos y cetonas que determinan el aroma característico de una planta, que puede variar en calidad, cantidad y composición en función del clima, suelo, planta, órgano, edad y etapa del ciclo vegetativo (Angiony y col., 2006).

En la naturaleza desempeñan un papel importante en la protección de las plantas. Están involucrados en las interacciones entre las plantas, inhiben o estimulan la germinación de otras plantas, actúan como aleloquímicos, así como la protección de la planta contra herbívoros, insectos y patógenos. También pueden atraer a los insectos polinizadores o ser secretados como una respuesta al estrés ambiental. Está demostrado que los aceites esenciales de muchas plantas poseen actividad antibacteriana y antifúngica (López y col., 2005; Bakkali y col., 2008; El Bouzidi y col., 2012; Marei y col., 2012), aunque sus mecanismos de acción siguen siendo desconocidos para la mayoría de ellos (Pinto y col., 2009). Por ello, son necesarios más estudios para obtener un mejor conocimiento de su mecanismo de acción biológica para futuras aplicaciones en la salud humana, la agricultura y la protección del medio ambiente (Tzortzakis 2007, 2009; Tolouee y col., 2010).

MATERIAL Y MÉTODOS

Aceites esenciales

Los aceites esenciales de laurel (*Laurus nobilis*) extraído de hojas, de orégano (*Origanum compactum*) obtenido de la planta en flor, y de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) extraído de las ramas, fueron suministrados por la casa comercial ESENTIAL´ARÔMS (Lleida. España). Según la certificación ecológica, todos ellos fueron extraídos de manera natural a través de la primera presión en frío, siendo la recolección en el momento óptimo y la extracción por destilación al vapor de agua, obteniéndose un aceite 100% natural.

El aceite esencial de clavo (*Syzygium aromaticum*), extraído de las hojas, y con un porcentaje superior al 85% de eugenol, fue suministrado por la casa comercial GUINAMA (Valencia. España).

Hongo

El hongo utilizado *Bipolaris oryzae* LBEA 2015 fue aislado de cariósides de arroz almacenado de la variedad Senia, procedente del área mediterránea de la Albufera de Valencia (España). Los granos de arroz cáscara se desinfectaron superficialmente con una solución de hipoclorito sódico al 1% durante 5 mn. Se colocaron en capsulas Petri conteniendo agar extracto de arroz (AEA) y se incubaron durante siete días a 25°C.

Bioensayos de la actividad de los aceites esenciales

Los aceites fueron disueltos, mezclados y homogeneizados por agitación en matraces con el medio de cultivo PDA, previamente esterilizado, a 45-50°C cuando aún está líquido, siendo la concentración ensayada de 300 µg/mL. Una vez disueltos los aceites, el medio de cultivo se repartió en cápsulas Petri de 90x15 mm.

Los hongos se sembraron a modo de explantes discoidales de 8 mm de diámetro, tomados con un sacabocados de una colonia de siete días de desarrollo. Se colocaron en el centro de las cápsulas Petri conteniendo el aceite esencial y se incubaron a 25 °C durante 6, 14 y 21 días. El crecimiento miceliar se evaluó diariamente midiendo dos diámetros perpendiculares de la colonia, y se calculó la velocidad de crecimiento. Se realizaron seis repeticiones por tratamiento. Las cápsulas Petri control contenían solamente PDA.

Análisis estadístico

Los resultados de crecimiento miceliar se sometieron al análisis de la varianza (ANOVA) con valores de significación de $P \leq 0.05$. El programa utilizado fue STATGRAPHICS Plus 5.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 1 nos muestra el resultado del análisis de la varianza del factor esencia, de ella se deduce que dicho factor tiene influencia significativa ($P \leq 0.05$) sobre el crecimiento medio de *Bipolaris oryzae*.

El aceite esencial de laurel no ha mostrado efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Bipolaris*. La tasa de crecimiento de *Bipolaris spicifer* ha sido muy similar cuando creció en medio PDA y en medio PDA-aceite de laurel, con valores de 6.8 y 6.6 mmd⁻¹, respectivamente. (Figuras 1 y 2).

La actividad antifúngica del aceite esencial de laurel en algunos trabajos activa el crecimiento fúngico (Atanda y col., 2007), mientras que en otros se comporta como fungicida y fungistático (De Corato y col., 2010)

Por el contrario, los aceites de canela, clavo y orégano sí que han dado mayor actividad antifúngica frente a *Bipolaris* (Figuras 1 y 2).

Los aceites de clavo y canela inhibieron totalmente el crecimiento del hongo hasta el sexto día (canela) y octavo día (clavo) de lectura. Además la velocidad de crecimiento se redujo de forma muy importante con respecto al testigo, siendo 0.93 mmd^{-1} en canela y 1.16 mmd^{-1} en clavo. Destacar que el aceite de canela redujo el 87% la velocidad del crecimiento del hongo, y la presencia del aceite de clavo el 83%, valores significativos.

El aceite de orégano estudiado presenta un gran capacidad antifúngica, al inhibir totalmente el crecimiento de *Bipolaris* hasta el decimosexto día de lectura. A partir de ese día, el hongo inició su crecimiento alcanzando la velocidad de $3,1 \text{ mmd}^{-1}$ a los 21 días de lectura (Figuras 1 y 2).

Diversos autores (Barrera y García 2008; Cueto y col., 2010) han estudiado el efecto de los aceites de canela y clavo sobre el crecimiento de especies de *Fusarium* y han demostrado el potencial de estos aceites utilizando dosis que oscilan de 100 a 400 $\mu\text{g/mL}$. A la vista de los resultados obtenidos, podemos decir que la dosis utilizada en los ensayos sobre *Bipolaris* (300 $\mu\text{g/mL}$) se encuentra entre el rango utilizado por ellos.

El eugenol es el compuesto mayoritario en los aceites esenciales de canela y clavo, lo que nos hace pensar que la actividad antifúngica de los mismos se debe a ese compuesto (Dambolena y col., 2012).

Según distintos autores Tzortzakis y Economakis, 2007; Kordali y col, 2008; Yenjit y col. 2010; Ávila-Sosa y col., 2012) la potente actividad antifúngica del aceite de orégano frente a hongos de almacén y hongos fitopatógenos, entre ellos *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum* y distintas especies de *Colletotrichum* se debe al alto contenido en los fenoles carvacrol y thymol.

La adición de los aceites estudiados al medio de cultivo además de inhibir/reducir la velocidad de crecimiento del hongo también modificó su forma, color, esporulación y textura de las colonias, cambiando de morfología miceliar a levaduriforme (Figura 3).

CONCLUSIONES

De los resultados podemos decir a que la adición de los aceites esenciales de orégano, clavo y canela podrían ser una alternativa de aplicación práctica para el control de *Bipolaris oryzae*, tanto en productos almacenados, alargando la vida útil de los mismos, así como

conservadores y aditivos en alimentos, o bien para ser aplicados en el almacenamiento de granos y semillas, ya que son biodegradables.

BIBLIOGRAFÍA

Angioni, A., Barra, A., Coroneo, V., Dessi, S., Cabras, P. 2006. Chemical composition, seasonal variability, and antifungal activity of *lavandula stoechas* essential oils from stem/leaves and flowers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 4364-4370.

Atanda, O.O., Akpan, I., Oluwafemi, F. 2007. The potential of some spice essential oils in the control of *A. parasiticus* CFR 223 and aflatoxin production. *Food Control* 18: 601-607.

Ávila-Sosa, R., Palou, E., Jiménez, M.T., Nervéz-Moorillón, G., Navarro, A.D., López-Malo, A. 2012. Antifungal activity by vapor contact essential oils added to amaranth, chitosa, or tarch edible films. *International Journal of Food Microbiology* 153: 66-72.

Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M. 2008. Biological effects of essential oils-a review. *Food and Chemical Toxicology* 46: 446-475.

Barrera, L., García, L. 2008. Actividad antifúngica de aceites esenciales y sus compuestos sobre el crecimiento de *Fusarium sp.* aislado de papaya. *Revista UDO Agrícola* 8(1): 33-41.

Cueto, M.C., Rivas, C., Alania, M.G., Oranda, A., Amaya, C., Núñez, A., Samaniego, J., Cano, P. 2010. Antifungal properties of essential oil maxican oregano against *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici*. *Revista Mexicana de Micología* 31: 2-8.

Dambolena, J.S., López, A.G., Meriles J.M., Rubinstein, H.R., Zygaldo, J.A. 2010. Inhibitory effect of 10 natural phenolic compounds on *Fusarium verticillioides*. A structure-property-activity relationship study. *Food Control* 2: 163-170.

De Corato, U., Maccioni, O., Trupo, M., Di Sanzo, G. 2010. Use of essential oil of *Laurus nobilis* obtained by means of supercritical carbon dioxide technique against post harvest spoilage fungi. *Crop Protection* 29: 142-147

El Bouzidi, L., Abbad, A., Hassani, L., Fattarsi, K., Leach, D., Markouk, M., Legendre, L., Bekkouche, K. 2012. Essential oil composition and antimicrobial activity of wild and cultivated moroccan *Achillea ageratum L.*: a rare and threatened medicinal species. *Chemistry & Biodiversity* 9: 598-605.

Kordali, S., Cakir, A., Ozer, H., Cakmakci, R., Kesdek, M., Mete, E. 2008. Antifungal, phytotoxic and insecticidal properties of essential oil isolated from Turkish *Origanum acutidens* and its three components, carvacrol, thymol and pcymentene. *Bioresource Technol.* 99: 8788-8795

López, P., Sánchez, C., Batlle, R., Nerín, C. 2005. Solid and vapour-phase antimicrobial activities of six essential oils: susceptibility of selected foodborne bacterial and fungal strains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 6939-6946.

Marei, G.I., Abdel Rasul, M.A., Abdelgaleli, A.M. 2012. Comparative antifungal activities and biochemical effects of monoterpenes on plant pathogenic fungi. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 103: 56-61.

Pinto, E., Vale-da-Silva, Cavaleiro, C., Salgueiro, L. 2009. Antifungal activity of the clove essential oil from *Syzygium aromaticum* on *Candida*, *Aspergillus* and dermatophyte species. *Journal of Medical Microbiology* 58: 1454-1462.

Tolouee, M., Alinezhad, S., Saberi, R., Eslamifar, A., Zad, S.J., Jaimand, K., Taeb, J., Rezaee, M.B., Kawachi, M., Shams-Ghahfarokhi, M., Razzaghi-Abyaneh, M. 2010. Effect of *Matricaria chamomilla* L. flower essential oil on the growth and ultrastructure of *Aspergillus niger* van Tieghem. *International Journal of Food Microbiology* 139: 127-133.

Tzortzakis, N.G. 2007. Maintaining postharvest quality of fresh produce with volatile compounds. *Innovate Food Science and Emerging Technologies* 8: 111-116.

Tzortzakis, N.G. 2009. Impact of cinnamon oil-enrichment on microbial spoilage of fresh produce. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 10: 97-102.

Tzortzakis, N.G., Economakis, C.D. 2007. Antifungal activity of lemongrass (*Cymbopogon citratus* L.) essential oil against key postharvest pathogens. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 8: 253-258.

Yenjit, P., Issarakraisila, M., Intana, W., Chantrapromma, k. 2010. Fungicidal activity of compounds extracted from the pericarp of *Areca catechu* against *Colletotrichum gloeosporioides* in vitro and in mango fruit. *Postharvest Biology and Technology* 55: 129-132.

FINANCIACIÓN

El presente estudio ha sido financiado por el Vicerrectorado de Investigación de la Universitat Politècnica de València, en su programa de Apoyo a la Investigación y Desarrollo, Nuevas Líneas de Investigación Multidisciplinares (PAID-05-10), número de referencia 2644.

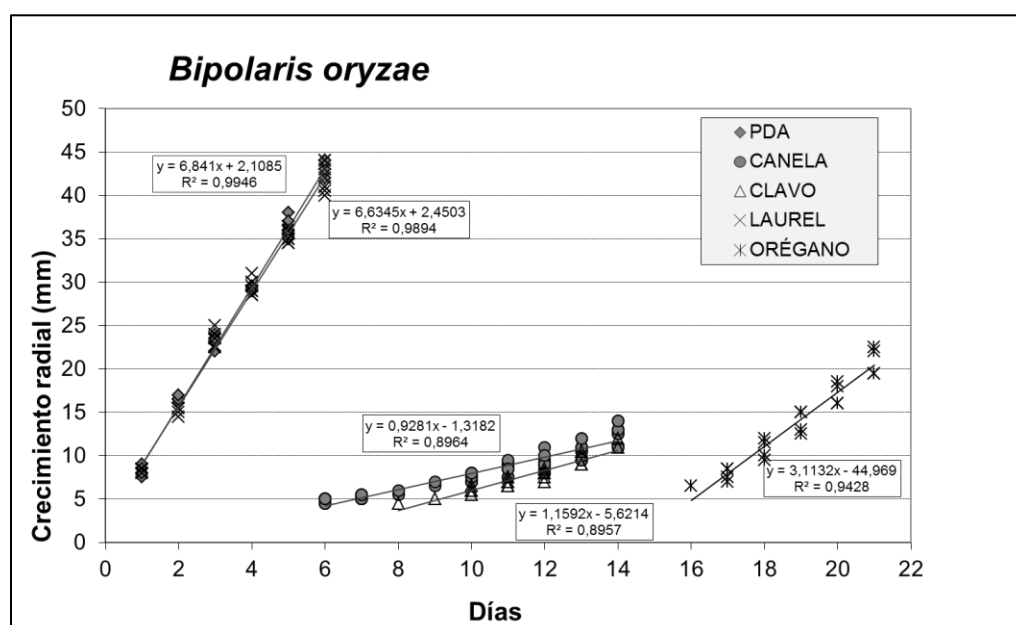


Figura 1: Crecimiento radial (mm) de *Bipolaris oryzae* en PDA, canela, clavo, laurel y orégano.

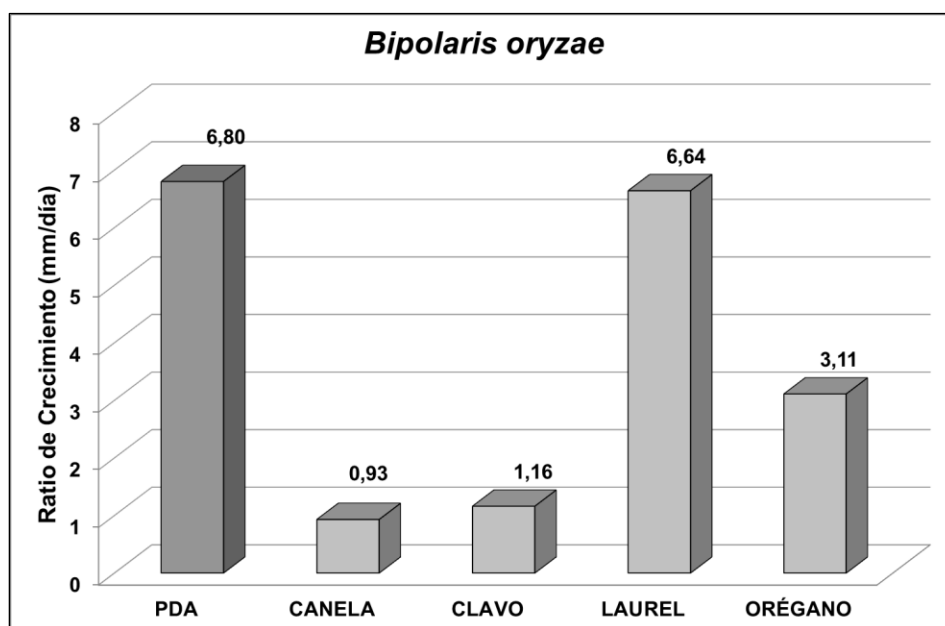


Figura 2: Velocidad de crecimiento (mm/día) de *Bipolaris oryzae* en PDA, canela, clavo, laurel y orégano.

Tabla 1: Análisis de la varianza del crecimiento de *Bipolaris oryzae* frente al factor esencia (e).

Factor	GL	CM	F-Ratio	P-Value *
e	4	6656,48	205,00	0,000

GL: Grados de libertad; CM: Cuadrado medio; F-Ratio: F-Snedecor

* Significativo $p < 0,05$

INTERACCIONES ANTAGONISTAS ENTRE EL HONGO PATÓGENO DEL ARROZ *Phoma glomerata* (Corda) Wollenweber & Hochapfel Y *Trichoderma harzianum* Rifai

Francisca Sempere¹, Silvia Giménez¹, Josefa Roselló¹, Maria Pilar Santamarina¹

- (1) Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural de la Universitat Politècnica de València. Departamento de Ecosistemas Agroforestales. Camino de Vera, s/n 46022 Valencia – España. Telf.: 963877414 ext. (74140- 74142) mpsantam@eaf.upv.es ; jrosello@upvnet.upv.es

RESUMEN

Se estudiará el comportamiento de *Trichoderma harzianum* y su capacidad para competir y dominar a *Phoma glomerata* bajo la influencia de los factores ambientales, actividad de agua y temperatura, en agar extracto de arroz.

Para el estudio de la influencia de la temperatura y la a_w sobre el crecimiento fúngico, y la evaluación del Tipo de Interacción e Índice de Dominancia (I_D) se siguió la metodología de Santamarina y col. (2002).

Trichoderma harzianum presenta capacidad antagónica al ser capaz de controlar e inhibir el desarrollo de *Phoma glomerata*, siempre que las condiciones de agua y temperatura sean mayores de 0.90 a 25°C y por encima de 0.95 a 15°C. Los mecanismos ejercidos por *T. harzianum* y que actuaron sinérgicamente para controlar a *P. glomerata* fueron micoparasitismo y competencia por el espacio y los nutrientes.

Palabras clave: Control biológico, *Trichoderma harzianum*, *Phoma glomerata*, Índice Dominancia, arroz.

INTRODUCCIÓN

Phoma es un género de distribución mundial, abundante en el suelo, y patógeno de plantas y humanos. Se ha aislado de una amplia variedad de plantas, del suelo, la mantequilla, el grano de arroz, el cemento, la pintura, el papel y la lana. El hongo puede atacar a diferentes tipos de frutos (Pitt y Hocking, 1999).

La microbiota dominante del arroz de Valencia está representada por distintas especies, entre ellas *P. glomerata* en porcentajes que oscilan entre un 65-80% y un 36%, en variedades tan representativas como Senia y Bahía (Santamarina y col., 2002)

Las especies de *Trichoderma* y entre ellas *T. harzianum* son importantes como agentes de biocontrol (Hermosa y col., 2000). Distintos autores han referenciado su

utilización como antagonista de otros hongos (Benitez y col., 2004; Abdel-Fattah y col., 2007; Verma y col., 2007). Se sabe que *Trichoderma* utiliza varios mecanismos de acción para controlar el desarrollo de los patógenos (Santamarina y col., 2005). Algunos de ellos son el micoparasitismo, la antibiosis, la competencia por los nutrientes y la producción de compuestos volátiles (Punja y Utkhede, 2003; Harman y col., 2004; Lorito y col., 2006; Woo y Lorito, 2007, Sampere, 2009).

El objetivo del trabajo es estudiar el comportamiento de *Trichoderma harzianum* y su capacidad para competir y dominar a *Phoma glomerata* bajo la influencia de los factores ambientales, actividad de agua y temperatura, siendo el objetivo final obtener un organismo como agente de biocontrol frente a distintos hongos causantes de enfermedades en los cultivos, y capaz de controlar a los hongos presentes en el arroz durante el almacenamiento.

MATERIAL Y MÉTODOS

Hongos

Se utiliza como agente de biocontrol a *Trichoderma harzianum* CECT 20736, aislada por nosotros de una muestra de maíz y depositada en la CECT. La cepa *Phoma glomerata* LBEA 2957 se aisló de muestras de arroz suministradas por la Cooperativa de Productores de Semillas de Arroz de Sueca, Copsemar.

Medio de cultivo y condiciones del ensayo

Se realizaron 10 tratamientos en los que se combinaron 5 actividades de agua (0.85, 0.90, 0.95, 0.98 y 0.995 a_w) y 2 temperaturas (15 y 25°C). A partir de un cultivo de 5 días de *T. harzianum* y de *P. glometata* se obtuvieron discos de cada una de las colonias. Las dos cepas se enfrentaron en la misma placa a una distancia entre los puntos de inoculación de 4.5 cm. El medio de cultivo utilizado fue Agar Extracto de Arroz (AEA) con la a_w ajustada. Los tratamientos se realizaron por duplicado, se guardaron en cajas herméticas de polietileno y fueron incubados a dos temperaturas diferentes, a 15°C y a 25°C.

Influencia de la temperatura y la a_w sobre el crecimiento de las colonias

El crecimiento miceliar se evaluó diariamente midiendo dos diámetros perpendiculares de la colonia, y se calculó y representó la velocidad de crecimiento en función del tiempo, para cada una de las condiciones de a_w y T.

Se realizó el análisis de la varianza (ANOVA) para determinar la influencia de los factores ambientales sobre el crecimiento fúngico, tanto los factores simples a_w y temperatura

y especie como las interacciones dobles de estos factores ($a_w \times E$; $a_w \times T$; $T \times E$). El programa informático que se utilizó fue el STATGRAFICS Plus 5.0.

Interacciones e Índice de domiancia (I_D)

Para el estudio del Tipo de Interacción e Índice de Dominancia (I_D) se siguió la metodología de Magan y Lacey (1984) (Tabla1).

Al Tipo de Interacción se le asigna una letra en función de si hay inhibición o no. Para el cálculo del Índice de Dominancia, a cada hongo se le asigna un valor numérico, atendiendo al Tipo de Interacción que presenta, el cual va del 1 al 5; a mayor valor numérico mayor capacidad inhibitoria.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Influencia de la temperatura y la a_w sobre el crecimiento de las colonias

En las Figuras 1 y 2, se representan las ratios de crecimiento (mm d^{-1}) a las distintas actividades de agua y temperaturas estudiadas (15 y 25°C).

Trichoderma harzianum cuando se enfrenta a *Phoma glomerata* crece a 25°C a 0.95, aumentando su crecimiento a medida que aumenta la actividad de agua y registrando el máximo valor a 0.995 (15.96 mm d^{-1}). A 15°C el crecimiento se produjo a valores de a_w de 0.98 y 0.995.

T. harzianum presenta en esta interacción interespecifica el mismo perfil de desarrollo que en estudios precedentes (Roselló, 2003), al crecer a las mismas a_w en ambas temperaturas y siendo también el óptimo de crecimiento a la a_w de 0.995 (Figuras 1 y 2). Estos resultados son corroborados por Begoude y col. (2007) al obtener los mismos resultados en *T. asperellum*.

Phoma glomerata, tuvo una ratio de crecimiento menor que *T. harzianum* a 15 y 25°C. En ambas temperaturas el máximo crecimiento fue para una a_w de 0.995 (1.78 mm d^{-1} a 25°C y 1.64 mm d^{-1} a 15°C) y no se produjo crecimiento a las a_w de 0.85 y 0.90. Resultados similares fueron obtenidos por Aldred y col. (1999).

En los estudios realizados por Benavent (2003) sobre el crecimiento de *P. glomerata*, de manera individual en AEA, tanto a 15 como a 25° C, se observó un mayor crecimiento que cuando creció de manera dual.

Destacar el escaso desarrollo de *P. glomerata*. Se aprecia que las ratios de crecimiento varían muy poco con la temperatura. Además su crecimiento se ve condicionado por la

presencia de *T. harzianum* que, al mostrar un desarrollo más rápido, impide el crecimiento de *P. glomerata*.

El análisis de la varianza (Tabla 2) del efecto de la a_w , la temperatura, la especie y sus interacciones dobles nos indica que existen diferencias significativas ($P < 0.05$) en los factores analizados sobre el crecimiento medio de los hongos.

Interacciones e Índice de domiancia (I_D)

En la Tabla 3 se muestran los resultados del Tipo de Interacción que se obtuvo cuando se enfrentaron las dos cepas a las distintas condiciones de a_w y temperatura ensayadas.

En todos los casos, salvo a 0.95 y 15°C, *T. harzianum* inhibió por contacto (Tipo D) a *P. glomerata*, mostrando así su mayor potencial antagónico. Posteriormente continuó su desarrollo a través de ésta cubriéndola por completo, siendo pues, la especie dominante de la interacción A medida que disminuyó la actividad de agua, el contacto entre ambas especies se produjo más tarde.

A 0.95 y 15°C (Figura 4) se produjo solo el desarrollo de *P. glomerata* y no hubo crecimiento por parte de la cepa *T. harzianum*, por lo que no consideramos que haya interacción. También a 0.85 y 0.90 de a_w en ambas temperaturas, descartamos el estudio de la interacción al no mostrar ninguna de las especies crecimiento alguno.

Los valores numéricos que se obtuvieron del Índice de Dominancia de las cepas *T. harzianum* y *P. glomerata* se indican en la Tabla 4.

En esta interacción los altos valores de Índice de Dominancia se ven corroborados por ratios de crecimiento también elevados, y son precisamente esos valores los que permitirán a *Trichoderma harzianum*, en todas las condiciones de crecimiento en común, controlar e inhibir el desarrollo de *P. glomerata*.

Grondona y col. (1997) al enfrentar *T. harzianum* frente a *P. betae* en PDA, encontraron que la inhibición del crecimiento del patógeno se produjo antes de que contactaran los micelios, sugiriendo la producción de compuestos difusibles por parte del antagonista.

CONCLUSIONES

A la vista de los resultados obtenidos podemos decir que *Trichoderma harzianum* presenta capacidad antagónica al ser capaz de controlar e inhibir el desarrollo de *Phoma glomerata*, siempre que las condiciones de agua y temperatura sean mayores de 0.90 a 25°C y por encima de 0.95 a 15°C. Del estudio podemos deducir que los mecanismos ejercidos por *T.*

harzianum y que actuaron sinérgicamente para controlar a *P. glomerata* fueron micoparasitismo y competencia por el espacio y los nutrientes.

BIBLIOGRAFÍA

- Abdel-Fattah, G., Shabana, Y.M., Ismail, A.E., Rashad, Y.M. 2007. *Trichoderma harzianum*: a biocontrol agent against *Bipolaris oryzae*. Mycopathologia 164: 81-89.
- Aldred, D., Magan, N., Lane, B.S. 1999. Influence of water activity and nutrients on growth and production of squalestatin S1 by *Phoma* sp. Journal of Applied Microbiology, 87 (6): 842-848.
- Begoude, B.A.D., Lahlali, R., Friel, D. Tondje, P.R., Jijakli, M.H. 2007. Response surface methodology study of the combined effects of temperature, pH, and a_w on the growth rate of *Trichoderma asperellum*. Journal of Applied Microbiology, 103: 845-854.
- Benavent, C. 2003. Estudiis Ecofisiològics de la microbiota dominant de l'arròs emmagatzemat. Trabajo Final de Carrera. Universitat Politècnica de València.
- Benítez, T., Rincón, A.M., Limón, M.C., Codón, A.C. 2004. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. International Microbiology, 7: 249-260.
- Grondona I., Hermosa, R., Tejada, M., Gomis, M.D., Mateos, P.F., Bridge, P.D., Monte, E., García-Acha, I. 1997. Physiological and biochemical characterization of *Trichoderma harzianum*, a biological control agent soilborn fungal plant pathogens. Applied and Environmental Microbiology, 63 (8): 3189-3198.
- Harman, G.E., Howell, C.R., Viterbo, A., Chet, I., Lorito, M. 2004. *Trichoderma* species opportunistic, avirulent plant symbionts. Nature Reviews, 2: 43-56.
- Hermosa, M.R., Grondona, I., Iturriaga, E.A., Díaz-Mínguez, J.M., Castro, C., Monte, E., García-Acha, I. 2000. Molecular characterization and identification of biocontrol isolates of *Trichoderma* spp. Applied and Environmental Microbiology, 66 (5): 1890-1898.
- Lorito, M., Woo, S.L., Iaccarino, M., Scala, F. 2006. Microrganismis antagonisti: In: Microrganismi Benefici per le Pianta (Iaccarino, M (Ed.)). Idelson-Gnocchi s.r.l., Napoli, Italia, 146-175.
- Magan, N; Lacey, J. 1984. Effect of water activity, temperature and substrate on interactions between fields and storage fungi. Transactions of the British Mycolical Society, 82, 83-93.
- Pitt, J.I., Hocking, A.D. 1999. Fungi and food spoilage. Second edition. Aspen Publishers, Inc., New York.
- Punja, Z.K., Utkhede, R.S. 2003. Using fungi and yeasts to manage vegetable crop diseases. TRENDS in Biotechnology, 21 (9): 400-407.
- Roselló, J. 2003. Capacidad antagonista de *Penicillium oxalicum* Currie & Thom y *Trichoderma harzianum* Rifai frente a diferentes agentes fitopatógenos. Estudios ecofisiológicos. Tesis Doctoral. Universitat Politècnica de València. España.
- Santamarina, M.P., Roselló, J., Benavent, C., Serna, R. 2002. Estudio Comparativo de la microflora del arroz. Revista Iberoamericana de Micología 19: 28-29. Actas del VI Congreso Nacional de Micología. Valencia (España).
- Santamarina, M.P., Sempere, F., Roselló, J. 2005. *Trichoderma*: mecanismos de control. Phytoma España 172: 106- 107.

Verma, M., Satinder, K., Brar, S.K., Tyagi, R.D., Surampalli, R.Y., Valéro, J.R. 2007. Antagonistic fungi, *Trichoderma* spp.: Panoply of biological control: Biochemical Engineering Journal, 37: 1-20.

Woo, S.L., Lorito, M. 2007. Exploiting the interactions between fungal antagonists, pathogens and the plant for biocontrol. In: Novel Biotechnologies for Biocontrol. (Vurro, M. gressel, J. (Eds.)). Agent Enhancement and Management. IOS, Springer Press, Amsterdam, The Netherlands, 107-130.

Tabla 1: Tipo de interacciones, descripción y valores numéricos que les corresponden (Magan y Lacey, 1984). En las interacciones A, B, y C, el valor numérico asignado es el mismo para las dos especies. En D y E el valor numérico corresponde a la especie inhibitoria, ala inhibida se le asigna valor 0.

TIPO DE INTERACCIÓN	DESCRIPCIÓN	VALOR NUMÉRICO
A	Crecimiento en común	1
B	Inhibición mutua por contacto o espacio entre las colonias < 2 mm	2
C	Inhibición mutua a distancia o espacio entre las colonias > 2 mm	3
D	Inhibición de un microorganismo por contacto, la especie inhibidora continúa creciendo a través de la colonia inhibida	4
E	Inhibición de un microorganismo a distancia, la especie inhibidora continúa creciendo a través de la colonia inhibida	5

Tabla 2 ANOVA del crecimiento dual *T. harzianum* y *P. glomerata*; significancia de los factores de actividad de agua (a_w), temperatura (T), especie fúngica (E) y sus interacciones dobles ($a_w \times T$, $a_w \times E$ y $T \times E$).

FACTOR	GL	CM	F-ratio	P-valor
a_w	4	3743,8	80,73	0.0000*
E	1	4157,03	89,64	0.0000*
T	1	2951,21	63,64	0.0000*
$a_w \times E$	4	1595,87	34,41	0.0000*
$a_w \times T$	4	925,102	19,92	0.0000*
E x T	1	1855,46	40,01	0.0000*

GL: Grados de Libertad; CM: Cuadrado Medio; F-Ratio: F- Snedecor.

* Significativo $P < 0.05$

Tabla 3. Tipo de Interacción entre *T. harzianum* – *P. glomerata*

		0.995	0.98	0.95	0.90	0.85
<i>T. harzianum</i> - <i>P. glomerata</i>	25°C	D _(TH)	D _(TH)	D _(TH)	-	-
	15°C	D _(TH)	D _(TH)	PG*	-	-

(Especie): La especie entre paréntesis es la especie inhibidora.

-: No hay interacción. Ninguna de las dos especies ha crecido.

*: El signo se le añade cuando sólo crece una de las dos especies.

TH: *Trichoderma harzianum*.

PG: *Phoma glomerata*.

Tabla 4. Índice de Dominancia entre *T. harzianum* – *P. glomerata*

Temperatura	Especie fúngica	0.995	0.98	0.95
25 °C	<i>T. harzianum</i>	4	4	4
	<i>P. glomerata</i>	0	0	0
15 °C	<i>T. harzianum</i>	4	4	0
	<i>P. glomerata</i>	0	0	0

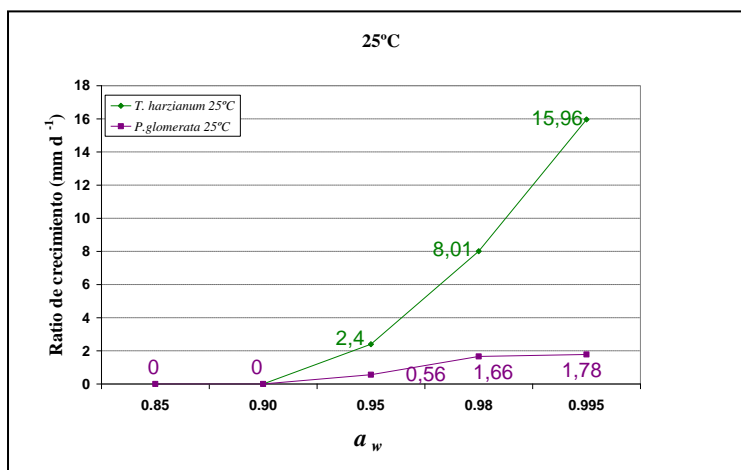


Figura 1. Influencia de la actividad de agua sobre la velocidad de crecimiento en la interacción *Trichoderma harzianum* – *Phoma glomerata* a 25° C crecidos en Agar Extracto de Arroz.

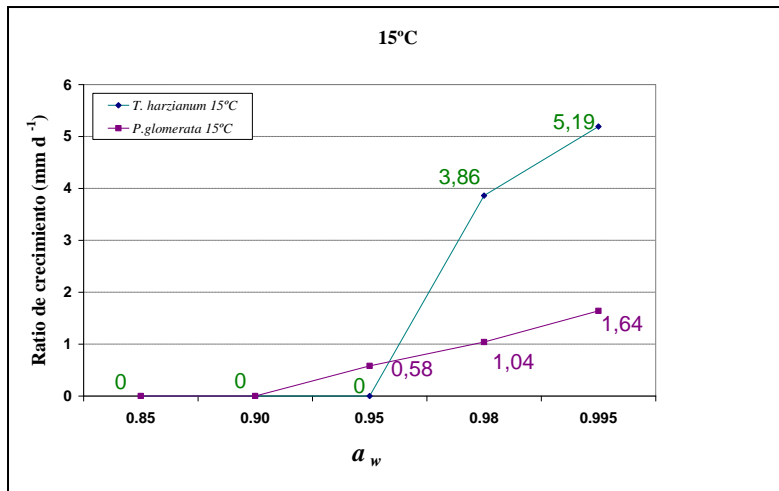


Figura 2. Influencia de la actividad de agua sobre la velocidad de crecimiento en la interacción *Trichoderma harzianum* – *Phoma glomerata* a 15° C crecidos en Agar Extracto de Arroz.

LA PROTEÓMICA COMO ALTERNATIVA CAPAZ DE DISCRIMINAR ENTRE ESPECIES CARNICAS ESTRECHAMENTE RELACIONADAS PRESENTES EN LOS ALIMENTOS

Alberto Massa, Enrique Sentandreu, Miguel Ángel Sentandreu

Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (CSIC), Calle Agustín Escardino, 7.
46980 Paterna, Valencia.

1. INTRODUCCION

Hoy en día, los consumidores demandan cada vez más una información fiable y precisa sobre los alimentos que consumen, sobre todo en productos procesados donde la diferenciación de los distintos ingredientes no es evidente a simple vista. El reciente escándalo sobre la presencia de carne de caballo no declarada en el etiquetado de alimentos ha puesto de manifiesto la importancia que tienen los métodos de identificación de especies cárnicas en descubrir y evitar estos fraudes (Palés et al., 2013). La legislación en esta materia debe proteger a los consumidores frente al etiquetado incompleto o el fraude, algo que generalmente se lleva a cabo con objeto de aumentar beneficio económico por parte del vendedor. Para controlar y evitar que ocurran estas prácticas, es necesario disponer de métodos robustos, precisos y sensibles con los que analizar los alimentos. En el caso concreto de los productos cárnicos, existe la obligación de indicar individualmente en la etiqueta del producto las diferentes especies cárnicas que componen el alimento. Para asegurar el cumplimiento de esta norma, las metodologías que se han empleado tradicionalmente en los laboratorios de control de alimentos han sido los inmunoensayos y los análisis de ADN (Paredi et al., 2013). A pesar de su gran utilidad estos métodos no están exentos de importantes limitaciones, especialmente cuando se tienen que aplicar al análisis de alimentos procesados o complejos. En el caso de los inmunoensayos, el no disponer de anticuerpos altamente específicos puede dar lugar a la aparición de reacciones cruzadas, algo que es especialmente probable que ocurra cuando hay que diferenciar entre especies estrechamente emparentadas, como es el caso de la carne de pollo (*Gallus gallus*) y pavo (*Meleagris gallopavo*). Además de esto, el procesado de los alimentos puede afectar a la estructura de las proteínas, con lo que la reacción antígeno-anticuerpo puede verse afectada. El procesado también puede afectar negativamente a los ensayos basados en análisis genéticos, ya que el ADN puede sufrir una importante degradación debido al empleo de condiciones agresivas como cambios bruscos de pH o la aplicación de altas temperaturas, lo que aumentaría la posibilidad de obtener fragmentos de ADN más cortos y por tanto no específicos de una

especie animal concreta (Primrose, Woolfe, & Rollinson, 2010). Los recientes avances en las técnicas de espectrometría de masas aplicadas al análisis de péptidos y proteínas constituyen una alternativa de futuro interesante a los métodos mencionados para determinar el tipo de carne que puede estar presente en los alimentos. El objetivo del presente trabajo consiste en el desarrollo de un análisis proteómico que permita la discriminación inequívoca entre especies de carne estrechamente relacionadas, en este caso carne de pollo y pavo, mediante la identificación de péptidos específicos de cada una de estas dos especies.

2. MATERIALES Y METODOS

Un gramo de carne de pollo (A) o de pavo (B) se homogeneizaron en 10 mL de un tampón Tris 10 mM conteniendo 6 M de urea y 1 M de tiourea (pH 8,0) con ayuda de un Polytron®. El homogenizado obtenido se centrifugó a 10.000 g durante 20 min a 4 °C. Del sobrenadante obtenido se tomó el volumen necesario para poder fraccionar 2 mg de proteínas totales mediante isoelectroenfoque en medio líquido en el intervalo de pH 4-7 empleando un fraccionador OFFGEL 3100 de Agilent (Palo Alto, CA). Se obtuvieron un total de 24 fracciones proteicas mediante esta técnica. La composición proteica de cada una de las fracciones se evaluó mediante electroforesis en gel de poliacrilamida al 10 % en condiciones desnaturalizantes (SDS-PAGE). De las fracciones donde se localizó la cadena ligera de miosina 3 en las dos especies (fracciones 3 y 4) se tomaron 20 µL para realizar una digestión con tripsina. Después de la digestión, se ajustó el volumen final de cada muestra a 40 µL con 0,1 % de ácido trifluoroacético. Los péptidos presentes en cada uno de estos extractos generados por acción de la tripsina se analizaron finalmente mediante cromatografía líquida acoplada a un espectrómetro de masas (LC-ESI-MS/MS) de tipo trampa iónica (LCQ Advantage, Thermo Electron Corp.). La identificación de la secuencia de los péptidos marcadores de cada especie se realizó a partir de los espectros de masas en tándem (MS/MS) empleando una versión local del motor de búsqueda MASCOT (www.matrixscience.com) como

3. RESULTADOS Y DISCUSION

Para poder diferenciar de una manera precisa y fiable entre las carnes de pollo y pavo haciendo uso de técnicas de Proteómica, se ha seleccionado la cadena ligera de miosina 3 (MLC-3) como proteína diana para la generación de péptidos específicos de cada especie animal. Tal como se puede apreciar en la **Figura 1**, después del fraccionamiento por

isoelectroenfoco en medio líquido (OFFGEL) de los extractos de proteínas de pollo y pavo, se observa que MLC-3 aparece separada de la mayor parte de las proteínas musculares en las fracciones 3 y 4, constituyendo por tanto una etapa eficaz en el enriquecimiento de esta proteína para la obtención posterior de péptidos biomarcadores de cada especie. MLC-3 también aparece en la fracción 5, especialmente en el caso del extracto de pollo (**Figura 1, A**), aunque mezclada con un mayor número de proteínas. Para poder evaluar la posibilidad de obtener péptidos específicos de especie, es necesario realizar una comparación entre la secuencia de aminoácidos de la MLC-3 de pollo y de pavo. El problema que ese plantea en este punto es que la secuencia de MLC-3 de pavo no se encuentra disponible en las bases de datos de proteínas. Sí que está disponible sin embargo la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de miosina 1 (MLC-1). En el caso del pollo, se encuentran disponibles tanto MLC-1 como MLC-3. Esto nos permite saber que prácticamente la totalidad de la secuencia de MLC-3 (150 aminoácidos) está contenida en la secuencia de MLC-1, que presenta una longitud de cadena mayor (192 aminoácidos). Por tanto, la comparación de secuencias entre MLC-3 de pollo y MLC-1 de pavo nos puede permitir localizar diferencias de aminoácidos que puedan generar péptidos marcadores específicos de cada una de estas dos especies. Esta comparación de secuencias (resultados no mostrados) nos permitió observar que, a pesar de la gran homología existente, existirían 3 aminoácidos diferentes entre MLC-3 de pollo y de pavo, posibilitando en teoría la generación de péptidos específicos.

De las fracciones OFFGEL donde se obtuvo mayoritariamente MLC-3 (**Fracciones 3 y 4, Figura 1**) se tomó un alícuota (20 μ L) para realizar una digestión con tripsina. Los péptidos obtenidos tras la digestión fueron analizados posteriormente mediante cromatografía líquida acoplada a una trampa iónica capaz de realizar una espectrometría de masas en tándem (LC-ESI-MS/MS). La identidad de los péptidos correspondientes a los espectros de masas obtenidos (MS/MS) permitió confirmar la cadena ligera de miosina 3 como la proteína de origen. Sin embargo, en virtud de lo comentado anteriormente, los péptidos identificados en el caso de la muestra de pavo fueron asignados a la MLC-1 de esta especie ante la inexistencia de MLC-3 de pavo en las bases de datos de proteínas. De entre todos los péptidos identificados, dos de ellos eran específicos de cada una de las dos especies, por lo que podrían ser empleados en la diferenciación inequívoca de las carnes de pollo y de pavo en los productos cárnicos. Las principales características de estos dos péptidos se resumen en la **Tabla 1**. Ambas secuencias serían homólogas, localizándose en la posición 13-20 de la proteína de origen (MLC-3). En el análisis “full MS” correspondiente a la determinación de

la masa molecular intacta, el péptido derivado de la digestión trípica de la proteína de pollo (Péptido A) se observa como un ión doblemente cargado con un valor de masa/carga (m/z) de 508, 87, mientras que su homólogo en la proteína de pavo (Péptido B) se detecta a un valor m/z de 492,05. El análisis de espectrometría de masas en tándem (MS/MS) de los iones doblemente cargados nos permitió elucidar la secuencia de aminoácidos de estos dos péptidos. En las **Figuras 2 y 3** se muestran los espectros MS/MS obtenidos para cada uno de ellos junto con los fragmentos de las series *b* e *y* identificados que han hecho posible la elucidación de las dos secuencias. Como se puede observar, los dos péptidos presentan una gran homología de secuencia, diferenciándose únicamente en el aminoácido localizado en posición C-terminal. En el caso del pollo, este aminoácido es arginina (**R**), mientras que en el péptido derivado de la proteína de pavo es lisina (**K**), siendo esta diferencia la causa del distinto valor en la masa intacta de estos péptidos (**Tabla 1**). Esta diferencia en las secuencias de los péptidos A y B haría posible por tanto la diferenciación inequívoca entre las carnes de pollo y pavo presentes en los productos cárnicos haciendo uso de una metodología robusta y precisa como es la espectrometría de masas. Como la identificación se realiza a nivel de la secuencia de aminoácidos, el poder discriminante de esta aproximación proteómica sería comparable a los métodos basados en el análisis de ADN. Sin embargo, la estrategia del análisis proteómico presentaría algunas ventajas frente a algunas limitaciones de los métodos de ADN, principalmente en lo que respecta al análisis de productos altamente procesados y los análisis de cuantificación. La extracción de proteínas y péptidos sería menos problemática comparada con la extracción del ADN. Además de esto, hay que tener en cuenta que la secuencia de aminoácidos de los péptidos sería considerablemente más resistente al tratamiento térmico que las secuencias de ADN, lo que daría lugar a una mayor fiabilidad en las determinaciones cuantitativas en productos procesados donde el material genético puede haberse degradado de manera notable (Sentandreu & Sentandreu, 2011). Otras metodologías que se han empleado en los estudios de composición de carne, como la electroforesis, la cromatografía líquida o los inmunoensayos, presentan un menor poder discriminante a la hora de diferenciar entre especies estrechamente relacionadas, como el caso que nos ocupa, ya que no se basan en diferencias precisas a nivel de secuencia (Giovannacci et al., 2004).

4. CONCLUSIONES

Los resultados del presente trabajo ponen de manifiesto el potencial que tiene la espectrometría de masas aplicada al análisis proteómico en el desarrollo de nuevos métodos

de control para revelar la presencia de los distintos tipos de carne que pueden encontrarse en los productos cárnicos. El método desarrollado es robusto, rápido y sensible, con capacidad para discriminar entre especies de carne estrechamente relacionadas, como es el caso de las carnes de pollo y de pavo. Esta nueva metodología representa una alternativa de interés a los métodos utilizados actualmente (inmunoensayos y análisis de ADN) en el control del fraude en la composición de los alimentos.

5. AGRADECIMIENTOS

Trabajo realizado bajo la financiación del proyecto AGL2012-32146) del Ministerio Español de Economía y Competitividad.

6. BIBLIOGRAFIA

Giovannacci, I., Guizard, C., Carlier, M., Duval, V., Martin, J. L., & Demeulemester, C. (2004). Species identification of meat products by ELISA. *International Journal of Food Science and Technology*, 39, 863-867.

Palés, M., Corell, P., Sentandreu, E., Amat, C. B., Ouali, A., & Sentandreu, M. A. (2013). Use of Peptidomics in differentiating horse from beef meat. In *59th ICoMST* (pp. 22). Izmir (Turkey).

Paredi, G., Sentandreu, M. A., Mozzarelli, A., Fadda, S., Hollung, K., & de Almeida, A. M. (2013). Muscle and meat: New horizons and applications for proteomics on a farm to fork perspective. *Journal of Proteomics*, 88, 58-82.

Primrose, S., Woolfe, M., & Rollinson, S. (2010). Food forensics: methods for determining the authenticity of foodstuffs. *Trends in Food Science & Technology*, 21, 582-590.

Sentandreu, M. A. & Sentandreu, E. (2011). Peptide biomarkers as a way to determine meat authenticity. *Meat Science*, 89, 280-285.

Tabla 1: Resumen de las características de los péptidos caracterizados en el presente trabajo mediante espectrometría de masas en tándem (MS/MS) derivados de la cadena de miosina 3 y que son específicos de pollo (Péptido A) o de pavo (Péptido B). Los aminoácidos diferentes entre los dos péptidos aparecen en distinto color en la posición C-terminal.

Péptido	Masa observada (Estado de carga)	Posición	Secuencia	Proteína de origen (Numero de entrada)*	Especie animal
A	505,87 (2+)	13-20	EAFL LFDR	MLC-3 (gi 55584150)	<i>Gallus gallus</i>
B	492,05 (2+)	55-62**	EAFL LFDK	MLC-1 (gi 326922419)	<i>Meleagris gallopavo</i>

*: Numero de entrada de cada proteína en la base de datos de proteínas NCBIInr.

** : Posición referida a MLC-1 de pavo, que es la proteína cuya secuencia está disponible en NCBIInr.

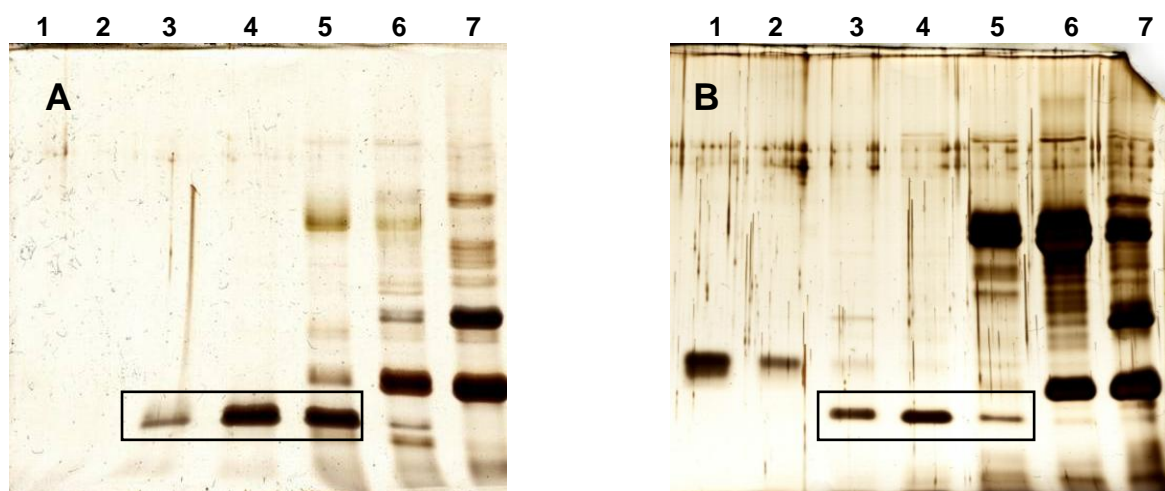
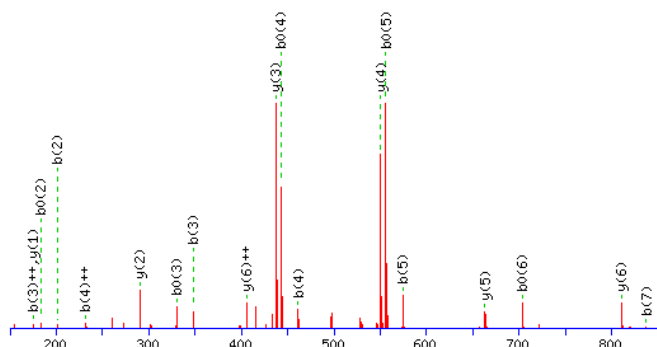


Figura 1: SDS-PAGE al 10 % correspondiente a las fracciones 1-7 obtenidas después de fraccionar por isoelectroenfoque en medio líquido (intervalo de pH 4-7) los extractos cárnicos de pollo (A) y pavo (B). Las bandas correspondientes a la cadena ligera de miosina 3 de las dos especies se enmarcan en los rectángulos de borde negro.

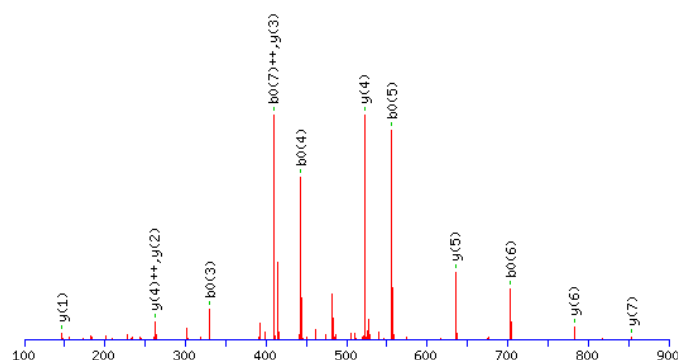
MS/MS 505,87(2⁺): EAFLLFDR (Péptido A)



Iones b	Secuencia	Iones y
130,1	E	
201,1	A	881,5
348,1	F	810,5
461,2	L	663,4
574,3	L	550,3
721,4	F	437,2
836,4	D	290,1
	R	175,1

Figura 2: Espectro de fragmentación (MS/MS) del péptido EAFLLFDR (Péptido A), generado a partir de la digestión con tripsina de la cadena ligera de miosina 3 de pollo (*Gallus gallus*). Los iones de las series b e y identificados en el espectro aparecen en la tabla en rojo.

MS/MS 492,05(2⁺): EAFLFDK (Péptido B)



Iones b	Secuencia	Iones y
130,1	E	
201,1	A	853,5
348,1	F	782,4
461,2	L	635,4
574,3	L	522,3
721,4	F	409,2
836,4	D	262,1
	K	147,1

Figura 3: Espectro de fragmentación (MS/MS) del péptido EAFLFDK (Péptido B), generado a partir de la digestión con tripsina de la cadena ligera de miosina 3 de pavo (*Meleagris gallopavo*). Los iones de las series b e y identificados en el espectro aparecen en la tabla en rojo.

AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DE PÃES DE TRIGO E DE ARROZ SUPLEMENTADO COM *SPIRULINA*

Selmo, M. S.¹, Fagundes, G. A.¹, Salas-Mellado, M. M.¹

¹Laboratório de Tecnologia de Alimentos (LTA), Programa de Pós-graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande (FURG), Rio Grande/RS, Brasil

1. INTRODUÇÃO

Segundo a legislação brasileira, pães são produtos obtidos da farinha de trigo e ou outras farinhas, adicionados de líquidos, resultantes do processo de fermentação ou não, e cocção, podendo conter outros ingredientes, desde que não descaracterizem os produtos (BRASIL, 2005). O pão é um dos alimentos mais apreciados e consumidos, sendo tradicionalmente elaborado a partir da farinha de trigo. Atualmente existe uma procura grande por produtos isentos de glúten, substância proteica presente no trigo, aveia, centeio e cevada. O glúten além de ser intolerado por portadores da doença celíaca, vem sendo relacionado a sintomas gastrointestinais como desconforto, inchaço abdominal, gases, etc. A farinha de arroz possui cor e sabor suaves, propriedades nutricionais, hipoalergênicas, e tem sido utilizada em substituição à farinha de trigo na elaboração de pães livres de glúten, favorecendo o consumo de pães por pessoas celíacas.

A *Spirulina* pertencente ao grupo das Cyanobacterium ou grupo das algas verde-azulada (AMBROSI et al. 2008), e pode ser considerada de grande importância na alimentação humana devido às suas qualidades nutricionais, como o alto teor de proteínas, baixo teor de lipídios, e alto teor de ácido linoleico (SASSANO, 1999). A *Spirulina* é rica em vitaminas e minerais (BABADZHANOV et al, 2004). A Food and Drug Administration (FDA, 2003) certificou esta microalga como GRAS (*Generally Recognized as Safe*), baseada em pesquisas científicas realizadas por *Cyanotech Corporation* (Havaí) e *Earthrise Nutritionals* (Califórnia). No Brasil, pesquisas estão sendo conduzidas para sua utilização como aditivo alimentar em diferentes produtos (PEREZ et al., 2007; MORAIS et al., 2009). A *Spirulina* pode ser caracterizada como um alimento funcional por estar relacionada com a redução do risco de doenças e também como um nutracêutico, pois se relaciona com a prevenção de doenças. A caracterização como nutracêutico explica o fato de alguns estudos apontarem que pequenas quantidades ingeridas já assegurem respostas biológicas significativas (OLIVEIRA et al. 2013). Este trabalho teve como objetivo avaliar

nutricionalmente pães de trigo e de arroz suplementado com *Spirulina*, através de um ensaio biológico.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os materiais utilizados na elaboração dos pães foram: farinha de trigo tipo 1, marca Mafalda, farinha de arroz inativada da Cerealtec, enzima transglutaminase Activa WM da Ajinomoto Co., hidrocolóide metilcelulose Methocel A4M® da Colorcon, ácido ascórbico, P.A. da marca Synth e Microalga *Spirulina* cepa LEB-18, do Laboratório de Engenharia Bioquímica (LEB) da Universidade Federal do Rio Grande (FURG). Os demais ingredientes utilizados: fermento biológico seco marca Fleishmann, cloreto de sódio (sal refinado iodado), sacarose (açúcar refinado) e óleo de soja foram adquiridos no comércio local.

2.1 Elaboração dos pães

Os pães foram elaborados conforme as formulações apresentadas na Tabela 1. Os ingredientes secos foram pesados e misturados em uma batedeira planetária marca Kitchen-Aid em velocidade baixa por 1 minuto. A seguir, a água e os lipídios foram adicionados e misturados por mais 9 minutos. Porções de 175g da massa do pão de trigo foram modeladas, colocadas em fôrmas metálicas de 15x8x4,5cm untadas com óleo de soja e levadas à fermentação por 90 minutos em estufa a 30°C. As massas dos pães de arroz e pão de arroz com *Spirulina* foram levadas à estufa a 30°C por 60 minutos (1ª fermentação). Após, cada porção de 175g de massa foi colocada em formas metálicas de 15x8x4,5cm untadas com óleo. As formas foram levadas à estufa a 30°C por mais 55 minutos (2ª fermentação). Após a fermentação, as massas foram assadas em forno marca Fischer, pré-aquecido, a 200°C por 20 minutos. Os pães foram removidos das fôrmas, deixados em temperatura ambiente por 1 hora para arrefecimento e após foram triturados e congelados até o momento de elaboração das dietas.

2.2 Elaboração das dietas

Foram preparadas cinco dietas, seguindo as recomendações de Reeves et al. (1993) para atender as necessidades nutricionais de roedores em crescimento (AIN93G): 1) dieta controle, com caseína comercial (90% de proteína); 2) dieta aprotéica, sem adição de fonte proteica; 3) dieta à base de pão de arroz (PA); 4) dieta à base de pão de arroz com *Spirulina* (PS); e 5) dieta à base de pão de trigo (PT). A formulação da dieta controle, apesar da recomendação ser de 20% de proteína para roedores em crescimento, foi calculada para 10%,

pois segundo Miller e Bender (1955) e Sgarbieri (1996) fontes proteicas apresentam maior utilização nesta quantidade. A dieta aprroteica foi formulada a partir da controle, retirando-se a caseína e complementando-se com amido de milho. Para elaboração das dietas experimentais, a proteína padrão (caseína), foi substituída pelo material em estudo (pão de arroz, pão de arroz com *Spirulina* e pão de trigo) e complementadas com caseína, para atingir o teor de 10% de proteína. As quantidades de óleo de soja e minerais também foram ajustadas, descontando seus teores presentes nos pães. Os demais ingredientes foram adicionados conforme preconizado por Reeves et al. (1993) e o amido de milho adicionado para completar 1000g de dieta. A Tabela 2 apresenta a formulação das dietas elaboradas segundo Reeves et al. (1993).

Todas as dietas foram confeccionadas na forma de *pellets* e secas em estufas com circulação de ar à 50°C, por aproximadamente 18h. As dietas foram analisadas em triplicata, quanto aos percentuais de umidade, cinzas, lipídios e proteínas segundo a AOAC (2000).

2.3 Ensaio biológico

Foram utilizados 30 ratos da espécie *Rattus norvegicus* cepa *Wistar/UFPEL*, machos, 21 dias, recém desmamados, fornecidos pelo Biotério da Universidade Federal de Pelotas (UFPeL). O experimento foi conduzido por um período de 17 dias, dos quais os três primeiros foram de adaptação dos animais às condições do ambiente e à dieta padrão da espécie (dieta controle). Durante todo o ensaio, o laboratório permaneceu sob controle de luz (fotoperíodo de 12h) e temperatura ($\pm 22^{\circ}\text{C}$). Os animais foram mantidos em gaiolas metabólicas individuais, de aço inoxidável, recebendo diariamente 20g de dieta e água *ad libitum*. As sobras das dietas foram pesadas diariamente para a determinação do consumo alimentar. A massa corpórea dos ratos foi medida a cada três dias para a avaliação do ganho de peso. As fezes foram coletadas a partir dos últimos sete dias do experimento para determinação do teor de nitrogênio. A execução do experimento seguiu as normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal e foi aprovado pela Comissão de Ética da Universidade Federal de Pelotas – RS/Brasil (processo nº 23110009867/2012-21). Os índices biológicos avaliados foram Razão proteica líquida (NPR), segundo Bender e Doell (1957), Coeficiente de eficiência alimentar (CEA), Digestibilidade aparente (DA) e Digestibilidade verdadeira (DV) de acordo com Sgarbieri (1996). Os resultados foram analisados estatisticamente através do teste de Tukey ao nível de 5% de significância. As equações 1, 2, 3 e 4 mostram o cálculo dos índices biológicos.

$$\text{NPR} = \frac{\text{ganho de peso do grupo teste(g)} - \text{perda de peso do grupo aprotéico}}{\text{proteína consumida pelo grupo teste (g)}} \quad (1)$$

$$\text{CEA} = \frac{\text{ganho de peso (g)}}{\text{consumo de dieta (g)}} \quad (2)$$

$$\% \text{ Digestibilidade aparente} = \frac{\text{I} - \text{F} \times 100}{\text{I}} \quad (3)$$

$$\% \text{ Digestibilidade verdadeira} = \frac{\text{I} - (\text{F} - \text{FK}) \times 100}{\text{I}} \quad (4)$$

Onde:

I =nitrogênio ingerido pelo grupo teste

F=nitrogênio fecal do grupo teste

FK=nitrogênio fecal do grupo aprotéico

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 3 apresenta os resultados da composição proximal das dietas estudadas no ensaio biológico. As diferenças de umidade encontradas nas dietas provavelmente ocorreram devido ao processo de secagem. O teor proteico das dietas ficou acima daquele definido devido à utilização do farelo de trigo como fibra para a dieta. O farelo utilizado possuía um teor aproximado de 1% de proteína, o que pode ser confirmado pelo teor proteico de 1,55% encontrado na dieta aprotéica. As dietas controle e pão de arroz com *Spirulina* apresentaram valores de lipídios fora do esperado, já que o teor de óleo adicionado nas dietas foi calculado para 7%. As dietas apresentaram teor de cinzas inferior ao esperado segundo a formulação, pois a elas foi adicionado 3,5% de mistura de minerais.

A Tabela 4 mostra as respostas ponderais e nutricionais de ratos alimentados com dieta Controle, PA, PS e PT. Os pesos iniciais dos ratos dentro de todos os grupos alimentados com as dietas não diferiram estatisticamente entre si, mantendo uniformidade entre os grupos. O ganho de peso dos ratos foi menor para o grupo alimentado com a dieta PT. Embora tenha havido diferenças quanto ao teor proteico das dietas, o total de proteína consumida pelos ratos não diferiu. Os resultados do CEA mostraram que as dietas PA e PS foram tão eficientes no ganho de peso corporal quanto à dieta controle. Borges et al. (2010),

estudando a qualidade proteica do pão de trigo contendo linhaça, obteve para a dieta controle um CEA de 0,33 e para o pão de trigo com 15% de linhaça o valor de 0,14.

O NPR avalia a capacidade da proteína de manter o peso e promover o crescimento dos animais, além de dar respostas mais confiáveis por ser este índice menos sensível às variações nas concentrações de proteína das dietas experimentais (Sgarbieri, 1996). As dietas PA e PS forneceram valores de NPR significativamente semelhantes à dieta controle, mostrando que a proteína do pão de arroz e do pão de arroz com *Spirulina* foram ambas eficientes para o crescimento dos ratos. No estudo de Borges et al. (2010), o NPR dos animais alimentados com pão de trigo com linhaça foi de 2,74 e da dieta controle de caseína 4,40. Wally (2007), estudando as propriedades nutricionais de pães elaborados com farinhas mistas de trigo, arroz e soja desengordurada, obteve valores de 2,28 para a dieta controle e para o pão elaborado com proporções 70:15:15 de trigo arroz e soja respectivamente de 1,67. A dieta PA e PS não mostraram diferenças significativas, provavelmente pelo teor de *Spirulina* adicionado ao pão (4,0%) ser baixo para promover aumento significativo no NPR. Segundo Chaud, Sgarbieri e Vicente (2008), proteínas originadas de diferentes misturas e usadas em diversas proporções podem resultar em variações na concentração dos aminoácidos limitantes, os quais interferem na eficiência de sua utilização pelo homem e animais. A digestibilidade é a medida da porcentagem de proteínas que são hidrolisadas pelas enzimas digestivas e absorvidas na forma de aminoácidos ou de qualquer outro composto nitrogenado. Os valores de digestibilidade proteica, tanto a aparente quanto a verdadeira, não mostraram diferenças significativas entre os grupos, indicando que as proteínas das dietas PA, PS e PT foram bem absorvidas pelo organismo dos ratos.

4. CONCLUSÕES

As dietas experimentais mostraram-se tão eficientes quanto à dieta controle no ganho de peso e consumo proteico. Com relação ao coeficiente de eficiência alimentar e a razão proteica líquida, as dietas formuladas com pão de farinha de arroz e farinha de arroz adicionada de *Spirulina*, apresentaram os maiores valores, superando a dieta controle. A dieta à base de pão de trigo apresentou os menores índices de CEA e NPR, entretanto os seus valores de digestibilidade aparente e verdadeira foram semelhantes à dieta controle.

5. BIBLIOGRAFIA

Ambrosi, M.A. Reinehr, C.O.; Bertolin, T.E.; Costa, J.A.V; Colla, L.M. Propriedades de saúde de *Spirulina* spp. Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl., v. 29, n.2, p. 109-117, 2008.

AOAC - Association of Official Analytical Chemists Official Methods of Analysis. Official Methods of Analysis, 17ª Edição, Washington, D. C., CD-ROM, 2000.

Babadzhanov, A. S.; Abdusamatova, N.; Yusupova, F. M.; Faizullaeva, N. Mezhlumyan, L. G.; Malikova, M. K. Chemical composition of *Spirulina platensis* cultivated in Uzbekistan. Chemistry of Natural Compounds, v. 40, n° 3, 2004.

Bender, A. E.; Doell, B. H. Biological evaluation of proteins: a new aspect. British Journal of Nutrition, n. 11, p. 140-148, 1957.

Borges, J.T.S.; Pirozi, M.R.; Costa, N.M.B.; Vidigal, J.G. Qualidade proteica de pão de sal contendo farinha de linhaça (*linum usitatissimum* l.) Alim. Nutr., Araraquara v.21, n.1, p. 109-117, jan./mar. 2010.

Brasil, Ministerio Da Saúde, Agencia Nacional de Vigilancia Sanitária – ANVISA, Resolução - RDC nº 263, de 22 de setembro de 2005. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/1ae52c0047457a718702d73fbc4c6735/RDC_263_2005.pdf?MOD=AJPERES. Acesso em setembro de 2013.

Chaud, S. G.; Sgarbieri, V. C.; Vicente, E. Influence of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) cell wall fractions on some nutritional parameters of growing rats. Revista de Nutrição, v. 21, n. p. 137-147, 2008.

FDA – Food and Drug Administration (2003) Disponível em: <http://www.fda.gov/Food/FoodIngredientsPackaging/GenerallyRecognizedasSafeGRAS/GRASListings/ucm153674.htm>. Acesso: outubro de 2013.

Miller, D. S.; Bender, A. E. The determination of the net protein utilization of proteins by a shortened method. British Journal of Nutrition, v. 9, 382–388, 1955.

Morais, M. G. D.; Miranda, M. Z. D.; Costa, J. A. V. Biscoitos de chocolate enriquecidos com *Spirulina platensis*: características físicoquímicas, sensoriais e digestibilidade. Alimentos e Nutrição Araraquara, v.17, n. 3, p. 323-328, 2009.

Oliveira W. C.; Oliveira, C. A.; Campos-Galvão, M. E. M.; Castro, V. C.; Nascimento, A. G. Cyanobacteria: a review of potential nutritional and biotechnological aspects Cianobactérias: uma revisão sobre potencial nutricional e alguns aspectos biotecnológicos. BBR - Biochemistry and Biotechnology Reports. Jan./Jun., v.2, n.1, p. 49-67, 2013.

Perez, K. J.; Guarienti, C.; Bertolin, T. E.; Costa, J. A. V.; Colla, L. M. Viabilidade de bactérias lácticas em iogurte adicionado de biomassa da microalga *Spirulina platensis* durante o armazenamento refrigerado. Alimentos e Nutrição Araraquara, v. 18, n. 1, p. 77-82, 2007.

Reeves, P. G.; Nielsen, F. H.; Fahey Jr, G. C. AIN-93 Purified Diets for Laboratory Rodents: Final Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76 Rodent Diet. Rodent Diet, v. 123, n. 6, p.1939-1951, 1993.

Sassano, C. E. N. Influencia da uréia no crescimento e no teor do ácido graxo linolenico da biomassa de *Spirulina platensis*. 144 f. Dissertação Mestrado, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo: São Paulo, 1999.

Sgarbieri, V. C. Proteínas em alimentos proteicos: propriedades, degradação, modificação. São Paulo: Varela, 1996. 517p.

Wally, A. P. S. Propriedades físico-químicas e nutricionais de farinhas mistas de trigo, arroz e soja para a elaboração de pães. Dissertação de Mestrado. UFPEL, Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Pelotas: 2007.

Tabela 1. Formulação dos pães de arroz, de arroz com *Spirulina* e de trigo.

Ingredientes	g/100g de farinha de arroz		
	Pão de arroz	Pão de arroz e <i>Spirulina</i>	Pão de trigo
Farinha de arroz	100	100	-
Farinha de trigo	-	-	100
Água	120	120	60
Sal refinado iodado	2	2	2
Açúcar refinado	5	5	5
Fermento biológico seco	1,5	1,5	3
Óleo de soja	6	6	-
Gordura vegetal	-	-	6
Ácido ascórbico P.A.	90ppm	90ppm	90ppm
metilcelulose	1,5	1,5	-
transglutaminase	0,2	0,2	-
<i>Spirulina</i>	-	4,0	-

Tabela 2. Formulação das dietas Controle, Aprroteica, PA, PS e PT.

Ingredientes	Dietas (g.k ⁻¹)				
	Controle	Aproteica	PA	PS	PT
Pão de arroz	-	-	704,5	-	-
Pão com <i>Spirulina</i>	-	-	-	716,5	-
Pão de trigo	-	-	-	-	743,5
Caseína	120,0	-	58,0	50,0	23,0
Óleo de soja	70,0	70,0	35,0	35,0	36,0
Mistura de minerais	35,0	35,0	20,0	15,0	15,0
Mistura de vitaminas	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
L-cistina	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0
Bitartarato de colina	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Fibras	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0
Sacarose	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Amido de milho	609,5	729,5	17,0	18,0	17,0

Tabela 3. Composição proximal das dietas Controle, Aprroteica, PA, PS e PT.

Características (%)	Dietas				
	Controle	Aprroteica	PA	PS	PT
Umidade	10,95 ^a ±0,15	9,22 ^c ±0,14	9,58 ^{bc} ±0,25	10,08 ^b ±0,46	9,59 ^{bc} ±0,16
Proteína	11,75 ^c ±0,15	1,55 ^d ±0,04	12,28 ^b ±0,01	12,70 ^a ±0,01	11,77 ^c ±0,30
Extrato Etéreo	6,43 ^d ±0,10	7,03 ^c ±0,02	7,69 ^b ±0,07	8,50 ^a ±0,19	5,17 ^e ±0,04
Cinzas	2,62 ^c ±0,05	2,43 ^d ±0,04	3,22 ^a ±0,03	3,12 ^b ±0,01	3,12 ^b ±0,03
Carboidratos*	68,25	79,76	67,23	65,60	70,35

Média de 3 repetições ± desvio padrão; Letras distintas em uma mesma linha indicam diferença significativa entre as dietas pelo teste de Tukey (p≤0,05). *Calculado por diferença.

Tabela 4. Respostas ponderais e nutricionais de ratos alimentados com dieta Controle, PA, PS e PT.

Determinações	Dietas			
	Controle	PA	PS	PT
Peso inicial (g)*	63,18 ^a ±10,77	64,30 ^a ±3,60	66,44 ^a ±8,11	64,51 ^a ±9,43
Peso final (g)	128,00 ^{ab}	135,54 ^a ±6,37	139,22 ^a ±14,99	108,81 ^b ±13,13
Ganho de peso (g)	64,82 ^a ±14,65	71,24 ^a ±4,08	72,78 ^a ±9,14	44,30 ^b ±5,75
Consumo de dieta (g)	172,19 ^a ±26,69	167,33 ^a ±13,01	173,30 ^a ±24,20	170,07 ^a ±19,47
Consumo de proteína	20,23 ^a ±3,14	20,55 ^a ±1,60	22,01 ^a ±3,07	20,09 ^a ±2,29
CEA	0,37 ^a ±0,04	0,43 ^b ±0,03	0,42 ^{ab} ±0,02	0,26 ^c ±0,02
NPR	3,62 ^a ±0,35	3,90 ^a ±0,27	3,71 ^a ±0,19	2,64 ^b ±0,18
DA(%)**	93,60 ^a ±1,44	84,45 ^b ±4,19	83,83 ^b ±1,24	89,87 ^{ab} ± 2,58
DV(%)**	96,13 ^a ±1,55	86,46 ^b ±4,10	85,70 ^b ±1,21	91,95 ^{ab} ± 2,53

Média de 6 repetições ±desvio padrão; Letras distintas em uma mesma linha indicam diferença significativa entre as dietas pelo teste de Tukey (p≤0,05); *Após 3 dias de adaptação; CEA: coeficiente de eficiência alimentar; NPR: razão proteica líquida, DA: digestibilidade aparente, DV: digestibilidade verdadeira; ** Média de 3 repetições.

EFEITO DA ADIÇÃO DE PROTEÍNAS DE COBIA (*RACHYCENTRON CANADUN*) SOBRE AS CARACTERÍSTICAS TECNOLÓGICAS DE PÃES DE TRIGO

Fagundes, G. A.¹; Salas-Mellado, M. M.¹

¹Laboratório de Tecnologia de Alimentos (LTA), Programa de Pós-graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande (FURG), Rio Grande/RS, Brasil

1. INTRODUÇÃO

O pão é um dos alimentos mais antigos que se têm notícia, sendo consumido em todo o mundo, por pessoas de todas as classes sociais. Por ser rico em carboidratos, é uma excelente fonte de energia, e em menor quantidade, de proteínas. Conforme a legislação brasileira, pão é o produto obtido da farinha de trigo e/ou outras farinhas, adicionado de líquido, resultante do processo de fermentação e de cocção, podendo conter outros ingredientes, desde que não descaracterizem os produtos (BRASIL, 2005).

Com relação às características sensoriais de pães, os atributos físicos de textura, cor e volume específico (VE) estão entre as mais importantes levadas em consideração pelos consumidores. As propriedades mecânicas dos pães são frequentemente associadas à percepção sensorial do frescor e da elasticidade e influenciam na decisão de consumo (ANGIOLONI E COLLAR, 2009).

Proteínas derivadas de fontes animais, a exemplo dos pescados, são consideradas nutricionalmente superiores às de origem vegetal, pois contém um melhor balanço de aminoácidos essenciais (KRISTINSSON e RASCO, 2000). As farinhas obtidas de cereais não são capazes de prover todos os aminoácidos essenciais, sendo deficientes principalmente em lisina (PALLARÉS, LÉON e ROSELL, 2007; COSTANDACHE, 2007).

Devido ao papel significativo que os pães desempenham na dieta, tornou-se hábito em diversos países, enriquecer as farinhas com nutrientes que sejam limitantes ou ausentes, de uma forma prontamente assimilável, respeitando a legislação de cada país (SIDWELL e HAMMERLE, 1970; COSTANDACHE, 2007; CENTENARO et al., 2007; CAUVAIN e YOUNG 2009; KEIKO et al., 2011).

O Brasil apresenta um dos menores índices de consumo de pescado (<10Kg per capita/ano), sendo a média mundial de 17Kg/per capita/ano (FAO, 2010). Pescados são uma excelente fonte proteica, variando entre 15 e 25%, e apresentam todos os aminoácidos essenciais (SGARBIERI, 1996; ZHOU et al., 2004; OETTERER et al., 2006; FIB, 2009).

Cobia é um peixe nerítico, epipelágico, de coloração escura, podendo alcançar um comprimento e peso final próximo a 200 cm e 70 kg, respectivamente (OLIVEIRA, 2012). As suas altas taxas de crescimento e ótima qualidade da carne o qualificam como candidato em potencial para a aquicultura (LIAO et al., 2004; BENETTI et al., 2008). Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da adição da proteína de cobia sobre as características tecnológicas de pães de trigo.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Matéria-prima, ingredientes e reagentes

Foram utilizados exemplares de cobia, fornecidos pela Estação Marinha de Aquicultura (EMA) da Universidade Federal do Rio Grande (FURG); farinha de trigo tipo I, fornecida pelo Moinho Galópolis da cidade de Rio Grande/RS, e os demais ingredientes (cloreto de sódio, sacarose, fermento biológico seco e gordura vegetal hidrogenada) foram adquiridos no comércio local.

2.2 Obtenção da polpa

A obtenção da polpa de cobia foi realizada conforme Centenaro et al. (2007), com modificações. Os pescados foram eviscerados, filetados e despulpados em despulpadeira marca Hightech, modelo HT 250C. A massa de músculo resultante foi lavada com água destilada na proporção polpa/água de 1:3, utilizando três ciclos de lavagem de cinco minutos cada, com agitação constante. A polpa foi centrifugada em hidroextrator para retirada do excesso de água, congelada em ultrafreezer (-80°C) por 48h e então liofilizada. Após, a polpa foi triturada, moída e peneirada em malha de 42 mesh para obtenção da polpa seca em pó.

2.3 Formulação e elaboração dos pães

Foram utilizados os ingredientes nas quantidades constantes na Tabela 1.

Primeiramente os ingredientes secos foram homogeneizados em batedeira planetária, marca Kitchen-Aid, sendo adicionados após a gordura vegetal e a água. Fez-se a mistura em velocidade máxima, durante 10 minutos, até o desenvolvimento da massa e do glúten. A massa foi pesada, dividida em pedaços de 175g, boleadas em formato esférico, moldadas com cilindro e colocadas em fôrmas metálicas próprias, com as seguintes dimensões: 13,3 x 5,5cm de base menor e 15,5 x 7,4cm de base maior, e altura de 4,5cm. A fermentação foi realizada em estufa marca Quimis, a 30°C durante 90 minutos, com controle de temperatura e umidade relativa. O forneamento ocorreu a 200°C durante 20 minutos em forno elétrico, marca Malta,

pré-aquecido; os pães resultantes foram arrefecidos em temperatura ambiente e analisados após 1 hora de repouso.

2.4 Planejamento experimental

Foi realizado um delineamento composto central rotacional (DCCR) fatorial completo 2^2 (BOX e WILSON, 1951), com três pontos centrais, totalizando 11 ensaios (Tabela 2). As variáveis independentes analisadas foram: a) quantidade de polpa (2 a 12%); b) quantidade de gordura vegetal (0 a 3%). As variáveis resposta foram: volume específico, firmeza do miolo e a cor do miolo. Foi elaborado um pão padrão, sem adição de polpa, para comparação com os demais.

2.5 Análises tecnológicas dos pães

- a) Determinação da firmeza: foram realizadas medidas de firmeza no miolo do pão, utilizando texturômetro TAXT.Plus conforme método 74-09.01 da AACC (2000);
- b) Determinação da cor: foram realizadas medidas da cor do miolo, utilizando colorímetro Minolta, seguindo o sistema de cor no espaço L^*a^*b , definido pela Comissão Internacional de Iluminação, avaliando os valores L^* (luminosidade), a^* e b^* (coordenadas de cromaticidade);
- c) Determinação do volume específico (VE): foi calculado pela razão entre o volume aparente do pão, determinado pelo deslocamento de sementes de painço (método 72-10 da AACC, 2000), e seu peso.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 3 apresenta os resultados das análises tecnológicas feitas nos pães obtidos nos ensaios do planejamento experimental.

Com relação à cor, os pães F4 foram os que apresentaram menor luminosidade no miolo (68%), o que pode ser explicado pela adição de altos teores de polpa (10,55%) e de gordura (2,56%). A maior luminosidade foi obtida em pães F1 (73%), elaborado com 3,45% de polpa 0,44% de gordura. Teores de polpa menores que 3,5%, e de gordura vegetal até 1,5% promoveram as maiores luminosidades nos pães.

Durante o forneamento ocorrem reações de degradações dos compostos, conforme se observa nos valores de luminosidade. A temperatura de assamento para a maioria dos pães oscila entre 190 e 250°C, e no centro do miolo a temperatura atinge cerca de 98°C. A

presença de açúcares na formulação acelera reações de caramelização e Maillard, levando ao escurecimento da crosta e miolo, que podem ser ou não desejados (ESTELLER et al., 2006). Segundo estes mesmos autores, altos valores de luminosidade indicam maior refletância da luz traduzindo-se em pães com coloração clara. Maiores valores de a (desvio para o vermelho) indicam coloração mais escura, dependente de algumas interações entre os ingredientes ativadas pelo calor. É o que ocorre para o pão de forma, com maior conteúdo de açúcares em suas formulações. Valores altos para b são traduzidos para amostras com forte coloração amarelada ou dourada (cor castanha, típica de produtos forneados), e aparece também em pães ricos em proteínas.

Os maiores valores de VE foram obtidos quando adicionados teores de gordura a partir de 0,5% até o máximo (3%), ao contrário da polpa, que reduziu o VE em proporção direta à quantidade adicionada.

Segundo El-Dash et al. (1978), citado por OLIVEIRA et al. (2007), o volume é um aspecto importante na determinação da qualidade de pães, sendo afetado pelos ingredientes usados na formulação da massa, principalmente a farinha e pelos processos utilizados na sua fabricação. Stefanis & Ponte (1976), citado por OLIVEIRA et al. (2007), afirmam que os lipídeos possuem a capacidade de formar complexos com proteínas durante o processo de mistura, influenciando positivamente na capacidade de retenção de gás na massa e no volume do pão.

A firmeza dos pães está relacionada com a força aplicada para ocasionar uma deformação ou rompimento da amostra, e pode ser correlacionada com a mastigação humana. A força máxima avaliada para produtos panificados é dependente da formulação (qualidade da farinha, quantidade de açúcares, gorduras, emulsificantes, enzimas, adição de glúten e melhoradores de farinha), umidade da massa e conservação (tempo de fabricação do produto e embalagem).

O menor valor de firmeza no miolo dos pães foi obtido nos pães F5 (com menor adição de polpa, 2%); seguindo à regra, a maior firmeza foi constatada no pão com maior adição de polpa (F6, 12%). Observa-se que a adição de polpa e de gordura vegetal conferem um efeito antagônico à firmeza do miolo dos pães; quanto maior o teor de gordura e menor o de polpa, maior a maciez. A dureza do miolo é muitas vezes usado como medida do endurecimento do pão (ANGIOLONI E COLLAR, 2009).

Sidwell e Hamerle (1970) estudaram o efeito da adição de um concentrado proteico de pescado (*Urophycis chuss*). A massa foi preparada misturando quantidades de zero a 2,5% de

concentrado proteico à farinha, e que esta adição diminuiu o volume do pão e o miolo tornou-se escuro, grosseiro e compacto.

Centenaro et al. (2007) enriqueceram pão com proteínas de cabrinha (*Prionotus punctatus*) verificando aumento no teor proteico e boa aceitação sensorial dos pães adicionados de 3 e 5% de polpa seca, ocorrendo entretanto uma diminuição de qualidade tecnológica dos produtos.

Adeleke e Odedeji (2010) concluíram que a adição de farinha proteica de tilápia nas proporções de 5, 10, 15 e 20% em peso com relação à farinha de trigo, além de aumentar o teor proteico dos pães, também não alterou as características sensoriais como o gosto, o aroma, a cor da crosta e do miolo, e nem a aceitação global, quando o produto foi comparado com o padrão.

4. CONCLUSÕES

Comparado ao pão padrão, os pães adicionados de polpa de cobia apresentaram maior firmeza de miolo e menor volume específico. Com relação à cor, não foram observadas diferenças expressivas entre as formulações. A adição de gordura vegetal conferiu um efeito contrário ao da polpa, aumentando a maciez do miolo dos pães.

5. REFERÊNCIAS

- AACC. 10th edition. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN, 2000.
- Adeleke, R. O.; Odedeji, J. O. Acceptability Studies on Bread Fortified with Tilapia Fish Flour. *Pakistan Journal of Nutrition* 9 (6): 531-534, 2010.
- Angioloni, A; Collar, C. Bread crumb quality assessment: a plural physical approach. *Eur Food Res Technol* (2009) 229:21–30. DOI 10.1007/s00217-009-1022-3
- Benetti, D. D.; Orhun, R.; Sardenberg, B.; O’hanion, B.; Welch, A.; Hoening, R.; Zink, I.; Rivera, J. A.; Denlinger, B.; Bacoat, D.; Palmer, K.; Cavalin, F. 2008. Advances in hatchery and grow-out technology of cobia *Rachycentron canadum* (Linnaeus). *Aquaculture Research*, 39: 701-711.
- Box, G.E.P.; Wilson, K.B. On the experimental attainment of optimum condition. *Journal of Royal Statistical Society. Series B* 13, p 1-9, 1951.
- Brasil, Ministerio Da Saúde, Agencia Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, Resolução - RDC nº 263, de 22 de setembro de 2005. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/1ae52c0047457a718702d73fbc4c6735/RDC_263_2005.pdf?MOD=AJPERES. Acesso em 24 setembro 2013.
- Cauvain, S. P.; Young, L. S. Tecnologia da Panificação. Pão: O Produto. 2a. Edição, Ed. Manole, 2009. Barueri/SP.

Centenaro, G. S., Feddern, V., Bonow, E. T., Salas-Mellado, M. Enriquecimento de pão com proteínas de pescado. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 2007, vol.27, n.3, pp. 663-668

Constandache, M. The influence of fortification of bread with exogenous proteins on the protein digestibility. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*. V.13 (2), p. 461-466, 2007.

Esteller, M. S.; Lima, A. C. O. De; Lannes, S. C. da S. Color measurement in hamburger buns with fat and sugar replacers, *LWT - Food Science and Technology*, V. 39, Issue 2, March 2006, Pages 184-187, ISSN 0023-6438

FAO. Food Agriculture and Organization (2010). Fishery Department, Fishery Information, Data and Statistic Unit. Fish Stat Plus version 2.3.2000, Rome, Italy.

Food Ingredients Brasil. Propriedades funcionais das proteínas do peixe. N.8, 2009. p.22-32. Disponível em: <<http://www.revista-fi.com/materias/100.pdf>>. Acesso 29 nov. 2012.

Keiko, I.; Keitato, S.; Kanae, M.; Tomoya, O. Effects of Rice Properties on Bread Made from Cooked Rice and Wheat Flour Blend. *Food Science and Technology Research*, 17 (2), 121–128, 2011.

Kristinsson, H. G. Fish protein hydrolysates: production, biochemical, and functional properties. *CritVer Food SciNutr*. 2000 Jan; 40 (1):43-81.

Liao, I., Juang, T., Tsia, W., Hsueh, C., Chang, S., Leano, E., 2004. Cobia culture in Taiwan: current status and problems. *Aquaculture* 237, 155–165.

Minolta Corp. Precise color communication: color control from feeling to instrumentation. Ramsey: Minolta Corporation Instrument System Division, 1994. 49p.

Oetterer, M.; Reginato-D'arce, M. A. B.; Spoto, M. H. F. Fundamentos de Ciência e Tecnologia de Alimentos. Proteínas do Pescado – Processamentos com Intervenção na Fração Proteica. 2006, Ed. Manole, Cap. 3, Barueri/SP.

Oliveira, R. L. M. Morfometria, rendimento de carcaça e composição do filé do beijupirá (*Rachycentron canadum*) cultivado em tanques-rede em mar aberto no litoral de Pernambuco. Dissertação (Mestrado em Recursos Pesqueiros e Aquicultura) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Pesca e Aquicultura, Recife/PE, 64fl. 2012.

Oliveira, T.M.; Pirozi, M.R.; Borges, J.T.S. Use of flaxseed and wheat composite flour in bread making. *Alim. Nutr.*, Araraquara, v. 18, n. 3, p. 141-150, abr./jun. 2007.

Pallarés, M. G.; León, A. L.; Rosell, C. M. Trigo. In: León, A. E.; Rosell, C. M. De tales harinas, tales panes: Granos, harinas y producción de panificación em Iberoamérica. Córdoba: Hugo Báez Editor, 2007. 480p.

Sgarbieri, V. C. Proteínas em alimentos protéicos: propriedades, degradação, modificação. São Paulo, Ed. Varela, 1996. 517p.

Sidwell, V. D.; Hammerle, O. A. Changes in Physical and Sensory Characteristics of Doughs and of Bread Containing Various Amounts of Fish Protein Concentrate and Lysine. *Cereal Chemistry*, v. 47, p. 739-745, 1970.

Zhou, Q. C.; Tan, B. P.; Mai, K. S.; Liu, Y. J. Apparent digestibility of selected feed ingredients for juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture* 241 (2004) 441–451.

Tabela 1. Ingredientes utilizados na elaboração dos pães.

Ingredientes	Pão com polpa		Pão padrão	
	%	Massa (g)	%	Massa (g)
Farinha de trigo	98 a 88	294 a 264	100	300
Polpa de cobia	2 a 12	6 a 36	-	-
Açúcar (sacarose)	5	15	5	15
Sal (NaCl)	2	6	2	6
Gordura vegetal	0 a 3	0 a 9	2	6
Vitamina C	0,009	0,027	0,009	0,027
Fermento biológico seco	1,5	4,5	3	9
Água	60	180	60	180

Tabela 2. Matriz do planejamento experimental com as variáveis independentes, polpa e gordura vegetal e seus valores codificados.

Ensaio	Valores codificados		Valores reais (%)*	
	Variável A	Variável B	Polpa	Gordura
1	-1	-1	3,45	0,44
2	1	-1	10,55	0,44
3	-1	1	3,45	2,56
4	1	1	10,55	2,56
5	-1,41	0	2	1,5
6	1,41	0	12	1,5
7	0	-1,41	7	0
8	0	1,41	7	3
9	0	0	7	1,5
10	0	0	7	1,5
11	0	0	7	1,5

* Percentuais em relação a quantidade de farinha.

Tabela 3. Análise de cor, volume específico e firmeza dos miolos de pães.

Ensaio	Cor			Vol. Específico (mL/g)	Firmeza (g)
	L	a	b		
F1	73,38 ± 1,10	-4,51 ± 0,15	21,49 ± 0,51	2,72 ± 0,07	1412,21 ± 93,57
F2	70,63 ± 1,23	-4,11 ± 0,12	21,83 ± 0,44	2,28 ± 0,05	1973,02 ± 116,56
F3	71,64 ± 0,79	-4,59 ± 0,15	20,87 ± 0,53	3,09 ± 0,05	925,98 ± 98,96
F4	68,26 ± 1,34	-4,31 ± 0,14	22,09 ± 0,48	2,37 ± 0,02	1919,79 ± 52,75
F5	72,12 ± 1,38	-4,68 ± 0,17	20,18 ± 0,69	3,05 ± 0,05	796,31 ± 47,60
F6	69,02 ± 1,19	-4,30 ± 0,21	21,98 ± 0,40	2,07 ± 0,01	2020,70 ± 89,95
F7	72,45 ± 0,78	-4,20 ± 0,10	21,49 ± 0,51	2,31 ± 0,02	1941,79 ± 101,48
F8	70,50 ± 1,01	-4,56 ± 0,11	22,09 ± 0,42	2,39 ± 0,05	1411,13 ± 120,59
MFPC	70,86 ± 1,02	-4,44 ± 0,10	21,89 ± 0,29	2,51 ± 0,03	1546,17 ± 71,52
FP	70,98 ± 1,44	-0,5 ± 0,15	14,1 ± 1,31	4,50 ± 0,14	426,62 ± 26,26

MFPC = média das formulações dos pontos centrais. FP = formulação padrão.

AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE E DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE GOIABA MINIMAMENTE PROCESSADA ADICIONADA DE *Lactobacillus Acidophilus*

Marcela Zonta Rodrigues¹; Aline Inacio Alves²; Eliane Maurício Furtado Martins³; Maurílio Lopes Martins³; Edimar Aparecida Filomeno Fontes⁴; Afonso Mota Ramos⁴

¹Doutoranda em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Viçosa, Brasil (marcela_vrb@yahoo.com.br).

²Mestranda em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Viçosa, Brasil.

³Professor do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais, Campus Rio Pomba, Brasil.

⁴Professores do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa, Brasil.

1.INTRODUÇÃO

Micro-organismos probióticos são definidos como ingredientes alimentares microbianos vivos que apresentam efeito benéfico sobre a saúde humana (FAO/WHO, 2002). O principal segmento da indústria de alimentos probióticos é a de produtos lácteos. Entretanto, a demanda de produtos probióticos não lácteos vem aumentando devido ao vegetarianismo, elevado conteúdo de colesterol presente no leite integral, intolerância à lactose e outros fatores relacionados com o consumo de produtos lácteos (BETORET et al., 2012). Com isso, os probióticos foram incorporados em bebidas e suplementos sob a forma de comprimidos, cápsulas e preparações liofilizadas. Além disso, observa-se o desenvolvimento de produtos probióticos a partir de matrizes de alimentos diversos, incluindo as frutas e produtos hortícolas (MARTINS et al., 2013).

Os avanços tecnológicos tem tornado possível alterar algumas características estruturais das matrizes alimentícias por meio da adição, de maneira controlada, de diversos componentes. A impregnação a vácuo é adequada para a introdução de componentes presentes numa fase líquida (solução, suspensão ou emulsão) em uma estrutura porosa de uma matriz sólida (BETORET et al., 2003) e consiste na imersão da matriz alimentar numa solução líquida e, em seguida, na aplicação da pressão de vácuo por um determinado período para garantir que o ar retido no material poroso seja removido. Posteriormente, a pressão atmosférica é restabelecida e a solução externa penetra nos espaços intercelulares do produto por ação capilar e pelo gradiente de pressão que são impostos ao sistema, auxiliando a incorporação de diversos compostos na estrutura do material poroso (FITO et al., 2001).

Diante do exposto objetivou desenvolver um alimento probiótico a partir de goiaba utilizando a técnica de impregnação a vácuo e avaliar suas características microbiológicas e físico-químicas.

2.MATERIAL E MÉTODOS

2.1.Cultura probiótica e Matéria-Prima

Utilizou-se estirpe de *Lactobacillus acidophilus* (SACCO Brasil).

As goiabas da variedade ‘Paluma’ foram adquiridas no comércio local de Viçosa, Minas Gerais, no estágio de maturação 2, que corresponde à fase de início de mudança de cor da casca de verde-escura para verde-clara. As frutas foram lavadas em água potável a 5 °C e, posteriormente, sanitizadas em solução clorada (Sumaveg®) a 200 mg·L⁻¹ de cloro ativo por um período de 15 minutos a 5 °C e, então fatiadas em rodela de, aproximadamente, 1 cm com o auxílio de facas de aço inoxidável.

2.2.Líquido de impregnação

O líquido de impregnação consistiu numa solução tampão estéril de citrato:ácido cítrico (1:1), pH 3,8 (solução controle) e na adição da cultura probiótica (*Lactobacillus acidophilus*) liofilizada na solução tampão (suspensão probiótica) de forma a obter no final uma concentração de 10¹⁰ células por mililitro (Röbke et al., 2010).

2.3.Impregnação a vácuo

As goiabas minimamente processadas foram imersas na solução controle e na suspensão probiótica contendo *L. acidophilus*, em seguida foram submetidas a uma pressão de vácuo de 500 mmHg por 30 minutos, e, posteriormente, a pressão atmosférica foi reestabelecida por 15 minutos (BETORET et al., 2003). Após este tratamento, as goiabas minimamente processadas foram embaladas em bandejas de tereftalato de polietileno (PET) com tampa do mesmo material e armazenadas a 7 °C em diferentes tempos de estocagem (0 a 10 dias) para acompanhamento da vida de prateleira.

2.4.Viabilidade dos micro-organismos probióticos

A viabilidade de *L. acidophilus* foi estabelecida após 0, 2, 4, 6, 8 e 10 dias de processamento mínimo da goiaba armazenada em temperatura de 7 °C por meio da contagem de lactobacilos em ágar LS Rogosa (Himedia) após a incubação em jarras de anaerobiose a 37 °C por 72 h.

2.5. Análise de microscopia eletrônica de varredura

As goiabas foram avaliadas por análise por microscopia eletrônica de varredura a fim de verificar a adesão, distribuição e morfologia dos micro-organismos no tecido vegetal após 0, 5 e 10 dias de armazenamento a 7 °C. Os cortes de goiaba foram transferidos para o secador ao ponto crítico (Critical Point Dryer – modelo CPD020, Balzers, Liechstenstein) para a desidratação total e, então metalizados em metalizador (modelo FDU 010, Bal-Tec, Balzers, Liechstenstein) para posterior observação ao microscópio eletrônico de varredura (modelo LEO 1430 VP Zeiss, Cambridge, Inglaterra) e registro das imagens.

2.6. Determinação das características físicas e químicas de goiaba minimamente processada impregnada a vácuo ao longo do período de armazenamento

As propriedades físicas e químicas foram avaliadas nos tempos 0, 3, 6, 8 e 10 dias nos tratamentos controle e adicionados de micro-organismo probiótico.

A cor superficial das amostras foram avaliadas utilizando-se o equipamento Color Reader CR-10 (Minolta). A determinação de cor foi realizada pela leitura direta das coordenadas L*, a*, b* empregando a escala CIELAB L*. Também foi avaliado o índice de cor (IC), o índice de escurecimento (IE), a intensidade de cor ou Chroma (c*) e o ângulo hue (h°)

A determinação do teor de sólidos solúveis totais (SST) foi realizada diretamente em refratômetro de bancada modelo ABBÉ, em temperatura de 25 °C, sendo os resultados expresso em °Brix, de acordo com a AOAC (2000). Para a determinação do pH das amostras, foi pesado, aproximadamente, 10 g da fruta triturada e esta foi diluída em 100 mL de água destilada. Em seguida foi agitado e analisada utilizando potenciômetro (Tecnonon), conforme a AOAC (2000). Já a acidez total titulável (ATT) foi determinada através da maceração de 10 g de polpa de goiaba diluídas em 100 mL de água destilada, sendo posteriormente adicionado ao homogenato 3 gotas de indicador fenolftaleína. Em seguida, procedeu-se a titulação com uma solução padronizada de NaOH 0,1 mol·L⁻¹ (AOAC, 2000) e esta etapa foi acompanhada com pHmetro até o ponto de viragem da fenolftaleína (pH 8,3). A acidez total titulável foi calculada em relação % (m/m) de ácido cítrico.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Viabilidade de *Lactobacillus acidophilus* ao longo do período de armazenamento

Verificou-se que a viabilidade de *L. acidophilus* nas goiabas minimamente processadas apresentou valor médio de 8,47 Log UFC·g⁻¹ durante 10 dias de armazenamento

a 7 °C, sendo o produto considerado probiótico por conter acima de 7,00 Log UFC·g⁻¹. Segundo Bernardeau et al., 2008, para que seja observado o efeito benéfico em humanos, a população de bactérias probióticas viáveis deve variar de 10⁶ a 10¹⁰ UFC·mL⁻¹ ou g⁻¹. Dessa forma, a goiaba minimamente processada probiótica obtida oferece ao consumidor quantidade suficiente de bactérias para promover benefícios ao organismo hospedeiro.

Resultados semelhantes foram encontrados por Puente; Betoret; Cortés (2009) que obtiveram contagens de *Lactobacillus rhamnosus* em torno de 9,0 Log UFC·g⁻¹ em fatias de maçã impregnadas a vácuo, numa pressão de 37,5 mmHg, durante 60 dias armazenamento a 4 °C. Betoret et al. (2003) estudaram a adição de *L. casei* spp. *rhamnosus* e verificaram a contagem da cultura probiótica de 5,65 Log UFC·g⁻¹ após 6 dias de armazenamento a 8 °C.

3.2. Análise de microscopia eletrônica de varredura

As micrografias indicaram que as células de *L. acidophilus* estavam aderidas ao tecido vegetal da goiaba. Isto implica que o tamanho dos espaços intercelulares do tecido de goiaba era grande o suficiente para permitir a difusão das células destas culturas probióticas. Verificou-se também que com o decorrer do período de armazenamento as culturas probióticas avaliadas tiveram a capacidade de formar aglomerados (Figura 1).

Marín; Cortés; Montoya (2010) e Puente; Betoret; Cortés (2009) também verificaram a adesão de *L. plantarum* em *Physalis peruviana* e *L. rhamnosus* em maçã, respectivamente.

3.3. Determinação das características físicas e químicas

3.3.1. Avaliação da cor das goiabas minimamente processadas

A partir da determinação da cor das goiabas minimamente processadas do tratamento controle e adicionada de *L. acidophilus* foi constatada diferença significativa (p<0,05) para os parâmetros L*, a*, b*, IE, c* e não houve diferença significativa (p>0,05) para IC e h° (Tabela 1).

Na avaliação dos parâmetros de cor objetiva durante a vida de prateleira, constatou-se que o período de armazenamento apresentou influência significativa (p<0,05) sobre o parâmetro L* dos tratamentos, controle e contendo *L. acidophilus*, observando-se um decréscimo na luminosidade das amostras (Figura 2), ou seja, ao longo do tempo houve escurecimento das fatias de goiaba destes tratamentos.

3.3.2. Determinação de sólidos solúveis totais, pH e acidez total titulável

Verificou-se que a goiaba minimamente processada do tratamento controle e adicionada de *L. acidophilus* não apresentaram diferença significativa (p>0,05) para o teor de sólidos solúveis totais, pH e acidez total titulável. Martins (2012) também não verificou

alteração destas características em saladas de frutas minimamente processada inoculadas com diferentes culturas probióticas (*L. rhamnosus*, *L. plantarum* e *L. acidophilus*) armazenadas a 8 °C por 6 dias.

O tempo de armazenamento influenciou significativamente ($p < 0,05$) o pH e a acidez total titulável das goiabas minimamente processadas (Figura 3). O aumento da acidez total titulável e a redução do pH durante o armazenamento, pode ocorrer devido ao baixo metabolismo respiratório, que gera o acúmulo de ácidos nos vacúolos à medida que os teores de sólidos solúveis totais aumentam (ALVES et al., 2010).

4. CONCLUSÕES

A impregnação a vácuo é uma técnica eficiente para introdução de *Lactobacillus acidophilus* na estrutura vegetal de goiaba.

A goiaba é uma matriz promissora para veicular a cultura probiótica havendo uma excelente adesão e distribuição dos micro-organismos, provavelmente devido à estrutura interna de seus tecidos.

A estirpe probiótica utilizada manteve-se estável durante o armazenamento por 10 dias a 7 °C. Este fato significa que o produto obtido mantém um número de micro-organismos probióticos viáveis durante todo o período de armazenamento e pode ser considerado como alimento funcional.

A adição da cultura probiótica não altera as características físicas e químicas da goiaba minimamente processada.

5. BIBLIOGRAFIA

Alves, J.A.; Nassur, R. De C.M.R.; Pires, C.R.F.; Alcântara, E.M.De; Giannoni, J.A.; Lima, L.C. de O. Cinética de degradação de vitamina C em mangas “Palmer” minimamente processadas armazenadas em diferentes temperaturas. *Ciência Agrotécnica*, Lavras, v. 34, n. 3, p. 714-721, 2010.

Association Of Official Analytical Chemists – AOAC. *Official Methods of Analysis of the AOAC*. 16. ed. Washington, DC, 2000.

Bernardeau, M.; Vernoux, J.P.; Kenri-Dubernet, S.; Guéguen, M. Safety assessment of dairy microorganisms: The *Lactobacillus* genus. *International Journal of Food Microbiology*, v. 126, p. 278-285, 2008.

Betoret, E.; Betoret, N.; Arilla, A.; Bennár, M.; Barrera, C.; Codoñer, P.; Fito, P. No invasive methodology to produce a probiotic low humid apple snack with potential effect against *Helicobacter pylori*. *Journal of Food Engineering*, v. 110, p. 289–293, 2012.

Betoret, N.; Puente, L.; Díaz, M.J.; Pagán, M.J.; García, M.J.; Gras, M.L. Development of probiotic enriched dried fruits by vacuum impregnation. *Journal of Food Engineering*, v. 56, p. 273–277, 2003.

FAO/WHO, 2002. Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization. Working Group Report.

Fito, P.; Chiralt, A.; Betoret, N.; Gras, M.; Cháfer, M.; Martínez-Monzó, J.; Andrés, A.; Vidal, D. Vacuum impregnation and osmotic dehydration in matrix engineering. Application in functional fresh food development. *Journal of Food Engineering*, v. 49, p. 175–183, 2001.

Marín, Z. T. A.; Cortés, M. R.; Montoya, O. I. C. Uchuva (*Physalis peruviana* L.) ecotipo Colombia, mínimamente processada com la cepa nativa *Lactobacillus plantarum* LPBM10 mediante la técnica de impregnación a vacío. *Rev Chil Nutr*, v. 37, n. 4, 2010.

Puente, L. D.; Betoret, N. V.; Cortés, M. R. Evolution of probiotic content and color of apples impregnated with lactic acid bacteria. *Revista de la Facultad de Química Farmacéutica*, v. 16, n. 3, p. 297-303, 2009.

Rößle, C.; Auty, M.A.E.; Brunton, N.; Gormley, R.T.; Butler, F. Evaluation of fresh-cut apple slices enriched with probiotic bacteria. *Innovative Food Science&Emerging*, v. 11, p. 203-209, 2010.

Tabela 1 - Valores médios dos parâmetros de cor de goiaba dos diferentes tratamentos submetidos a impregnação a vácuo e estocada por 10 dias a 7 °C

Tratamentos	L*	a*	b*	IC	IE	c*	h°
Controle	38.34 ^a	24,71 ^a	26,72 ^a	24,56 ^a	153,53 ^a	36,48 ^a	47,13 ^a
<i>L. acidophilus</i>	37.77 ^a	22,95 ^a	23,59 ^a	26,20 ^a	135,70 ^a	32,97 ^a	45,80 ^a

Médias seguidas de letras iguais na coluna para cada parâmetro de cor diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

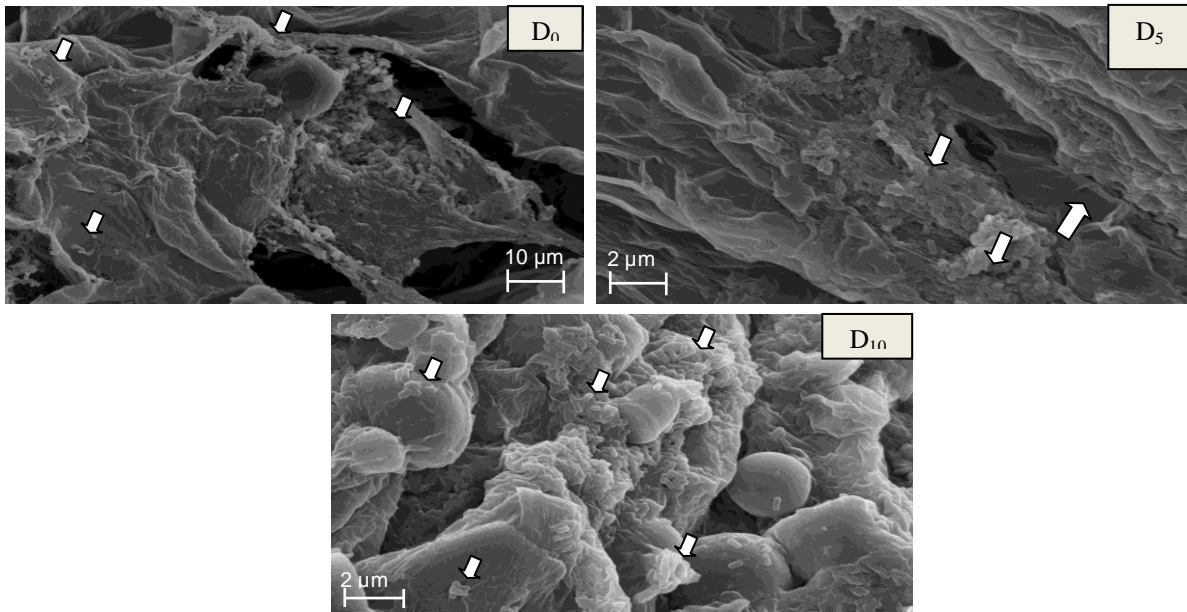


Figura 1 – Microscopia eletrônica de varredura da adesão de *L. acidophilus* em goiaba minimamente processada, impregnada a vácuo nos tempos 0, 5 e 10 dias de armazenamento (aumento: dia 0 – 3500; dia 5 e 10 – 6000). As setas indicam os locais onde as culturas probióticas estão aderidas.

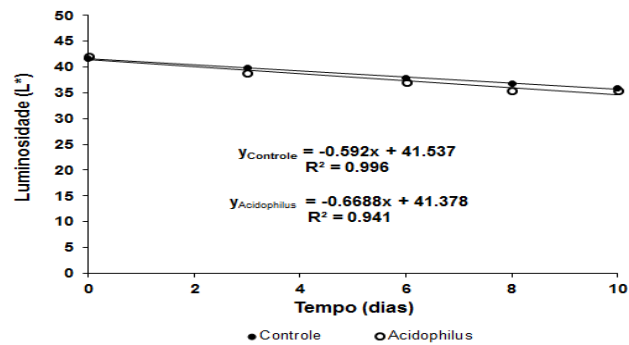


Figura 2 - Variação do parâmetro de cor Luminosidade (L^*) de goiaba minimamente processada controle e adicionados de *L. acidophilus* ao longo do período de armazenamento.

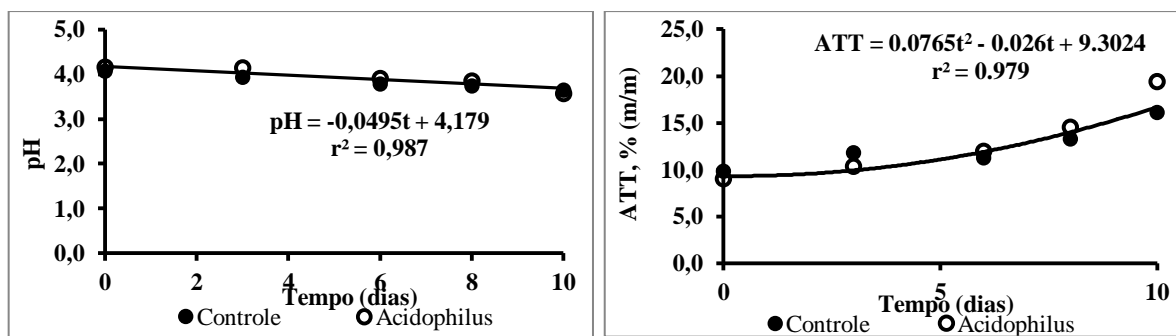


Figura 3 - Variação do pH (a) e da acidez total titulável (b) de góiaaba minimamente processada submetida a impregnação a vácuo, controle e adicionadas de *L. acidophilus*, por 10 dias a 7 °C

VIABILIDADE DE CULTURAS PROBIÓTICAS EM GOIABA MINIMAMENTE PROCESSADA IMPREGNADA A VÁCUO

Marcela Zonta Rodrigues¹; Aline Inacio Alves²; Maurílio Lopes Martins³; Edimar Aparecida Filomeno Fontes⁴; Eliane Maurício Furtado Martins³; Afonso Mota Ramos⁴

¹Doutoranda em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Viçosa, Brasil (marcela_vrb@yahoo.com.br).

²Mestranda em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Viçosa, Brasil.

³Professor do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais, Campus Rio Pomba, Brasil.

⁴Professores do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa, Brasil.

1.INTRODUÇÃO

Atualmente, existe um grande interesse dos consumidores por uma alimentação saudável, que favoreça o bem estar e auxilie na prevenção de doenças. Para atender a esta demanda, a indústria de alimentos busca cada vez mais o desenvolvimento de produtos alimentícios inovadores, tais como os alimentos funcionais, sem deixar de lado a preocupação com as características sensoriais do produto. Entre os seguimentos de alimentos funcionais destacam-se os alimentos adicionados de probióticos.

Os produtos lácteos são os principais carreadores de probióticos disponíveis no mercado mundial, entretanto a intolerância à lactose e o aumento do número de pessoas vegetarianas são motivos para a redução do consumo desses alimentos por determinada parcela da população (BETORET et al., 2012). Como uma alternativa surge a proposta da produção de alimentos como os vegetais minimamente processados probióticos.

A adição de compostos ativos nas estruturas porosas dos alimentos pode ser realizada através de um processo simples de difusão, mas como esse mecanismo de transporte de massa é lento a impregnação a vácuo veio como uma alternativa para acelerar esse processo. A técnica de impregnação a vácuo é um método no qual o ar e o exsudado dos alimentos são removidos do espaço poroso de um dado material e substituída por uma solução externa (LAURINDO et al., 2007), que possui os compostos fisiologicamente ativos.

Portanto, o presente trabalho objetivou adicionar *Lactobacillus acidophilus* ou *Lactobacillus plantarum* por impregnação a vácuo em goiaba minimamente processada a fim de produzir um alimento probiótico de origem vegetal.

2.MATERIAL E MÉTODOS

2.1.Cultura

Foram utilizadas estirpes de *Lactobacillus acidophilus* (SACCO Brasil) e *Lactobacillus plantarum* (Chr. Hansen).

2.2.Líquido de impregnação

O líquido de impregnação consistiu numa solução tampão estéril decitrato:ácido cítrico (1:1), pH 3,8 (solução controle) e na adição da cultura probiótica (*Lactobacillus acidophilus* ou *Lactobacillus plantarum*) liofilizada na solução tampão (suspensões probióticas) para obter no final uma concentração de 10^{10} células por mililitro (Röbke et al., 2010).

2.3.Matéria-Prima

Foram adquiridas no comércio local de Viçosa, Minas Gerais, aproximadamente 20 Kg de goiaba da variedade ‘Paluma’ no estágio de maturação 2, que corresponde à fase de início de mudança de cor da casca de verde-escura para verde-clara. As frutas foram lavadas em água potável a 5 °C e, posteriormente, sanitizadas em solução clorada (Sumaveg®) a 200 mg·L⁻¹ de cloro ativo por um período de 15 minutos a 5 °C. Após a sanitização, as frutas foram enxaguadas em solução clorada a 20 mg·L⁻¹ por 5 minutos e, então fatiadas em rodela de, aproximadamente, 1 cm com o auxílio de facas de aço inoxidável.

2.4.Determinação do tempo de impregnação a vácuo

As goiabas minimamente processadas foram imersas na suspensão probiótica contendo *Lactobacillus plantarum*, onde para cada grama do produto foi utilizado 1 mL da suspensão de células preparada previamente. Essa suspensão, com as frutas imersas, foi submetida a uma pressão de vácuo de 500 mmHg (leitura direta em vacuômetro) por 5min, 10min, 15 min, 20 min e 30 min, e, em seguida, a pressão atmosférica foi restabelecida durante 15 minutos (BETORET et al., 2010).

A fim de estabelecer o tempo que seria utilizado na etapa de pressão de vácuo foi determinada a viabilidade dos lactobacilos nas goiabas minimamente processadas impregnadas.

2.5.Impregnação a vácuo

Após estabelecer o tempo de vácuo ideal as goiabas minimamente processadas foram imersas separadamente na solução controle e nas suspensões probiótica contendo *L. acidophilus* ou *L. plantarum*, em seguida foram submetidas a uma pressão de vácuo de

500 mmHg pelo período de tempo definido anteriormente, e, seguida, a pressão atmosférica foi restabelecida por 15 minutos (BETORET et al., 2010). Após este tratamento, as goiabas minimamente processadas foram embaladas em bandejas de tereftalato de polietileno (PET) com tampa do mesmo material e armazenadas a 7 °C em diferentes tempos de estocagem (0 a 10 dias) para acompanhamento da vida de prateleira.

2.6. Viabilidade dos micro-organismos probióticos

A viabilidade de *L. acidophilus* e *L. plantarum* foi estabelecida após 0, 2, 4, 6, 8 e 10 dias de processamento mínimo da goiaba armazenada em temperatura de 7 °C por meio da contagem de lactobacilos em ágar LS Rogosa (Himedia) após a incubação em jarras de anaerobiose a 37 °C por 72 h (RICHTER e VEDAMUTHU, 2001).

2.7. Contagem total em placas de micro-organismos mesófilos e psicotróficos

A contagem de micro-organismos aeróbios mesófilos foi realizada segundo Vanderzant e Splittstoesser (2001) utilizando plaqueamento em profundidade e Ágar Padrão para Contagem (PCA). As placas foram incubadas a 37 °C por 48 horas. A contagem de micro-organismos psicotróficos foi determinada segundo Cousin; Jay e Vasavada (2001) utilizando-se Ágar Padrão para Contagem (PCA) e incubação a 7 °C por 10 dias.

Todas as análises microbiológicas foram realizadas em duplicata e foram analisadas após 0, 5 e 10 dias de armazenamento das amostras a 7 °C, a fim de avaliar as condições do produto durante a sua vida de prateleira.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Determinação do tempo de impregnação a vácuo

O tempo de impregnação afetou significativamente ($p < 0,05$) a concentração de *L. plantarum* no tecido vegetal de goiaba minimamente processada (Figura 1). Isso pode ter sido causado pela estrutura celular rígida que ofereceu resistência para a entrada da solução de impregnação na estrutura do tecido vegetal da fruta. Desta forma, o aumento do tempo de impregnação possibilitou uma maior retirada do ar presente no tecido vegetal e, conseqüentemente, aumentou os espaços para a entrada da suspensão contendo a bactéria probiótica.

Esses dados corroboram com os relatados por Krasaekoopt e Suthanwong (2008), que avaliaram a incorporação de *Lactobacillus casei* 01 em goiaba por impregnação a vácuo a

37,5 mmHg. Estes autores verificaram que com o aumento do tempo da aplicação da pressão de vácuo houve um aumento da incorporação do líquido de impregnação para a goiaba.

Constatou-se que a impregnação a vácuo utilizando pressões de vácuo de 500 mmHg foram efetivas para adicionar micro-organismos probióticos no tecido vegetal de goiaba, sendo estabelecido um tempo ideal para o período de vácuo de 30 minutos, uma vez que após a aplicação deste período de vácuo foi encontrada a maior concentração (8,8 Log UFC·g⁻¹) de *L. plantarum*.

3.2. Viabilidade de *Lactobacillus acidophilus* e *Lactobacillus plantarum* ao longo do período de armazenamento

Verificou-se que a viabilidade dos micro-organismos probióticos nas goiabas minimamente processadas apresentaram valor médio de 8,64 Log UFC·g⁻¹ durante 10 dias de armazenamento a 7 °C (Tabela 1), sendo o produto considerado probiótico por conter acima de 7,00 Log UFC·g⁻¹ (BERNARDEAU et al., 2008). A sobrevivência das bactérias probióticas no produto alimentício é fundamental, sendo necessário alcançar populações suficientemente elevadas para ser de importância fisiológica ao consumidor (SAAD, 2006). Dessa forma, a goiaba minimamente processada probiótica obtida oferece ao consumidor quantidade suficiente de bactérias para promover benefícios ao organismo hospedeiro.

Resultados semelhantes foram encontrados por Marín; Cortés; Montoya (2010) que constataram contagem em torno de 9,0 Log UFC·g⁻¹ de *L. plantarum* adicionados por impregnação a vácuo 150 mmHg em *Physalis peruviana*, após 15 dias de armazenamento a 4 °C. Krasaekoopt e Suthanwong (2008) avaliaram a adição por impregnação a vácuo a 37,5 mmHg de *L. casei*01 em goiaba e mamão e constataram que os conteúdos de todos os tratamentos apresentaram uma contagem acima de 8,0 Log UFC·g⁻¹.

No presente estudo, constatou-se que o tempo não apresentou influência significativa (p>0,05) sobre a viabilidade das culturas probióticas e que não houve interação entre o tempo e os micro-organismos probióticos (p>0,05) apresentando valor médio de 8,47 Log UFC·g⁻¹ de *L. acidophilus* e 8,74 Log UFC·g⁻¹ de *L. plantarum*. Como não houve interação significativa entre as culturas probióticas utilizadas e o tempo de armazenamento constata-se que os micro-organismos incorporados nas goiabas minimamente processadas por impregnação a vácuo apresentaram o mesmo comportamento durante a estocagem por 10 dias de armazenamento a 7 °C.

3.3. Contagem de micro-organismos aeróbios mesófilos e psicrotróficos

A qualidade e a segurança dos produtos minimamente processados dependem da adoção das boas práticas agrícolas e das boas práticas de fabricação durante todas as etapas de processamento, sobretudo das condições higiênicas dos manipuladores e da temperatura de estocagem (MARTINS, 2012).

Na Tabela 2, está apresentada a contagem microbiológica das goiabas minimamente processadas do tratamento controle e adicionadas de culturas probióticas em relação aos micro-organismos deterioradores, aeróbios mesófilos e psicrotróficos. Verificou-se que as goiabas minimamente processadas adicionadas de *L. acidophilus* e *L. plantarum* apresentaram contagem de micro-organismos mesófilos e psicrotróficos menores ($p < 0,05$) que o tratamento controle.

Ao longo do tempo, constatou-se aumento dos micro-organismos aeróbios mesófilos e psicrotróficos em todos os tratamentos. Entretanto, este aumento ocorreu de forma mais acentuada ($p < 0,05$) nas goiabas minimamente processadas do tratamento controle. Assim, as goiabas contendo as culturas probióticas apresentaram contagens de micro-organismos mesófilos e psicrotróficos inferiores em relação às goiabas do tratamento controle após 10 dias de armazenamento a 7 °C (Figura 2).

De acordo com Moretti (2007), as bactérias do ácido láctico apresentam a capacidade de reduzir significativamente o número de bactérias mesofílicas durante o armazenamento sob refrigeração, além de produzir substâncias antimicrobianas. Essa redução do número de micro-organismos deterioradores do tratamento com culturas probióticas em relação ao tratamento controle se deve a biopreservação, uma vez que estas culturas probióticas produzem ácidos que promovem a redução do pH do meio, criando condições desfavoráveis ao crescimento de micro-organismos deterioradores, além de produzirem peptídeos antimicrobianos que podem inibir ou inativar o desenvolvimento de bactérias indesejáveis em alimentos (MARTINS, 2012).

5. CONCLUSÕES

A técnica de impregnação a vácuo demonstrou ser eficiente na introdução de *Lactobacillus acidophilus* e *Lactobacillus plantarum* na estrutura vegetal de goiaba e o tempo de pressão de vácuo afetou a quantidade de micro-organismos aderidos ao tecido vegetal da goiaba.

As goiabas minimamente processadas contendo *L. acidophilus* e *L. plantarum* podem ser consideradas veículos de bactérias probióticas por até 10 dias de armazenamento a 7 °C. Além disso, esse alimento pode ser consumido por indivíduos vegetarianos, intolerantes a lactose, com alergia as proteínas do leite e que possuem restrição de colesterol na dieta.

6. BIBLIOGRAFIA

- Bernardeau, M.; Vernoux, J.P.; Kenri-Dubernet, S.; Guéguen, M. Safety assessment of dairy microorganisms: The *Lactobacillus* genus. *International Journal of Food Microbiology*, v. 126, p. 278-285, 2008.
- Betoret, E.; Betoret, N.; Arilla, A.; Bennár, M.; Barrera, C.; Codoñer, P.; Fito, P. No invasive methodology to produce a probiotic low humid apple snack with potential effect against *Helicobacter pylori*. *Journal of Food Engineering*, v. 110, p. 289–293, 2012.
- Betoret, E.; Torres, M.; Morales, L.; Betoret, N.; Barrera, C. Application of Different Dehydration Techniques in the Stabilization of a Functional Food with Probiotic Effect. In: *International Conference on Food Innovation*, Universidad Politecnica de Valencia, 2010.
- Cousin, M. A.; Jay, J. M.; Vasavada, P. C. Psychrotrophic microorganisms. Downes, F.P; Ito, K. (Ed.). In: *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. 4.ed. Washington: American Public Health Association – APHA, p. 159-166, 2001.
- Krasaekoopt, W.; Suthanwong, B. Vacuum Impregnation of Probiotics in Fruit Pieces and Their Survival During Refrigerated Storage. *Natural Science*, v. 42, p. 723 – 731, 2008.
- Laurindo, J.; Stringari, G.; Paes, S.; Carciofi, B. Experimental determination of the dynamics of vacuum impregnation of apples. *Journal of Food Science*, v. 72, p. 470–475, 2007.
- Marín, Z. T. A.; Cortés, M. R.; Montoya, O. I. C. Uchuva (*Physalis peruviana* L.) ecotipo Colombia, mínimamente processada com a cepa nativa *Lactobacillus plantarum* LPBM10 mediante la técnica de impregnación a vacío. *Rev Chil Nutr*, v. 37, n. 4, 2010.
- Martins, E. M. F.; Viabilidade do uso de salada de frutas minimamente processada como veículo de micro-organismos probióticos. 2012. 100 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa. 2012.
- Moretti, C. L. *Manual de Processamento Mínimo de Frutas e Hortaliças*. Brasília: Embrapa Hortaliças e Sebrae, 2007. 531p.
- Richter, R.L.; Vedamuthu, E.R. Milk and milk products. In: Downes, F.P; Ito, K. (Ed.). *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. 4.ed. Washington: American Public Health Association - APHA, p. 483-495, 2001.
- Rößle, C.; Auty, M.A.E.; Brunton, N.; Gormley, R.T.; Butler, F. Evaluation of fresh-cut apple slices enriched with probiotic bacteria. *Innovative Food Science & Emerging*, v. 11, p. 203-209, 2010.
- Saad, S.M.I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 42, jan./mar., 2006.
- Vanderzant, C.; Splittstoesser, D. F. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. American Public Health Association. 3 ed. Washington, 2001. 1087 p.

Tabela1 - Valores da contagem (Log UFC·g⁻¹) de bactérias probióticas em goiaba minimamente processada submetida a impregnação a vácuo

Micro-organismos Probióticos	Média da Viabilidade
<i>L. acidophilus</i>	8,47 ^a
<i>L. plantarum</i>	8,74 ^a

Médias seguidas de letras iguais na coluna não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Tabela 2 - Valores médios da contagem de mesófilos e psicotróficos na estocagem de goiaba probiótica submetida a impregnação a vácuo

Tratamento	Mesófilos, UFC g ⁻¹	Psicotróficos, UFC g ⁻¹
Controle	7,90 ^a	7,11 ^a
<i>L. acidophilus</i>	5,10 ^b	5,11 ^b
<i>L. plantarum</i>	4,95 ^b	4,90 ^b

Médias (n=9) seguidas de letras iguais na coluna não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

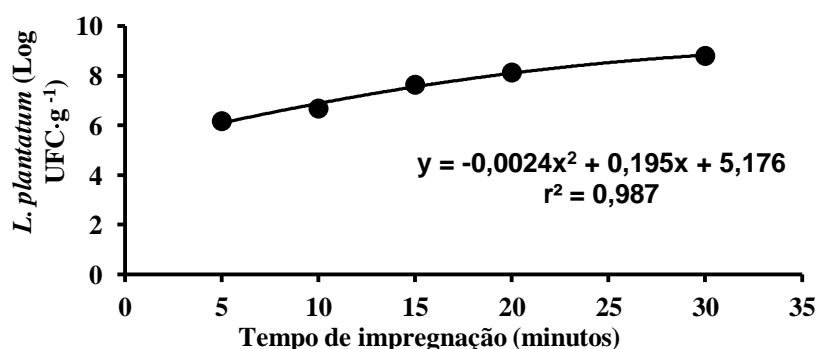


Figura 1 – Variação da contagem de *L. plantarum* em goiaba minimamente processada submetida a diferentes tempos de impregnação a vácuo.

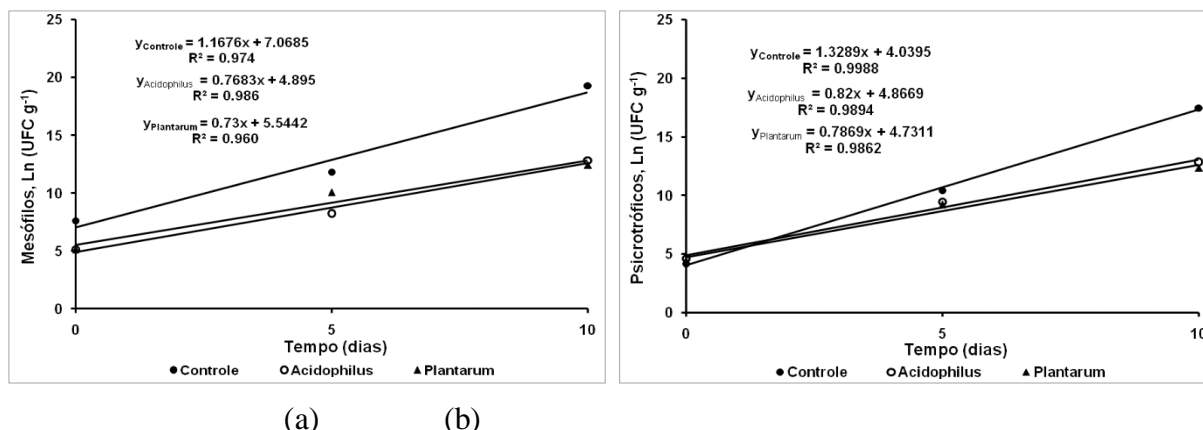


Figura 2 - Variação da contagem de micro-organismos aeróbios mesófilos (a) e psicotróficos (b) de goiaba minimamente processada submetida a impregnação a vácuo tratamento controle, adicionado de *L. acidophilus* ou de *L. plantarum* ao longo do período de armazenamento.

EFFECTO DE TENSOACTIVOS SOBRE LAS PROPIEDADES ESTRUCTURALES Y DE BARRERA DE PELÍCULAS A BASE DE ALMIDÓN

Rodrigo Ortega-Toro*, Alberto Jiménez Marco, Pau Talens Oliag, Amparo Chiralt Boix

Instituto de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo, Departamento de Tecnología de Alimentos, Universitat Politècnica de València, Camino de Vera s/n, 46022 Valencia, Spain

*Corresponding author: Tel.: (+34) 96 387 70 00 ext. 79386; Postal address: Camino de Vera s/n, 46022, Valencia-Spain. E-mail address: rodorto@etsiamn.upv.es

INTRODUCCIÓN

Las necesidades de la industria, el uso integral de los recursos naturales y la disminución de las reservas de hidrocarburos han generado interés en el desarrollo de alternativas a los polímeros sintéticos derivados del petróleo. Buena parte de sus estudios se encaminan al desarrollo de materiales biodegradables que reemplacen, al menos parcialmente, a los plásticos convencionales. Entre las alternativas se destaca el almidón por ser un recurso renovable, tener gran disponibilidad y bajo costo, pudiendo ser además procesado sin dificultad usando métodos convencionales (Shah *et al.*, 1995).

El almidón es uno de los materiales más prometedores para la elaboración de plásticos biodegradables (Ma *et al.*, 2009) aunque presenta deficiencias causadas en gran medida por retrogradación con el tiempo lo que impide su uso práctico en la industria. Sin embargo sus propiedades pueden ser modificadas adicionando pequeñas cantidades de componentes químicos (García *et al.*, 2000; Ma *et al.*, 2009).

Algunos estudios han concluido que los tensoactivos podrían mejorar la estabilidad y la capacidad humectante de las dispersiones formadoras de películas (Ghebremeskel *et al.*, 2007; Chen *et al.*, 2009), las propiedades térmicas de las películas, disminuir la retrogradación (Jovanovich y Añón, 1999) y mejorar la barrera al vapor de agua (Villalobos *et al.*, 2006).

El objetivo del presente trabajo es evaluar el efecto de la adición de tensoactivos sobre la micro- y nano-estructura y propiedades de barrera de películas a base de almidón de maíz para su posterior aplicación en el envasado de alimentos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

El almidón fue suministrado por Roquette (Roquette Laisa España, Benifaió, Spain). El glicerol, utilizado como plastificante, y los tensoactivos (sorbitan-monopalmitato (Span 40), sorbitan-monoestearato (Span 60) y sorbitan-monooleato (Span 80)) fueron suministrados por Panreac (Panreac Química, S.A., Castellar del Vallés, Barcelona).

Preparación de las películas

Las dispersiones se obtuvieron con una proporción almidón:glicerol:tensoactivo de 1:0.25:0.15. La gelatinización del almidón (1% w/w en agua destilada) se realizó en un baño termostático durante 30 min a una temperatura de 95 °C. El glicerol y los tensoactivos fueron adicionados y la dispersión fue homogenizada a 13.500 rpm durante 1 minuto seguido de 3 minutos a 20.500 rpm usando un equipo Ultraturrax T25 (Janke & Kunkel, Germany) ensamblado con un sistema de vacío para evitar la formación de espuma. La formulación de la dispersión control incluía únicamente almidón-glicerol.

Las películas se prepararon mediante la técnica de casting pesando una cantidad de dispersión tal que contuviera 1 g de sólidos totales. Las dispersiones se vertieron sobre placas de teflón de 15 cm de diámetro situadas sobre una superficie nivelada. Las películas se formaron aproximadamente en 48 h a 20°C y 45% HR. Una vez secas, las películas se separaron de las placas y se acondicionaron a 25°C y 53% HR durante 1 semana para las determinaciones iniciales (tiempo inicial), y durante 5 semanas para las determinaciones de envejecimiento del material (tiempo final). Las películas sin tensoactivo (control) se corresponden con la denominación (F-C). Las películas que contenían Span 40, Span 60 y Span 80 se denominaron F-S40, F-S60 y F-S80 respectivamente.

Caracterización de las películas

Propiedades micro-estructurales

Se realizó mediante un microscopio electrónico de barrido JEOL JSM-5410 (Japón). Las muestras se acondicionaron una semana con P₂O₅ (Panreac Química, S.A.). A continuación se cortaron fragmentos de película de 4 x 4 mm y se montaron en portas de cobre mediante cinta adhesiva de doble cara. Las muestras se recubrieron con oro y se observaron usando un voltaje de aceleración de 10 kV.

Propiedades nano-estructurales

Los difractogramas de rayos-X se obtuvieron usando un difractómetro de rayos-X (XRD, Bruker AXS/D8 Advance). Las muestras envejecidas (acondicionadas 5 semanas a

25°C y 53% HR) fueron analizadas entre 2θ : 5° y 50°, usando radiación $K\alpha$ Cu (λ : 1.542 Å), 40 kV y 40 mA con un tamaño de paso de 0.05°.

La morfología superficial de las películas envejecidas fue analizada usando un microscopio de fuerza atómica (Multimode 8, Bruker AXS, Santa Barbara, USA) con un controlador electrónico NanoScope® V. Las medidas fueron tomadas en áreas de 50 μm^2 usando Tapping mode. De acuerdo el método ASME B46.1 (ASME, 1995) se determinaron los parámetros estadísticos relacionados con la rugosidad. Se consideraron 3 replicas para obtener esos parámetros.

Propiedades de barrera al oxígeno (OP) y al vapor de agua (WVP)

Para determinar la permeabilidad al oxígeno de las películas se utilizó un equipo Ox-Tran 1/50 (Mocon, Minneapolis, USA) a una temperatura de 25 °C y una humedad relativa del 53 %. Se consideró el método estándar D3985-95 (ASTM, 2002) para realizar las mediciones, realizándose al menos 3 medidas por formulación.

Las propiedades barrera al vapor de agua de las películas se determinó mediante una modificación del método gravimétrico E96-95 (ASTM, 1995) (McHugh *et al.*, 1993) para un gradiente de humedad relativa 53/100 % y una temperatura de 25 °C. Se emplearon copas de permeabilidad Payne (Elcometer SPRL, Hermelle/s Argenteau, Belgium) de 3.5 cm de diámetro. En el interior de las copas de permeabilidad se añadieron 5 mL de agua destilada. Las copas fueron introducidas en un desecador equilibrado con una disolución saturada de nitrato magnésico (humedad relativa del 53 % a 25 °C) y éste, a su vez, en una cámara a una temperatura controlada de 25 °C. El estudio de la permeabilidad se realizó mediante controles de peso de cada copa con una balanza electrónica (± 0.00001 g) (ME36S Sartorius, Alemania) a intervalos de 2 h durante un periodo de tiempo de 24 h, siguiendo la metodología descrita por Fabra *et al.* (2008).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Propiedades micro- y nano estructurales

En la Figura 1 se muestran las micrografías transversales de las películas estudiadas. En la formulación control puede observarse una sección transversal homogénea y compacta. La adición de tensoactivos dio lugar a películas también bastante homogéneas pero con una sección transversal más rugosa producto de una rotura menos limpia. Esto revela la falta de cohesión de la matriz donde parece observarse una estructura laminar con menos fuerza de unión entre las cadenas de polímero. En las películas con sorbitan-monooleato (F-S80) puede

observarse micro-gotas de Span 80 en la sección transversal, lo cual sugiere la falta de integración total del lípido en la matriz, formando una fase dispersa de gotas consecuencia de su estado físico a temperatura ambiente. La incorporación de tensoactivos a la matriz podría interferir en la interacción y entrecruzamiento de las cadenas poliméricas de almidón dando como resultado secciones transversales menos homogéneas que el control, tal como describen Chen *et al.* (2009) en su trabajo sobre incorporación de ésteres de sacarosa a una matriz a base de almidón de yuca.

En la Tabla 1 se observan los ángulos e intensidad de los picos cristalinos obtenidos mediante rayos-X y los parámetros de rugosidad obtenidos mediante AFM de las películas estudiadas. Puede observarse que la adición de tensoactivos provoca la aparición de picos a 2θ : 7.5 y 13° aproximadamente, relacionándose con la formación de complejos entre la amilosa y ácidos grasos de cadena larga (Lesmes *et al.*, 2009; Wokadala *et al.*, 2012). Los resultados indican que en la estructura de las películas tensoactivo-almidón, los complejos de amilosa tipo-V se forman con las moléculas de tensoactivos dando lugar a agregados cristalinos, donde el exceso de lípido no está cristalizado. Estos agregados cristalinos interrumpen la matriz produciendo discontinuidades y moléculas de tensoactivos libres. En el caso de F-S40 se observa la menor intensidad de picos, sugiriendo que las formas cristalinas tipo-V son de menor tamaño, pudiendo provocar un efecto positivo sobre las propiedades de las películas.

En cuanto a los parámetros de rugosidad, no se observaron diferencias significativas en la rugosidad de las películas, excepto para F-S40 donde los valores obtenidos fueron mayores.

Propiedades de barrera

En la Figura 2 se muestran los valores de OP y WVP obtenidos para las películas a una temperatura de 25 °C y una humedad relativa de 53%, a tiempo inicial y final. Puede observarse que la adición de tensoactivos incrementa de forma significativa ($p < 0.05$) la permeabilidad al oxígeno, como suele ocurrir cuando se adicionan componentes hidrofóbicos, ya que este tipo de sustancias son más permeables a los gases por su mayor afinidad química (Park *et al.*, 1996; Miller y Krochta, 1997). La permeabilidad al oxígeno no varió con el tiempo de almacenamiento, salvo en el caso del F-C, donde disminuye significativamente ($p < 0.05$), lo que podría explicarse por el incremento en la cristalinidad de la película, de acuerdo con trabajos previos (Donhowe y Fennema, 1993).

En cuanto a la permeabilidad al vapor de agua a tiempo inicial, la adición de Span 40 redujo de forma significativa ($p < 0.05$) WVP en comparación con el control, a diferencia del Span 80 que la aumentó. El incremento en la eficiencia de la barrera al vapor de agua a partir de la adición de tensoactivos se ha observado en otros estudios en diferentes matrices de hidrocoloides y con diferentes tensoactivos como en almidón de tapioca con esteres de sacarosa (Chen *et al.*, 2009), en hidroxipropil metilcelulosa con Span 60 y esteres de sacarosa (Villalobos *et al.*, 2006; Villalobos-Carvajal *et al.*, 2009). Este incremento de barrera al vapor de agua puede asociarse a la interrupción de la matriz amilácea por el lípido y a la reducción de su nivel de hidratación, lo que incrementa la tortuosidad de la matriz al paso de las moléculas de agua (Chen *et al.*, 2009) a la vez que la fase lipídica sólida supone una fuerte barrera dado su carácter hidrofóbico y su estado sólido con una movilidad molecular muy reducida. Respecto al efecto del tiempo de almacenamiento se puede observar que no hay diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las películas almacenadas 1 y 5 semanas excepto para F-S80 que presenta un incremento significativo ($p < 0.05$) de este parámetro. Este fenómeno podría explicarse por la migración progresiva de las micro-gotas de Span 80 a la superficie de la película dejando en la matriz menos zonas hidrofóbicas que frenen la transferencia de agua.

CONCLUSIONES

La incorporación de span 40, 60 o 80 afecta la micro- y nano-estructura y la morfología superficial de las películas de almidón-glicerol. Cuando la temperatura de fusión del tensoactivo fue mayor (span 60) no se observó el cremado de los tensoactivos en la superficie de las películas. Igualmente, el tamaño de los complejos cristalinos de amilosa tipo-V fueron menores para los tensoactivos con mayor valor de HLB y ácidos grasos saturados (span 40). Esto contribuyó al descenso de WVP respecto a las películas sin tensoactivos. Los valores de OP no presentaron cambios notables durante el tiempo de almacenamiento cuando se adicionó tensoactivos. En este sentido, los resultados obtenidos permiten recomendar que los compuestos con ácidos grasos saturados con mayor punto de fusión aseguran una micro-estructura más fina favoreciendo la eficiencia de barrera al vapor de agua.

BIBLIOGRAFÍA.

ASME. (1995). Surface texture: Surface roughness, waviness and lay. Standard Designation: ASME B46.1. New York, USA: An American National Standard.

- ASTM. (1995). Standard test methods for water vapor transmission of materials. Standards Designations: E96-95. In Annual book of ASTM standards. Philadelphia, PA: American Society for Testing and Materials., 406–413.
- ASTM. (2002). Standard test method for oxygen gas transmission rate through plastic film and sheeting using a coulometric sensor (D 3985-95). In Annual book of ASTM standards. Philadelphia, PA: American Society for Testing and Materials., pp. 472–477.
- Chen, C.H., Kuo, W.S., & Lai, L.S. (2009). Effect of surfactants on water barrier and physical properties of tapioca starch/decolorized hsian-tso leaf gum films. *Food Hydrocolloids*, 23, 714–721.
- Donhowe, LG. & Fennema, O. (1993). The effects of solutton composition and drying temperature on crystallinity, permeability and mechalcal properties of methylcellulose films. *Journal of Food Processing and Preservation.*, 17 (4), 231-246.
- Fabra, M.J., Talens, P., & Chiralt, A. (2008). Tensile properties and water vapour permeability of sodium caseinate films containing oleic acid-beeswax mixtures. *Journal of Food Engineering*, 85, 393-400.
- García M., Martino, M., & Zaritzky, N. (2000). Lipid addition to improve barrier properties of edible starch-based films and coatings. *Food Chemistry and Toxicology*, 65 (6), 941-946.
- Ghebremeskel, A. N., Vemavarapu, C., & Lodaya, M. (2007). Use of surfactants as plasticizers in preparing solid dispersions of poorly soluble API: Selection of polymer–surfactant combinations using solubility parameters and testing the processability. *International Journal of Pharmaceutics*, 328, 119–129.
- Jovanovich, G., & Añón, M. (1999). Amylose–lipid complex dissociation. A study of the kinetic parameters. *Biopolymers*, 49 (1), 81–89.
- Lesmes, U., Cohen, S. H., Shener, Y., & Shimoni, E. (2009). Effects of long chain fatty acid unsaturation on the structure and controlled release properties of amylose complexes. *Food Hydrocolloids*, 23, 667–675.
- Ma, X., Chang, P., Yu, J., & Stumborg, M. (2009). Properties of biodegradable citric acid-modified granular starch/thermoplastic pea starch composites, *Carbohydrate Polymers.*, 75 (1), 1–8.
- McHugh, T. H., Avena-Bustillos, R., & Krochta, J. M. (1993). Hydrophobic edible films: Modified procedure for water vapour permeability and explanation of thickness effects. *Journal of Food Science*, 58(4), 899–903.
- Miller, K.S., & Krochta, J.M. (1997). Oxygen and aroma barrier properties of edible films: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 81, 228-237.
- Park, J.W., Testin, RF., Vergano, P.J., Park, H.J., & Weller, CL. (1996). Fatty acid distriburion and its effect on oxygen permeability in laminated edible films. *Journal of Food Science*, 61 (2), 401-406.
- Shah, P., Bandopadhyay, S., & Bellare, J. (1995). Environmentally degradable starch filled low density polyethylene. *Polymer Degradation and Stability*, 47 (2), 165–173.
- Villalobos, R., Hernández-Muñoz, P., & Chiralt, A. (2006). Effect of surfactants on water sorption and barrier properties of hydroxypropyl methylcellulose films. *Food Hydrocolloids*, 20, 502–509.

Villalobos-Carvajal, R., Hernández-Muñoz, P., Albors, A., & Chiralt, A. (2009). Barrier and optical properties of edible hydroxypropyl methylcellulose coatings containing surfactants applied to fresh cut carrot slices. *Food Hydrocolloids*, 23, 526–535.

Wokadala, O. C., Ray, S. S. & Emmambux, M. N. (2012). Occurrence of amylose–lipid complexes in teff and maize starch biphasic pastes. *Carbohydrate Polymers*, 90, 616– 622.

Tabla 1. Ángulos (grados 2 θ) e intensidad (cps \cdot 10 $^{-2}$) de los picos cristalinos y parámetros de rugosidad de las películas a base de almidón de maíz con y sin tensoactivos.

Formulación	Intensidad (cps \cdot 10 $^{-2}$)						Rugosidad superficial		
	7.5°	13°	14.8°	17°	20°	22°	r (%)	Ra (nm)	Rq (nm)
F-C			31	43	37	29	3.6 (0.2) ^b	571 (176) ^b	775 (194) ^b
F-S40		16			21		2.1 (0.7) ^a	322 (58) ^a	394 (70) ^a
F-S60	25	42		33	48	35	3.1 (0.9) ^{ab}	390 (11) ^a	488 (20) ^c
F-S80	25	31			53		2.0 (0.5) ^a	271 (18) ^a	363 (20) ^a

Diferentes letras superíndices dentro de la misma columna indican diferencias significativas entre formulaciones ($p < 0.05$).

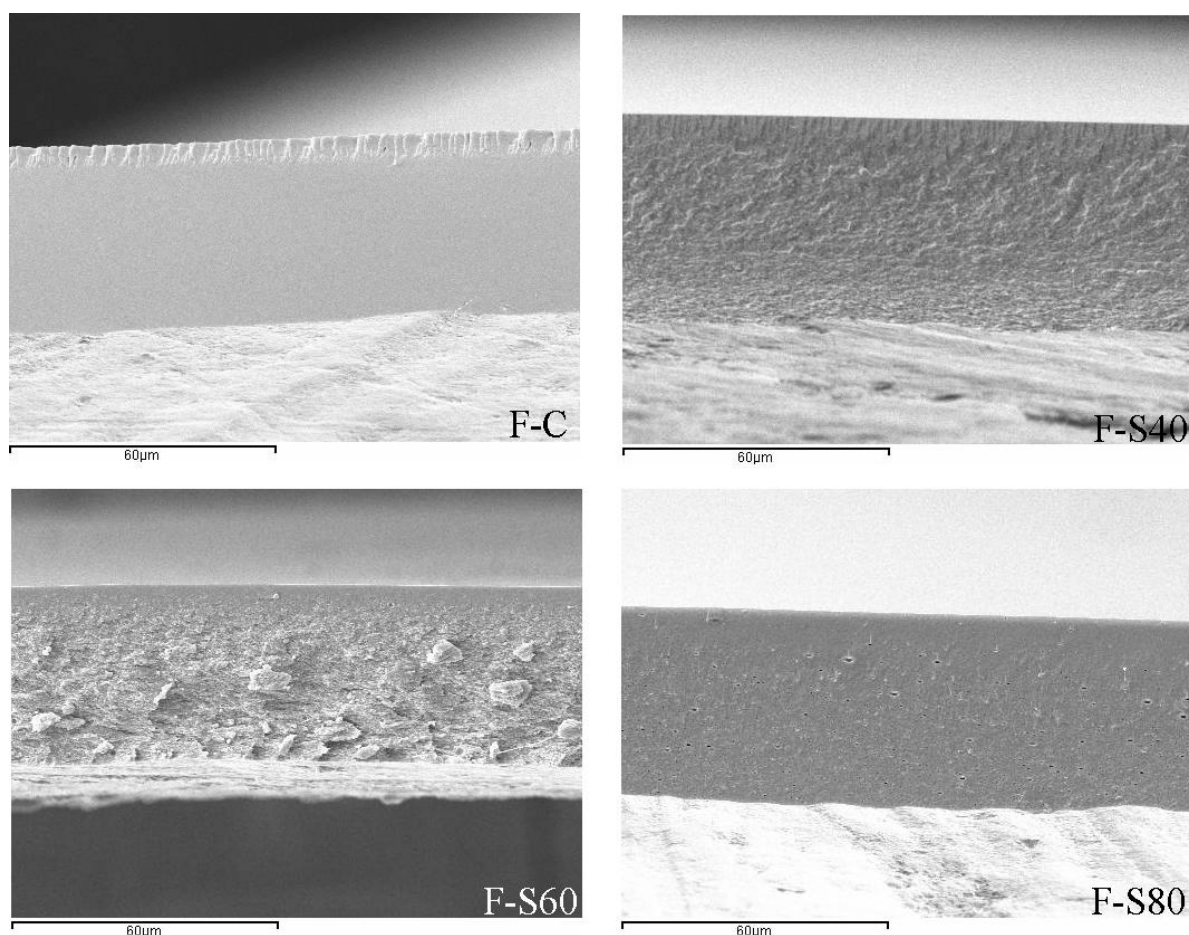
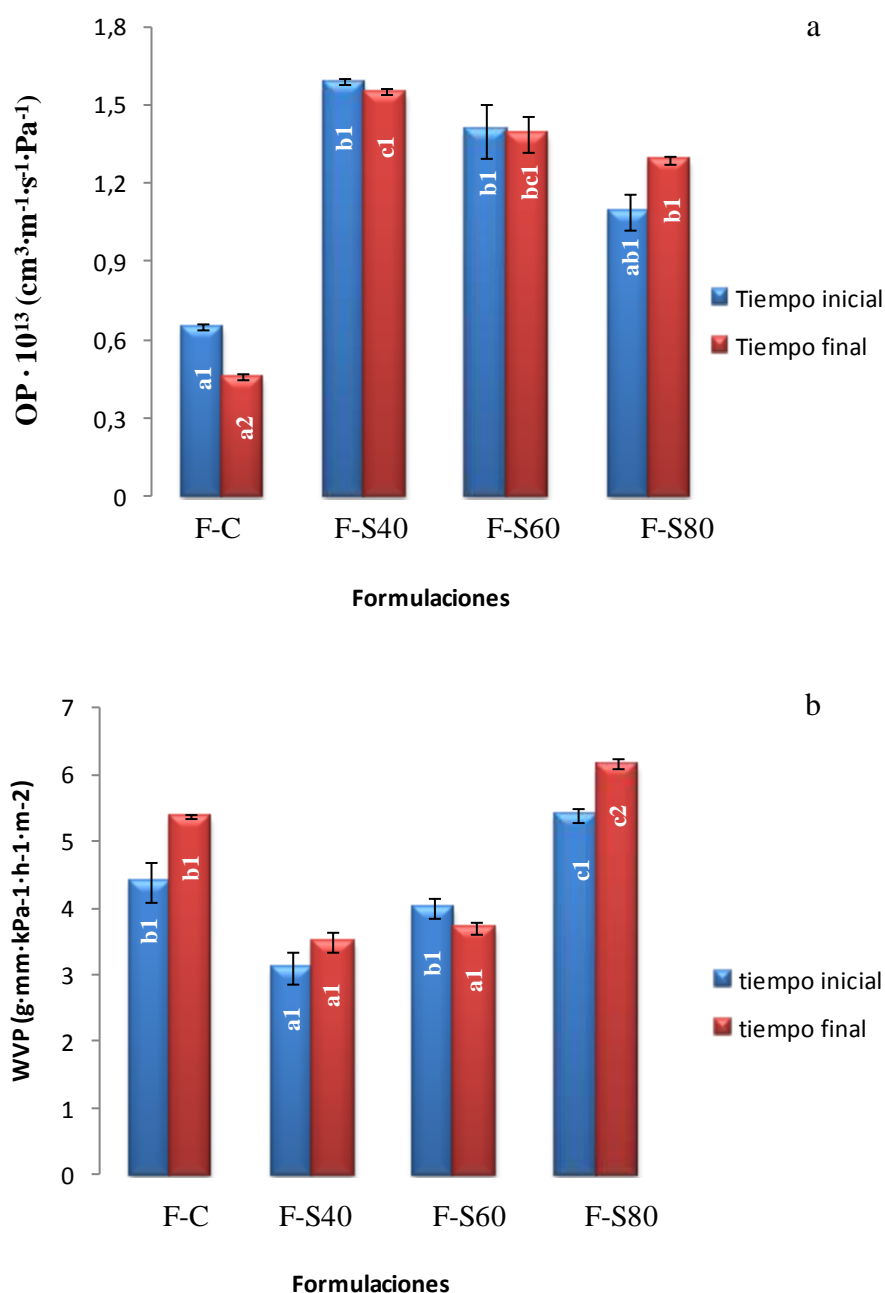


Figura 1. Micrografías Electrónicas de Barrido transversales de las películas a base de almidón de maíz con y sin tensoactivos acondicionadas a 25°C y 53% HR durante 1 semana.



Diferentes letras dentro de barras del mismo color indican diferencias significativas entre formulaciones ($p < 0.05$).

Diferentes números dentro de la pareja de barras de la misma formulación indican diferencias significativas entre los tiempos de almacenamiento ($p < 0.05$).

Figura 2. Permeabilidad al oxígeno (a) y permeabilidad al vapor de agua (b) de las películas de almidón con y sin tensoactivos. Desviación estándar.

PELÍCULAS A BASE DE ALMIDÓN E HIDROXIPROPIL-METIL-CELULOSA. INFLUENCIA DEL ÁCIDO CÍTRICO COMO AGENTE DE ENTRECruzAMIENTO.

Rodrigo Ortega-Toro*, Pau Talens Oliag, Amparo Chiralt Boix

Instituto de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo, Departamento de Tecnología de Alimentos, Universitat Politècnica de València, Camino de Vera s/n, 46022 Valencia, Spain.

* Corresponding author: Tel.: (+34) 96 387 70 00 ext. 79386; Postal address: Camino de Vera s/n, 46022, Valencia-Spain. E-mail address: rodorto@etsiamn.upv.es

INTRODUCCIÓN

Las diversas restricciones al uso de materiales plásticos sintéticos en actividades cotidianas como el envasado de alimentos ha despertado el interés en el desarrollo de materiales alternativos provenientes de fuentes renovables y con propiedades adecuadas para su uso práctico. En este sentido el desarrollo de materiales biodegradables a base de almidón es una buena alternativa. Sin embargo su uso industrial está limitado por algunas deficiencias en sus propiedades físicas, entre las que se destaca la retrogradación con el tiempo, la cristalización y baja permeabilidad al vapor de agua. Para contrarrestar estas deficiencias se ha estudiado la combinación del almidón con diversas sustancias (Bertuzzi, *et al.*, 2007; Chillo *et al.*, 2008; Kuorwel *et al.*, 2011; Tang *et al.*, 2008; Jiménez *et al.*, 2012), siendo los polímeros amorfos las sustancias que podrían ser las más adecuadas para su combinación.

Jiménez *et al.* (2012) estudiaron el efecto de la combinación de hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) y almidón de maíz mediante la técnica de casting, encontrando que su combinación inhibía la recristalización de las películas en un periodo de 5 semanas, sin embargo las propiedades de barrera (al vapor de agua y al oxígeno) empeoraron y se apreciaba separación de fases en la micro-estructura. La baja capacidad de combinación de estos polímeros podría contrarrestarse con la adición de una sustancia que promueva la esterificación de los iones hidroxilo del almidón como el ácido cítrico, que ha sido ampliamente estudiado en la compatibilización de polímeros no afines con el almidón por promover las reacciones de esterificación en la interfase entre las cadenas poliméricas mejorando su afinidad (Olivato *et al.*, 2012).

En este trabajo se ha estudiado el efecto del ácido cítrico en las propiedades micro- y nano-estructurales y propiedades ópticas de películas a base de almidón de maíz y HPMC mediante la técnica de moldeo por compresión, caracterizando las películas obtenidas a diferentes tiempos de almacenamiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Para la elaboración de las películas biodegradables se utilizó almidón de maíz (Roquette S.A, Laisa, España), glicerol (Panreac Química S.A., Castellar del Vallés, Barcelona), hidroxipropil-metil-celulosa (Aldrich Chemistry, Sigma-Aldrich Co. LLC Madrid, España) y ácido cítrico como agente de entrecruzamiento (Fisher Scientific Afora, Valencia, España).

Preparación de las formulaciones

Se prepararon seis formulaciones empleando glicerol a un ratio de 1: 0.3 polímero: glicerol. El HPMC fue solvatado (5% p/p) en agua fría usando agitación continua. La dispersión de HPMC y el almidón nativo se mezcló en diferentes proporciones para obtener 1: 0.1 y 1: 0.2 almidón: HPMC. Posteriormente, el ácido cítrico (CA) fue mezclado obteniendo cuatro formulaciones con y sin CA, la proporción almidón: CA fue 1: 0.01. Las abreviaciones usadas para las formulaciones fueron S: almidón-glicerol; S-CA: almidón-glicerol-CA; S-H₁₀: almidón-glicerol-HPMC(10%); S-H₁₀-CA: almidón-glicerol-HPMC(10%)-CA; S-H₂₀: almidón-glicerol-HPMC(20%); S-H₂₀-CA: almidón-glicerol-HPMC(20%)-CA.

Obtención de las películas

Las mezclas fueron homogeneizadas en una mezcladora de sobremesa de doble rodillo (LRM-M-100, Labtech Engineering, Tailandia) a 160 °C y 8 rpm durante 30 minutos, obteniendo una pasta rígida de aspecto homogéneo. La pasta se acondicionó a 25 °C y 53% HR durante 48h para el mejoramiento de su procesabilidad en el moldeo. Una vez acondicionadas, se pesaron 4g de pasta y se comprimió mediante una prensa hidráulica de sobremesa (LP20-B, Labtech Engineering, Tailandia). La pasta fue precalentada en la unidad de calentamiento durante 5 min. El moldeo compresión fue llevado a cabo a 160°C y 25 bares durante 2 min seguido de 160°C y 130 bares durante 5 min, el ciclo de enfriamiento se programó a 3 minutos para todas las muestras.

Caracterización de las películas

Propiedades micro- y nano-estructurales

El análisis micro-estructural de las películas se llevó a cabo usando un microscopio electrónico de barrido (JEOL JSM-5410, Japón). Las muestras se acondicionaron durante 1 y 5 semanas a 25°C y 53% HR. Posteriormente, las muestras se mantuvieron en desecadores usando P₂O₅ (Panreac Química, SA, Castellar del Vallés, Barcelona) como agente desecante.

Las películas secas fueron crio-fracturadas con nitrógeno líquido, recubiertas con oro y observadas transversalmente usando un voltaje de 10 kV.

La nano-estructura de las películas secas fue estudiada mediante un microscopio de fuerza atómica (Multimode 8, Bruker AXS, Santa Barbara, USA) provisto de un controlador electrónico NanoScope® V. Las medidas fueron tomadas en áreas de ($20 \mu\text{m}^2$) usando el modo PeakForce QNM obteniendo imágenes de alta resolución en 3D y medidas mecánicas cuantitativas como el módulo de elasticidad, adhesión, energía de disipación y deformación.

Propiedades ópticas

Las propiedades ópticas fueron determinadas para las películas acondicionadas durante 1 y 5 semanas a 25 °C y 53% HR. El brillo se midió sobre la superficie libre de las películas durante el secado a un ángulo de incidencia de 60° de acuerdo al método estándar D523 (ASTM, 1999) usando un brillómetro de superficie (Multi.Gloss 268, Minolta, Alemania). Las medidas se realizaron por triplicado. Los resultados se expresan como unidades de brillo en relación a una superficie pulida de cristal negro estándar que tiene un valor de brillo de 100 Unidades de Brillo.

La transmitancia interna (Ti) de las películas se determinó a partir de los espectros de reflexión (400-700 nm) medidos sobre fondo blanco y fondo negro, usando un espectrocolorímetro MINOLTA, modelo CM-3600d (Minolta Co., Tokio, Japón). La teoría de Kubelka-Munk de dispersión múltiple se aplicó para obtener la transmitancia interna de las películas, que se correlaciona con la transparencia de las mismas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Propiedades estructurales

En la Figura 1 se muestran algunas micrografías de sección transversal de las películas estudiadas acondicionadas a 25°C y 53% HR durante 1 semana (ti) y 5 semanas (tf). De forma general se observa que la incorporación de ácido cítrico a las películas de almidón, da lugar a una matriz más homogénea. La acidez del ácido cítrico promueve la rotura y disolución de los gránulos de almidón y junto al glicerol provocan la disrupción de los puentes de hidrógeno inter-moleculares dando mayor plasticidad al almidón bajo condiciones de cizalla y temperatura (Jiugao *et al.*, 2005) contribuyendo a que la matriz presente una apariencia más homogénea y menos frágil. En las formulaciones con HPMC se observa como este polímero se encuentra disperso en la fase continua de almidón interrumpiendo la continuidad de la matriz polimérica. Este efecto se hace más evidente cuando se trabaja con

las concentraciones más altas de HPMC. No es posible apreciar diferencias concretas entre las matrices con y sin ácido cítrico en las formulaciones que contienen HPMC. Al observar la formulación control a mayores aumentos (Figura 2) es posible apreciar el efecto del envejecimiento sobre la matriz polimérica, que provoca el reordenamiento molecular de las cadenas de almidón termoplástico en estructuras casi cilíndricas a lo largo de toda la sección transversal.

En la Figura 3 se muestra las imágenes de Microscopía de Fuerza Atómica en 3D obtenidas en modo PeakForce QNM de las películas estudiadas acondicionadas a 25°C y 53% HR durante 1 semana. De forma general no hay diferencias notables en las superficies, aunque aparentemente las formulaciones que contienen ácido cítrico presentan menor cantidad de accidentes topográficos con superficies de apariencia más suaves. En la muestra S-CA aparecen algunos picos pequeños orientados de forma vertical que pudieran ser pequeños cristales de ácido cítrico no ligado. Cuando se adiciona HPMC a la matriz de almidón-glicerol se observa también un incremento aparente de cambios topográficos provocados por la interrupción de la matriz termoplástica siendo coherentes con las observaciones de Microscopía Electrónica de Barrido.

Propiedades ópticas

En la Figura 4 se observa el brillo para un ángulo de incidencia de 60° y la transmitancia interna a una longitud de onda de 450nm para las películas acondicionadas durante 1 y 5 semanas a 25 °C y 53% de HR. Los valores de brillo muestran una ligera tendencia a disminuir con la presencia de ácido cítrico y HPMC. El brillo se relaciona directamente con la rugosidad superficial del material dependiente a su vez tanto de la formulación empleada como del proceso de moldeo por compresión. Por su parte la Ti presenta un aumento significativo ($p < 0.05$) con la adición de ácido cítrico dando mayor transparencia a las películas. Este efecto se relaciona con un aumento en el índice de refracción del material y con la disminución de la compacidad de la película causada posiblemente por una hidrólisis ácida parcial de las cadenas de almidón. Por el contrario, al adicionar HPMC disminuye la transparencia ya que la presencia de una fase dispersa en el material hace que aumente la dispersión de la luz, siendo menos transparente a medida que aumenta el contenido de fase dispersa.

CONCLUSIONES

La incorporación de hidroxipropilmetilcelulosa y ácido cítrico a la matriz de almidón termoplástico provocó cambios en las propiedades micro- y nano-estructurales y en las propiedades ópticas. Al adicionar HPMC se incrementó la fase dispersa del material disminuyendo la transparencia de las películas, y dando lugar a una mayor cantidad de cambios topográficos en las micrografías de fuerza atómica y a una pequeña disminución del brillo. El análisis de micro-estructura por medio de Microscopía Electrónica de Barrido pone de manifiesto que la adición de ácido cítrico disminuye drásticamente el efecto del tiempo sobre la micro-estructura de la matriz de almidón-glicerol conservando su estructura durante el tiempo de almacenamiento. Por su parte, la transparencia de las películas aumenta en todos los casos al adicionar ácido cítrico al disminuir la compactidad del material.

BIBLIOGRAFÍA

- ASTM. (1999). Standard test method for specular gloss. Standard designation: D523. In ASTM, annual book of ASTM, 06.01. Philadelphia: ASTM.
- Bertuzzi, M. A., Armada, M., & Gottifredi, J. C. (2007). Physicochemical characterization of starch based films. *Journal of Food Engineering*, 82 (1), 17–25.
- Chillo, S., Flores, S., Mastromatteo, M., Conte, A., Gerschenson, L., & Del Nobile, M. A. (2008). Influence of glycerol and chitosan on tapioca starch-based edible film properties. *Journal of Food Engineering*, 88 (2), 159–168.
- Jiménez, A., Fabra, M. J., Talens, P., & Chiralt, A. (2012). Influence of hydroxypropylmethylcellulose addition and homogenization conditions on properties and ageing of corn starch based films. *Carbohydrate Polymers*, 89, 676–686.
- Jiugao, Y., Ning, W. & Xiaofei, M. (2005) The effects of citric acid on the properties of thermoplastic starch plasticized by glycerol. *Starch/Stärke*, 57 (10), 494-504.
- Olivato, J.B., Grossmann, M.V.E., Yamashita, F., Eiras, D., & Pessan, L.A. (2012). Citric acid and maleic anhydride as compatibilizers in starch/poly(butylene adipate-co-terephthalate) blends by one-step reactive extrusion. *Carbohydrate Polymers*, 87, 2614–2618.
- Tang, X., Alavi, S., & Herald, T. J. (2008). Barrier and mechanical properties of starch clay nanocomposite films. *Cereal Chemistry*, 85(3), 433–439.

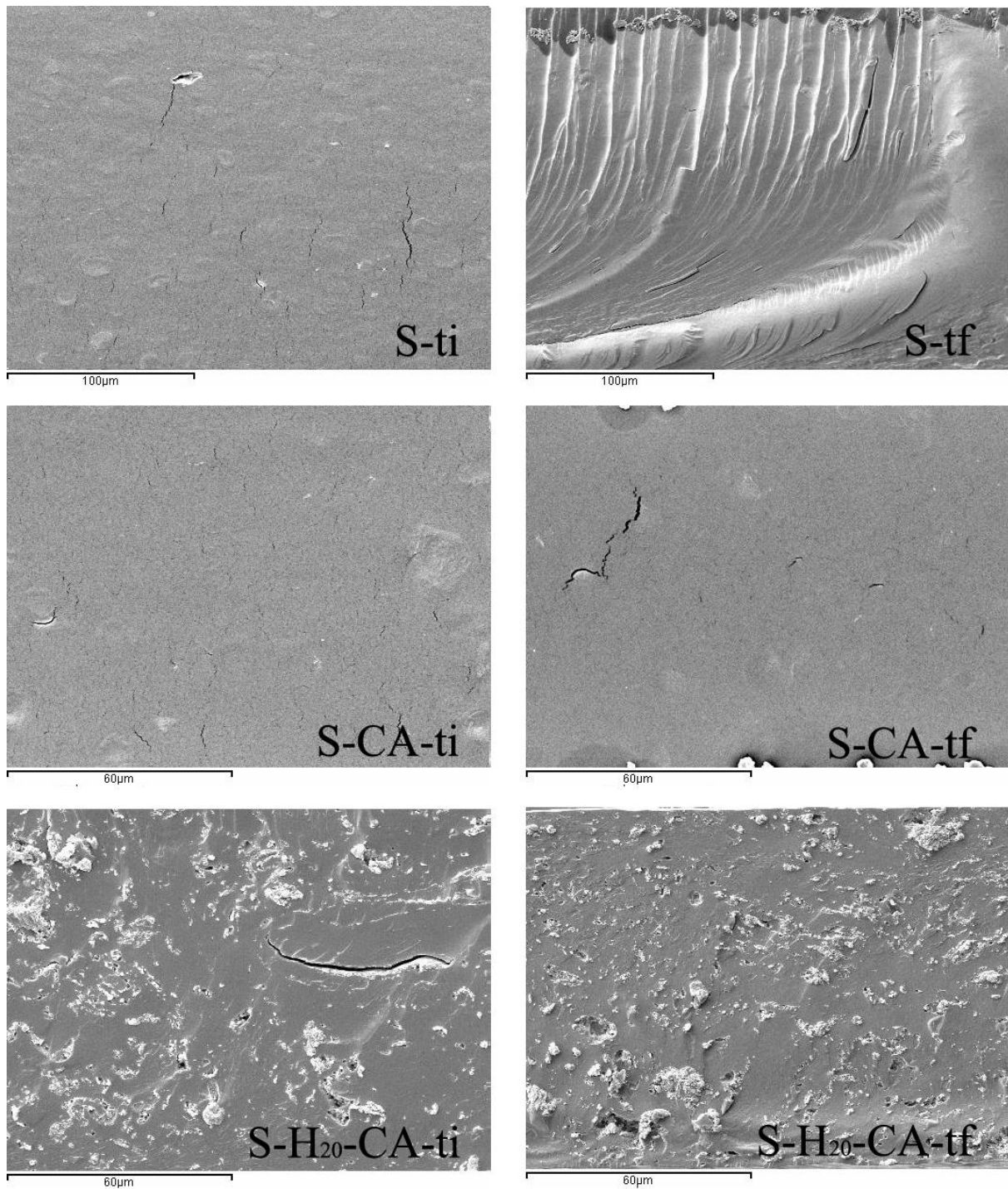


Figura 1. Micrografías Electrónicas de Barrido transversales de películas a base de almidón de maíz con y sin HPMC y ácido cítrico, acondicionadas a 25°C y 53% HR durante una semana (ti) y durante cinco semanas (tf).

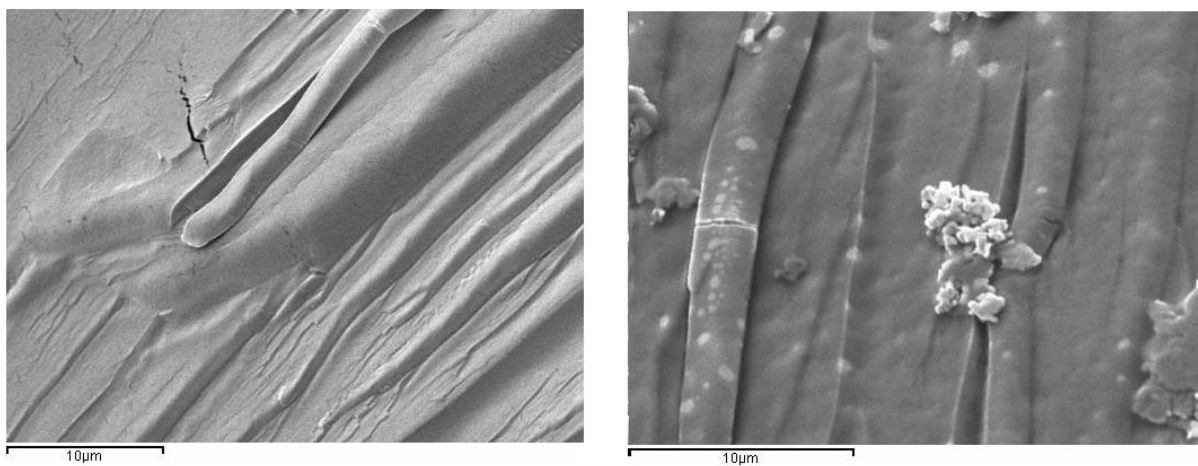


Figura 2. Micrografías Electrónicas de Barrido transversales de la formulación control (S) acondicionadas a 25°C y 53% HR durante cinco semanas.

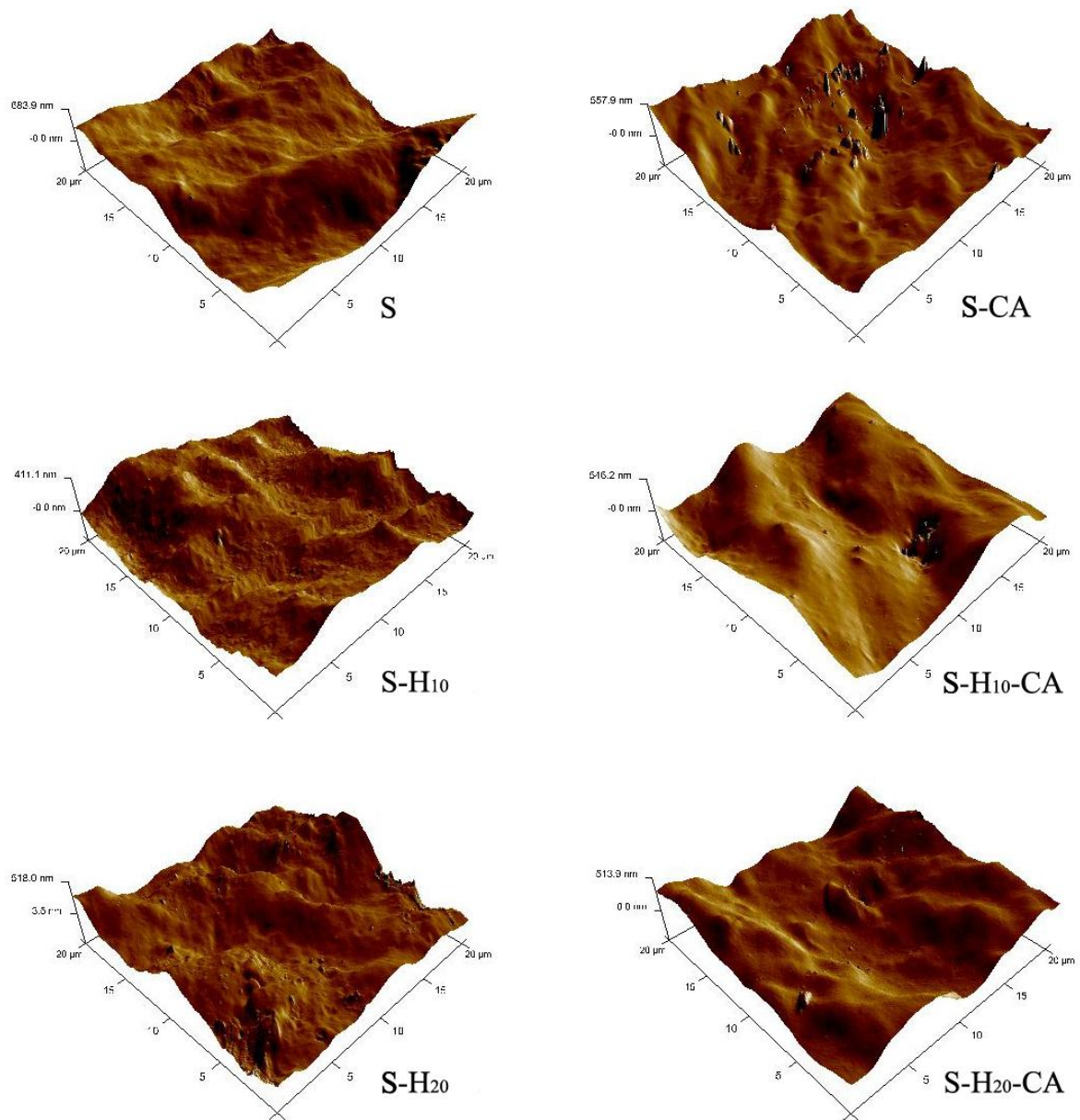
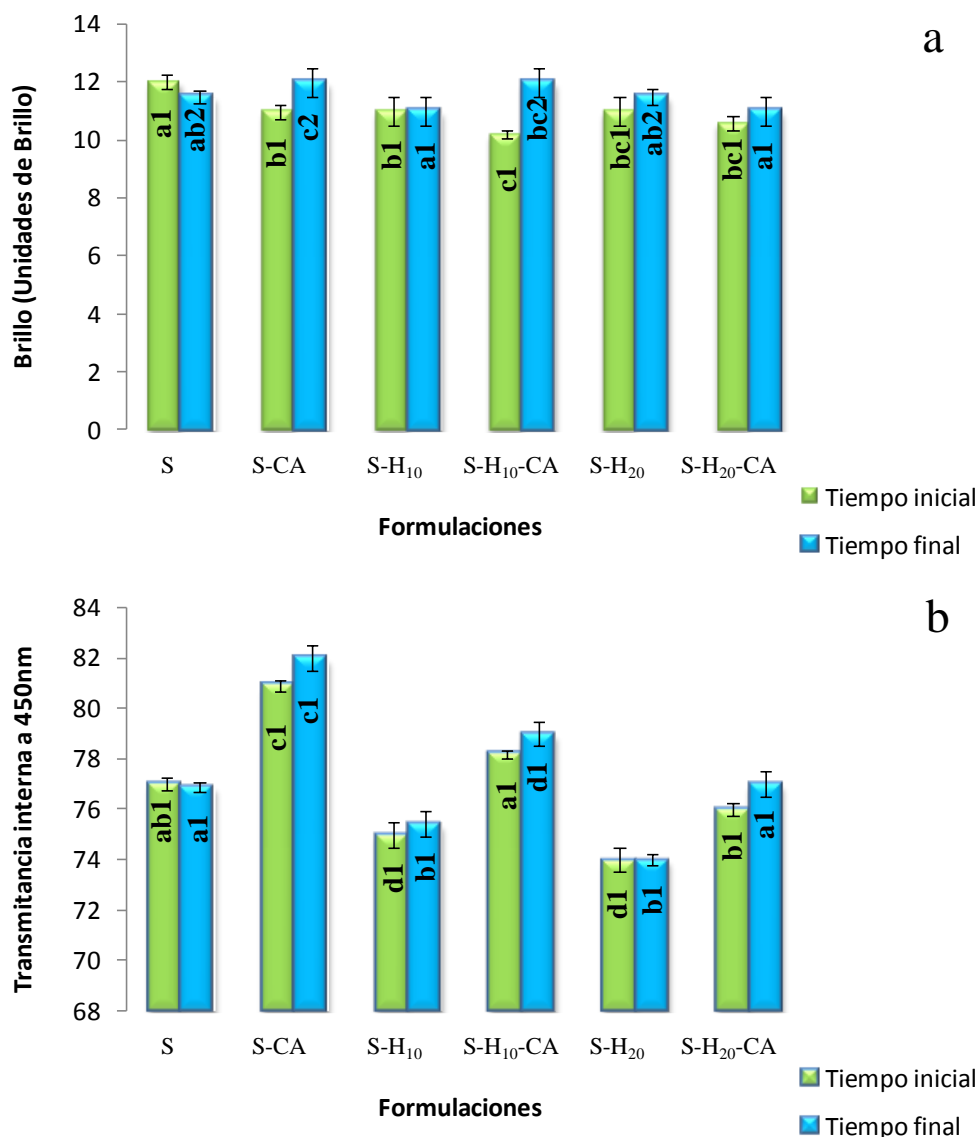


Figura 3. Micrografías de Fuerza Atómica en 3D de películas a base de almidón de maíz con y sin HPMC y ácido cítrico, acondicionadas a 25°C y 53% HR durante una semana.



Diferentes letras dentro de barras del mismo color indican diferencias significativas entre formulaciones ($p < 0.05$).

Diferentes números dentro de la pareja de barras de la misma formulación indican diferencias significativas entre los tiempos de almacenamiento ($p < 0.05$).

Figura 4. Propiedades ópticas de películas a base de almidón de maíz con y sin adición de HPMC y ácido cítrico acondicionadas a 25°C y 53% HR durante una semana y 5 semanas. Desviación estándar.

ELABORACIÓN DE DULCE TIPO BOCADILLO CON DIFERENTES FRUTAS, CON FRUCTOSA Y STEVIA (*Stevia Rebaudiana Bertoni*)

Juan Manuel Moreno¹, Juan David Sánchez¹, Diego Súa¹, Martha M. Cuenca²,

¹ Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano, Departamento de Ingeniería, Programa de ingeniería de Alimentos

² Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá, Departamento de Ingeniería Química y Ambiental, Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Bogotá, Colombia. E-mail: mmcuencaq@unal.edu.co

RESUMEN

En Colombia, el consumo de postres o dulces pequeños después de las comidas principales es un hábito tradicional, que se han conservado a lo largo del tiempo. Uno de estos dulces tradicionales es el bocadillo, el cual es una pasta elaborada por el calentamiento de pulpa de guayaba (*Psidium guajava*) y sacarosa hasta alcanzar 75°Brix. Sin embargo, las personas que sufren de enfermedades relacionadas con el metabolismo de los carbohidratos (diabetes e hipoglicemia) no pueden consumir este tipo de productos. En el mercado colombiano, la oferta de dulces y postres endulzados con edulcorantes diferentes a la sacarosa es escasa, y los productos existentes tienen características sensoriales que no son tan apetecibles por los consumidores. Se desarrolló de un dulce tipo bocadillo utilizando fructosa y stevia (*Stevia rebaudiana Bertoni*), basándose en la aceptación sensorial por parte de los consumidores y buscando no afectar su salud. Se realizaron análisis DOFA y un estudio de mercado. Se utilizaron guayaba (*Psidium guajava*), mora (*Rubus glaucus Benth*) y lulo (*Solanum quitoense*, y fructosa y stevia en una relación 70/30 y se adicionó gelatina como gelificante. Este bocadillo se laboró sin conservantes, escaldando las frutas utilizadas entre 3 y 10 minutos para mantener color, olor y sabor naturales. El producto se conservó durante cuatro semanas sin sinéresis ni cambios en el color, olor, sabor ni textura. Se evaluó la preferencia con 40 panelistas no entrenados, consumidores de bocadillo, obteniéndose la preferencia más alta para el de mora con 67%, mientras que el de lulo presentó la preferencia más baja debido al sabor ácido natural de la fruta, no esperado por parte de este tipo de consumidores. Se concluyó que es posible desarrollar diferentes tipos de postres sin la adición de sacarosa que puedan ser aceptados por los consumidores y con una vida útil adecuada.

1.INTRODUCCIÓN

Colombia es un país que no cuenta con estaciones, por lo tanto durante todo el año hay cosecha de diferentes frutas. Sin embargo, el escaso desarrollo de tecnologías poscosecha hace que sea importante encontrar alternativas de desarrollo de productos a base de las frutas típicas colombianas. Las personas que sufren de hipoglicemia, diabetes u obesidad generalmente se inclinan por alimentos ricos en carbohidratos, ya que argumentan que su sabor es mucho más apetitoso.

Los productos tipos bocadillo en Colombia se han desarrollado a base de guayaba *Psidium guajava*, y siempre su formulación ha llevado la inclusión de sacarosa como edulcorante, de acuerdo por lo estipulado en la Norma Técnica Colombiana 5856 (Icontec, 2011). Se encuentran reportes acerca del desarrollo de productos a base de guayaba, tal como la guayaba en almíbar, donde se encuentra que los procesos térmicos ayudan a conservar y a oscurecer el color característico de la guayaba, pero la utilización de calcio hace que se conserve el color más cercano a la fruta fresca (Sato, A. C. K. *et al.*, 2006). También se encuentran reportes en los que se han estudiado las propiedades físicas de la fruta en soluciones con diferentes concentraciones, variando entre 10°Bx hasta 40°Bx, y temperaturas de 10°C a 40°C; se encuentra que existen variaciones en su viscosidad dinámica, densidad y capacidad específica (Shamsudin, R., *et al.*, 2005).

La utilización de edulcorantes naturales y artificiales no calóricos para el reemplazo del sabor dulce aportado por la sacarosa en diferentes productos es una tendencia que hoy en día implica no sólo el cumplimiento de las características sensoriales sino de la legislación vigente. Se encontró un estudio acerca del uso de sacarina y acesultame k en ratas, donde se encontró el aumento de peso debido al consumo prolongado de este tipo de edulcorantes artificiales. (Swithers, S. *et al.*, 2009).

En la bibliografía relacionada con el desarrollo de productos no existen reportes en los que se evalúen condiciones para la obtención de un producto como el bocadillo, el cual es un producto típico de diferentes regiones de Colombia. Por lo que el objetivo de este trabajo fue encontrar la forma de desarrollar un producto tipo postre apto para personas con problemas como la diabetes, hipoglicemia, obesidad, etc., siendo un reto la aceptación sensorial.

2.MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Desarrollo de la idea

Utilizando el análisis DOFA, se inició el desarrollo de la idea de producto: un bocadillo de distintas frutas como lo son la guayaba (*Psidium guajava*), mora (*Rubus glaucus*

Benth) y lulo (*Solanum quitoense*). Con estas metodologías se vieron las oportunidades que se obtenían, en ámbitos como socio-culturales y económicos si esta idea era implementada a lo largo de diez y seis semanas del semestre académico. Posteriormente, se realizó una encuesta de mercado para establecer el mercado objetivo, la aceptación de los consumidores, las posibles pulpas de fruta con las que se podía hacer el producto y el empaque que era de mayor gusto para el público.

2.2 Diseño de experimento

Para la elaboración de un bocadillo con la utilización de edulcorantes diferentes a la sacarosa, tales como la fructosa y la stevia (*Stevia rebaudiana Bertoni*), se realizaron diferentes ensayos en los cuales se variaron las cantidades y tipo de edulcorante que se utilizaron, y se evaluó su influencia en la textura y dureza del producto al ser comparado con un producto referencia (bocadillo de guayaba con sacarosa como edulcorante). Para esto se tuvo en cuenta que el poder edulcorante de la fructosa es 1.73 veces más que la sacarosa y el extracto de stevia 300 veces más.

2.3 Preparación de materia prima

Para hacer el bocadillo se comenzó con una selección de las frutas. Escogiendo las que cumplan una calidad óptima para que el producto tenga unas excelentes propiedades.

Después se hizo un escaldado de la fruta para que el color y el sabor se mantengan, así como también para disminuir la carga microbiológica. Este proceso, dependiendo de la fruta varió entre 3 a 10 minutos a una temperatura de 90°C. Luego de este proceso térmico de conservación, se pelaron y despulparon, obteniéndose un rendimiento del 60 al 80%. Esta fue la pulpa total que se usó para el proceso de elaboración de los bocadillos.

2.4 Elaboración de bocadillo

Se realizó el pesaje de los edulcorantes 70:30 p/p fructosa y stevia, de acuerdo con lo encontrado en el paso 2.2. Para hacer que la textura y apariencia fueran similares a las de un bocadillo tradicional, se prehidrató en agua caliente gelatina sin sabor en una proporción de un cuarto (1/4) con respecto a la masa final.

Posteriormente, se hizo un mezclado homogéneo de la pulpa y los edulcorantes; esta mezcla se calentó con agitación continua a 85°C por una hora en donde se concentró la pasta. Durante este calentamiento, cuando la mezcla tuvo una temperatura de 50°C, se agregó la gelatina predisuelta en agua caliente.

Por último, cuando la textura fue compacta por la evaporación de la mayoría del agua contenida al inicio del proceso, se vertió a unos moldes fabricados en acero inoxidable para mantener la inocuidad del producto. Se dejó enfriar por 24 horas a temperatura ambiente para que al final del proceso se tuviera un bocadillo apto para el consumo.

2.5 Análisis de propiedades físicas

Se llevaron a cabo pruebas físicas de color, textura y color al producto terminado.

3.RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Análisis DOFA

Mediante la realización del análisis DOFA Al realizar el análisis DOFA se observó que frente a la presencia de competencia en el mercado, y un efecto en el cambio cultural, este producto se caracterizó por ser un alimento funcional y natural sin conservantes ni colorantes. El resumen de la matriz obtenida se presenta a continuación:

- Debilidades: Muchos productores de bocadillo.
- Oportunidades: Funcionalidad del alimento, estandarización del proceso.
- Fortalezas: Producto natural. No conservantes, no colorantes.
- Amenazas: Competencia en el mercado. Cambio en la cultura colombiana

3.2 Investigación de mercados

A través de la realización de un estudio de mercado realizado a consumidores colombianos. En un estudio con 50 personas, consumidoras de frutas, pulpas, bocadillos, entre otros productos. En la figura 1, se puede observar la preferencia de diferentes frutas, destacándose la mora, en primer lugar.

En la figura 2, se presentan los resultados cuando se les preguntó qué tan interesante les parecía la idea de un bocadillo de frutas diferentes al de guayaba apto para personas obesas, diabéticas e hipoglicémicas, observándose que el 35% de las personas calificó la idea de producto como muy interesante.

Después de este estudio se decidió llevar a cabo el desarrollo de del bocadillo de guayaba por ser el sabor típico desde hace tiempo, así como el de mora y lulo, pues resultaron ser productos interesantes frente los consumidores.

3.3 Caracterización física de los productos obtenidos

Después de llevar a cabo el proceso de despulpado para la obtención de los bocadillos, de acuerdo a lo explicado en el numeral 2, se encontraron los rendimientos para cada una de las frutas, como se presentan en la figura 3.

Se llevó a cabo la determinación del color para cada una de las formulaciones evaluadas, y se comparó con el color inicial de la pulpa de la fruta, encontrándose la mayor variación para el bocadillo desarrollado con guayaba, mientras que en el caso del lulo y la mora, este ΔE fue similar tanto para la pulpa como para el producto final, como se presenta en la figura 4.

La textura del producto final se evaluó con un penetrómetro, mediante el cual se comparó la presión que soportó un bocadillo comercial y se comparó con los tres bocadillos obtenidos, encontrándose en todos los casos valores menores al valor del bocadillo comercial, siendo el bocadillo de lulo el que presentó la presión de penetración menor, como se observa en la Tabla 1.

3.4 Análisis sensorial

Con el producto obtenido se obtuvieron datos del análisis sensorial realizado con 40 personas consumidoras habituales de bocadillo. Se encontró que el bocadillo que más gustó fue el de mora, con 67% de preferencia debido a su sabor y color, mientras que el bocadillo de lulo presentó la menor preferencia debido a que no presentó el sabor característico del mismo fruto. Estos resultados se pueden observar en la figura 5.

En cuando a la textura, se encontró que más de la mitad de las personas en todos los casos consideraron que los bocadillos eran duros, con la textura característica del bocadillo, como se presenta en la figura 6.

CONCLUSIONES

La realización del análisis DOFA y el estudio de mercado permitieron encontrar los posibles productos a desarrollar de acuerdo con lo esperado por los consumidores colombianos.

El tiempo de proceso y formulaciones de los productos dependieron del tipo de fruta empleada.

Fue posible desarrollar un producto en base de pulpas de frutas colombianas y diferentes edulcorantes naturales sin conservantes y bajo en calorías, que tuviera propiedades fisicoquímicas y sensoriales similares a las de un bocadillo original.

Los bocadillos de mora y guayaba bajos en calorías presentaron mayor similitud con el bocadillo comercial de guayaba, en cuanto a la textura tanto evaluada instrumentalmente como a través del panel sensorial.

Entre más alto sea el rendimiento de pulpa, es posible desarrollar bocadillos con distintas frutas, que sean viables económicamente.

BIBLIOGRAFÍA

- Icontec. (2011). Norma Técnica de Elaboración de bocadillo de Guayaba NTC 5856:2011.
- Sato, A. C. K., & Sanjine, E. J. (2006). Original article The effect of addition of calcium and processing temperature on the quality of guava in syrup, 417–424.
- Shamsudin, R., Mohamed, I. O., Khalillah, N., & Yaman, M. (2005). Thermophysical properties of Thai seedless guava juice as affected by temperature and concentration, *66*, 395–399. doi:10.1016/j.jfoodeng.2004.04.007
- Swithers, S. E., Baker, C. R., & Davidson, T. L. (2009). General and Persistent Effects of High-Intensity Sweeteners on Body Weight Gain and Caloric Compensation in Rats, *123*(4), 772–780. doi:10.1037/a0016139

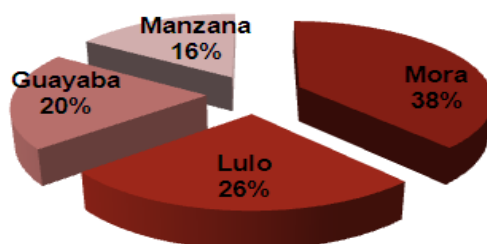


Figura 1. Frutas preferida por los consumidores

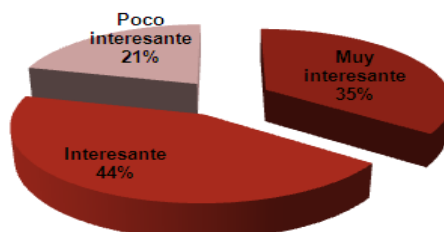


Figura 2: Interés del producto ante los consumidores

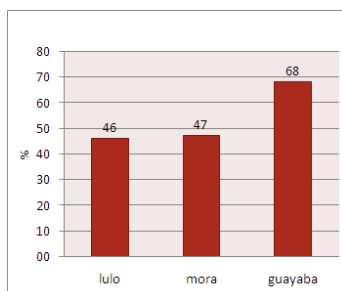


Figura 3. Porcentaje del rendimiento de pulpa

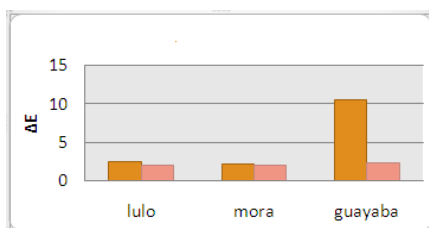


Figura 4. Análisis de color para bocado y pulpa de fruta

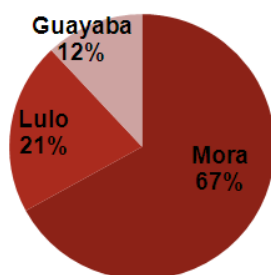


Figura 5. Resultados de la preferencia de los bocallos desarrollados

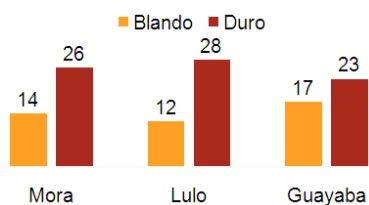


Figura 6. Evaluación sensorial de la textura de los bocallos

Penetración	Pa
Bocado	1
Guayaba	0.74
Lulo	0.5
Mora	0.6

Tabla 1. Textura evaluada por penetrómetro.

CLASIFICACIÓN DE HIDROMIELES UTILIZANDO TÉCNICAS ELECTROQUÍMICAS Y QUIMIOMÉTRICAS

Martha María Cuenca¹, Luis Alejandro Palacios², Carlos Mario Zuluaga³ Matteo Scampicchio⁴

^{1,2,3} Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá, Departamento de Ingeniería Química y Ambiental, Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Bogotá, Colombia. E-mail: mmcuencaq@unal.edu.co

⁴ Libera Università di Bolzano. Facoltà di Scienze e Tecnologie, Bolzano, Italia. E-mail: matteo.scampicchio@unibz.it

RESUMEN

El hidromiel es una bebida alcohólica tradicional, que se obtiene mediante la fermentación alcohólica de miel diluida con agua; se pueden adicionar diferentes materias primas para mejorar sus características sensoriales tales como frutas, jugos de frutas, hierbas y especias. Su producción se encuentra regulada en la Unión Europea de acuerdo con los reglamentos C 266/27, C 268/22, C 267/40 y C 265/29 de Noviembre 7 de 2007; su clasificación depende de la formulación del mosto de partida y las características fisicoquímicas del producto final. A pesar de su antigüedad, su producción aún hoy en día es artesanal; adicionalmente, los estudios acerca de clasificación de hidromieles se relacionan principalmente con aspectos tales como el contenido de aromas en el producto final, contenido de fuente de nitrógeno inicial, utilización de diferentes levaduras. En este trabajo se aplicaron técnicas electroquímicas y tradicionales para clasificar diversos hidromieles obtenidos mediante la fermentación durante trece días a 25°C de distintos mostos con adición de diferentes materias primas (hierbas y especias), además de la utilización de miel de abejas, polen y levadura comercial. Se concluyó que es posible llevar a cabo la clasificación de diferentes hidromieles a través de la utilización de técnicas electroquímicas y la aplicación de técnicas estadísticas multivariadas, encontrando su relación con el mosto de origen y el contenido de azúcares.

1. INTRODUCCIÓN

El hidromiel es una de las bebidas más antiguas, y probablemente es precursora de la cerveza. Su amplia difusión fue reportada por parte de los pueblos egipcios, griegos, celtas, sajones y bárbaros. En América esta bebida era elaborado por los mayas, quienes disolvían la miel de abejas sin aguijón (Meliponas), con agua, la maceraban con trozos de la corteza de un árbol y fermentaban hasta obtener un licor empleado en sus festividades (Berry, 2009).

Cada tipo de hidromiel es diferente, y cada sabor característico depende del tipo de miel empleado, específicamente de su origen botánico o geográfico, características que influyen en sus diferencias organolépticas. Su producción actualmente se encuentra regulada en la Unión Europea de acuerdo con los reglamentos C 266/27, C 268/22, C 267/40 y C 265/29 de Noviembre 7 de 2007. En la Tabla 1 se presentan las clases de hidromiel más reconocidas.

Esta bebida se obtiene por fermentación alcohólica de miel diluida, la cual alcanza un contenido de 8 hasta 12 %v/v de etanol. En este proceso fermentativo, la levadura, generalmente perteneciente al género *Saccharomyces cerevisiae*, posee ventajas sobre otras levaduras como la tolerancia a etanol, alta velocidad de conversión del sustrato y crecimiento a pH 4.0-5.0, estas condiciones implican un bajo riesgo de contaminación y sencillez de la operación en el fermentador (Ramalhosa, Gomes, Pereira, Dias, & Estevinho, 2011).

La generación de instrumentos como la lengua electrónica, se basan en entender cómo funciona el gusto en los humanos, teniendo en cuenta principios químicos sencillos, lo que hace que su utilización se esté llevando a cabo, no solo para alimentos sino para otro tipo de aplicaciones, pues constituye una técnica de análisis en la que la muestra debe sufrir pocos tratamientos, lo que la convierte en una técnica fácilmente implementable. Se encuentra en la literatura que la mayoría de los trabajos se basan en electroquímica clásica, utilizando métodos, tales como la potenciometría, voltametría y conductimetría; también existen numerosos reportes en los que se utilizan este tipo de sensores para la caracterización de bebidas alcohólicas (Novakowski, Bertotti, & Paixão, 2011), (Wei, Wang, & Ye, 2011), (Prieto et al., 2011), (Pigani et al., 2011), (Gil-Sánchez et al., 2011), (Gutiérrez et al., 2011).

La voltametría es una categoría de métodos electroanalíticos, mediante la cual se obtiene información acerca de un analito mediante la medición de la corriente de acuerdo con la variación del potencial.

Mediante la voltametría de onda cuadrada (SWV) se barre tanto linealmente en el tiempo la corriente en un electrodo de trabajo mientras se mide el potencial entre el electrodo de trabajo y un electrodo de referencia, como un barrido con un barrido de potencial de serie de escalera. La oxidación o reducción de especies está registrada como un pico o valle en la señal de corriente en el potencial al cual la especie comienza a ser oxidada o reducida. De la combinación de estos dos barridos surge una función potencial de la corriente. La principal ventaja de esta técnica es que se pueden determinar concentraciones del orden nanomolar.

A pesar que el hidromiel es una de las bebidas más antiguas, no se encuentran reportes en los que se utilicen técnicas electroquímicas con el objetivo de llevar a cabo la clasificación de diferentes tipos de hidromieles.

2.MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Obtención de los hidromieles

Los hidromieles evaluados fueron desarrollados en el Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos de acuerdo con la metodología propuesta por Acosta, 2012 y Blanco, 2012, utilizando levadura comercial de la especie *Saccharomyces cerevisiae sbp bayanus*, agua potable proveniente de la red de acueducto de Bogotá, miel y polen colombianos provenientes de la región de Boyacá, hierbas (*Cymbopogon citratus*, *Mentha spicata*) y una especia (*Cinnamomum verum*) provenientes de la Sabana de Bogotá. El proceso fermentativo se llevó a cabo por duplicado durante trece días a 25°C, después del cual se obtuvieron cinco hidromieles diferentes.

2.2 Caracterización fisicoquímica

Se llevaron a cabo las determinaciones de los siguientes parámetros:

- Determinación de grados Brix, por utilización de refractometría, de acuerdo con metodología USCL 20-08, 2002
- Determinación de pH realizando valoración potenciométrica. Método AOAC 945.10, 2005
- Determinación a lo largo del proceso fermentativo la acidez total, expresada como porcentaje de ácido málico, mediante valoración potenciométrica con potenciómetro comercial, por el Método 950.15 AOAC, 2005.
- Determinación de grado alcohólico expresado como porcentaje en volumen de etanol, de acuerdo con el Método USCL 20-08, 2002
- Determinación de acidez volátil expresada como g/L de ácido acético de acuerdo con el Método Método USCL 20-08, 2002
- Determinación de Fenoles y ABTS, de acuerdo con las metodologías reportadas por (Alonso, Domínguez, Guillén, & Barroso, 2002; Johnson & Gonzalez de Mejia, 2012)
- Determinación de sacarosa, glucosa, fructosa y etanol utilizando Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC), con el Método AOAC 984.14, 2005
- Se calcularon los azúcares totales con base en el resultado obtenido mediante HPLC
- Se calculó el rendimiento de la reacción teniendo en cuenta para cada caso el contenido final de etanol determinado por HPLC y el contenido inicial de azúcares totales

2.3 Caracterización electroquímica

Se utilizó un multipotenciostato marca Palmsens, microsensores voltamétricos de BVT Technologies que tenían como electrodos de trabajo cobre y platino, como electrodo de referencia plata/cloruro de plata y electrodo auxiliar de platino. Se utilizaron las metodologías reportadas por Dan Siele, Lavagnini, Baldo, & Magno, 1998, Marioli & Kuwana, 1992; Novakowski et al., 2011. Cada una de las determinaciones se hizo por triplicado. Para el caso del electrodo de cobre se utilizó como solución electrolítica hidróxido de sodio 0.1M. En el caso del electrodo de platino, se utilizó ácido perclórico 0.01M con adición de cloruro de potasio 0.1M

2.4 Análisis de datos

Los datos recolectados fueron analizados mediante la técnica estadística multivariada de Análisis de Componentes Principales (PCA). La técnica fue realizada en el software Matlab (The Mathworks, USA).

3. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Los hidromieles obtenidos se desarrollaron teniendo en cuenta las preferencias de consumidores De acuerdo con la clasificación presentada en la tabla 1, los hidromieles producidos fueron uno de tipo tradicional (Blanco) y cuatro tipo Metheglin (canela, yerbabuena, yerbabuena mezclada con limonaria y yerbabuena mezclada con canela), que en adelante se denominarán FB, FC, Y, YL y YC, a las cuales se les llevaron a cabo las determinaciones fisicoquímicas explicadas en el numeral 2.2 por triplicado, así como las determinaciones electroquímicas. Los resultados obtenidos como promedios se presentan en la Tabla 2.

En las figuras 1 y 2 se presentan las curvas promedio obtenidas tanto para el electrodo de cobre como para el de platino. Se puede observar que los valores de las corrientes obtenidas para ambos sensores y todas las muestras son diferentes, probablemente porque se encuentran relacionadas con la composición inicial de los mostos de partida para llevar a cabo la fermentación, así como con el metabolismo que sigue la levadura en cada uno de los mostos.

En la Tabla 2 se presentan los valores promedio de todas las determinaciones realizadas para cada uno de los cinco hidromieles obtenidos. En el caso de las determinaciones electroquímicas, se toman los valores de las corrientes mayores obtenidas mediante el barrido de los diferentes potenciales para todas las muestras.

En dicha tabla también se puede observar que los valores estadísticamente similares para los grados Brix y densidad para todas las muestras. En el caso del pH, los valores son similares entre todos los hidromieles, excepto por el hidromiel blanco, comportamiento similar al obtenido para la acidez. En el caso de azúcares totales, sacarosa, glucosa y fructosa, todos los valores son diferentes para todos los hidromieles, comportamiento similar al observado al contenido final de etanol determinado por HPLC; esto tiene obviamente relación con el rendimiento para cada uno de los hidromieles, en donde se puede observar el mayor para el hidromiel blanco y el más bajo para el de yerbabuena. En el caso de la acidez volátil, el mayor valor fue el encontrado para el hidromiel con yerbabuena y canela. En las figuras 3 y 4 se presenta el análisis de componentes principales (PCA) realizado para los hidromieles evaluados, donde se puede evidenciar que el hidromiel blanco tuvo mayor correlación con los resultados obtenidos para los sensores utilizados de platino y cobre. Para el caso de los hidromieles que contenían yerbabuena, presentaron mayor correlación con el contenido de fenoles, probablemente debido a la presencia de las hierbas aromáticas.

4.CONCLUSIONES

La utilización de técnicas electroquímicas en matrices alimentarias es una herramienta útil y sencilla que puede utilizarse con el fin de llevar a cabo la clasificación de las mismas, en este caso, de hidromieles. La realización de análisis estadístico multivariado, específicamente del PCA, permite establecer las diferentes relaciones existentes entre las muestras analizadas y las variables determinadas, generando la importancia de las variables más representativas para la clasificación de hidromieles. La combinación de técnicas fisicoquímicas tradicionales con técnicas electroquímicas y quimiometría permiten la realización de estudios con gran número de variables de diferente naturaleza, y pueden aplicarse a la clasificación de hidromieles.

5.REFERENCIAS

Acosta, C. (2012). *Evaluación de la fermentación alcohólica para la producción de hidromiel*. Universidad Nacional de Colombia.

Alonso, A. M., Domínguez, C., Guillén, D. a, & Barroso, C. G. (2002). Determination of antioxidant power of red and white wines by a new electrochemical method and its correlation with polyphenolic content. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(11), 3112–5.

Berry, B. (2009). *The Global Mead Market: Opportunities for Canadian Mead Exporters*. Retrieved from <http://www.ats.agr.gc.ca/inter/4347-eng.pdf>

Blanco, A. J. (2012). *Evaluacion de algunas fuentes de nitrógeno en la fermentacion alcohólica de miel*. Universidad Nacional de Colombia.

Daniele, S., Lavagnini, I., Baldo, M., & Magno, F. (1998). Voltammetry for reduction of hydrogen ions from mixtures of mono-and polyprotic acids at platinum microelectrodes. *Analytical Chemistry*, 70(2), 285–294. Retrieved from

Gil-Sánchez, L., Soto, J., Martínez-Mañez, R., Garcia-Breijo, E., Ibáñez, J., & Llobet, E. (2011). A novel humid electronic nose combined with an electronic tongue for assessing deterioration of wine. *Sensors and Actuators A: Physical*, 171, 152–158.

Gutiérrez, M., Domingo, C., Vila-Planas, J., Ipatov, A., Capdevila, F., Demming, S., ... Jiménez-Jorquera, C. (2011). Hybrid electronic tongue for the characterization and quantification of grape variety in red wines. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 156(2), 695–702.

Johnson, M. H., & Gonzalez de Mejia, E. (2012). Comparison of chemical composition and antioxidant capacity of commercially available blueberry and blackberry wines in Illinois. *Journal of food science*, 77(1), C141–8.

Marioli, J. M., & Kuwana, T. (1992). Electrochemical characterization of carbohydrate oxidation at copper electrodes. *Electrochimica Acta*, 37(7), 1187–1197.

Novakowski, W., Bertotti, M., & Paixão, T. R. L. C. (2011). Use of copper and gold electrodes as sensitive elements for fabrication of an electronic tongue: Discrimination of wines and whiskies. *Microchemical Journal*, 99(1), 145–151.

Pigani, L., Culetu, A., Ulrici, A., Foca, G., Vignali, M., & Seeber, R. (2011). Pedot modified electrodes in amperometric sensing for analysis of red wine samples. *Food Chemistry*, 129(1), 226–233.

Prieto, N., Gay, M., Vidal, S., Aagaard, O., de Saja, J. a., & Rodriguez-Mendez, M. L. (2011). Analysis of the influence of the type of closure in the organoleptic characteristics of a red wine by using an electronic panel. *Food Chemistry*, 129(2), 589–594.

Ramalhosa, E., Gomes, T., Pereira, A. P., Dias, T., & Estevinho, L. M. (2011). *Mead production tradition versus modernity*. *Advances in food and nutrition research* (1st ed., Vol. 63, pp. 101–18). Elsevier Inc.

Wei, Z., Wang, J., & Ye, L. (2011). Classification and prediction of rice wines with different marked ages by using a voltammetric electronic tongue. *Biosensors & bioelectronics*, 26(12), 4767–73.

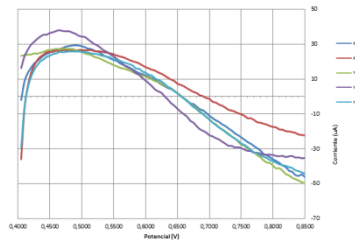


Figura 1. Variación de corriente contra voltaje para electrodo de cobre

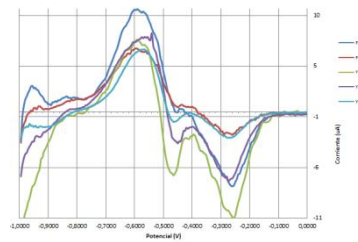


Figura 2. Variación de corriente contra voltaje para electrodo de platino

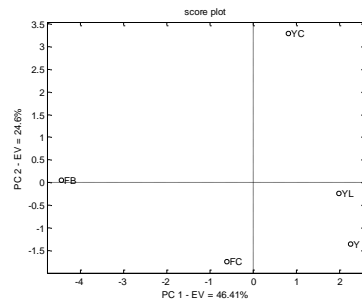


Figura 3. Score plot para los diferentes hidromieles evaluados

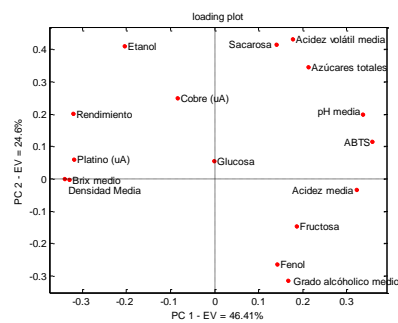


Figura 4. Loading plot para los diferentes hidromieles evaluados

Tabla 1. Clasificación de los hidromieles

Clase	Característica
Bracket o Braggot	Hecha con malta
Cyser	Producido con manzanas, sidra de manzana o jugo de manzana
Melomel	Hecha con fruta, a excepción de las manzanas o las uvas
Metheglin	Elaborado con hierbas o especias
Pymment	Elaborado con uvas, jugo de uva o mosto de uva concentrado
Tradicional	Producido a partir de más de un tipo de miel y sin frutas, hierbas o especias.

Tabla 2. Determinaciones realizadas a los hidromieles

Fermentación	Brix	Densidad (g/mL)	Acidez (% ácido málico)	pH	Azúcares totales (%)	Sacrosa (%)	Glucosa (%)	Fructosa (%)	Etanol (%)	Rendimiento g etanol/g azúcar	Corriente electrodos cobre (uA)	Corriente electrodos platino (uA)	Grado alcohólico (% v/v)	Acidez volátil (g/L) ácido acético	ABTS (mmol Trolox/L)	Fenoles (mmol Trolox/L)
FB	10,1	1,041	2,656	3,81	1,47	1	0,281	0,185	12,452	0,515	22,65	10,0875	12,8	0,288	0,6138	0,5863
FC	10	1,04	3,999	3,85	1,107	0,317	0,252	0,538	9,14	0,367	25,05	6,2062	13,83	0,257	0,7715	0,7484
Y	9,4	1,037	3,879	3,9	1,056	0,281	0,309	0,466	8,299	0,343	19,65	6,8312	14	0,361	0,9023	0,9453
YL	9,35	1,037	3,904	3,9	2,11	0,28	0,24	1,595	8,473	0,377	22,6812	5,7312	13	0,358	0,9067	0,5566
YC	9,7	1,039	3,87	3,91	1,73	1,27	0,281	0,185	13,36	0,421	25,4875	6,8563	13,04	0,502	0,9092	0,6138

UTILIZACIÓN DE TÉCNICAS ELECTROQUÍMICAS PARA MONITOREAR EL PROCESO FERMENTATIVO PARA OBTENCIÓN DE HIDROMIEL

Martha M. Cuenca¹, Amaury Blanco² Carlos Mario Zuluaga³, Matteo Scampicchio⁴

^{1,2,3} Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá, Departamento de Ingeniería Química y Ambiental, Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Bogotá, Colombia. E-mail: mmcuencaq@unal.edu.co

⁴ Libera Università di Bolzano. Facoltà di Scienze e Tecnologie, Bolzano, Italia.

La electroquímica estudia las reacciones que implican oxidaciones y reducciones. Actualmente, se encuentran innumerables aplicaciones de la utilización de estas técnicas para determinar la calidad de diferentes tipos de alimentos o clasificarlos, evaluar diferentes tipos de contaminantes o adulterantes de los mismos, cuantificar diferentes nutrientes y compuestos de interés funcional; sin embargo, son pocas las aplicaciones de dichas técnicas para la evaluación de procesos productivos a lo largo del tiempo. El hidromiel es una de las bebidas alcohólicas más antiguas y tradicional en Polonia, donde su producción se encuentra reglamentada de acuerdo al mosto de partida (contenido de agua, miel y otras materias primas) y las características fisicoquímicas del producto final. Los avances que se reportan generalmente utilizan técnicas tradicionales tales como pH, acidez, grados Brix, densidad, y otras como cromatografía líquida y de gases, y se relacionan con la selección de levaduras, evaluación de contenido de fuentes de nitrógeno, entre otros. En el presente trabajo se aplicaron técnicas tradicionales y técnicas electroquímicas para evaluar el proceso fermentativo a lo largo del tiempo para la producción de hidromiel a 25°C y durante 30 días de fermentación. Se encontró que es posible realizar el seguimiento a lo largo del tiempo de la fermentación alcohólica utilizando sensores comerciales y técnicas como voltametría cíclica y de onda cuadrada, pues existe una relación con el consumo de azúcares durante la fermentación, así como con la generación de ácidos orgánicos, haciendo que el uso este tipo de técnicas facilite la evaluación de procesos fermentativos en línea.

1. INTRODUCCIÓN

El hidromiel es una bebida tradicional en países de África y Europa Oriental. Se obtiene por fermentación alcohólica de miel diluida, la cual alcanza un contenido de 8 hasta 12% v/v de etanol. Para la fermentación generalmente se utiliza levadura del género *Saccharomyces cerevisiae*, la cual es tolerante al etanol, presenta alta velocidad de conversión del sustrato y crecimiento a pH 4.0-5.0 (Ramalhosa, Gomes, Pereira, Dias, & Estevinho, 2011).

Tradicionalmente, para llevar a cabo el seguimiento de las fermentaciones etanólicas a nivel industrial se han empleado mediciones sencillas como grados Brix, grados de alcohol (grados Gay Lussac), porcentaje de acidez volátil, entre otras. Al final del proceso, se hacen evaluaciones sensoriales comparativas para determinar si el producto final está dentro de los parámetros sensoriales especificados en un producto patrón conocido. También, a nivel investigativo, se ha realizado el seguimiento de la fermentación, empleando técnicas como la cromatografía líquida para cuantificación de alcoholes, ácidos orgánicos y azúcares, así como cromatografía de gases para ácidos y alcoholes.

Cuando en las fermentaciones se tiene una composición sencilla del medio de cultivo, es fácil llevar a cabo el seguimiento del crecimiento de biomasa o consumo de sustrato utilizando diferentes técnicas como Kejhaldal, peso seco, espectrofotometría, conductividad eléctrica, turbidez, entre otros. Pero debido a que la miel de abejas cuenta con la presencia de diferentes sustancias tales como aminoácidos, ácidos orgánicos y otros nutrientes, esto ocasiona que las técnicas recomendadas para gran número de fermentaciones no se puedan utilizar para hacer el seguimiento tanto de consumo de sustrato como de producción de biomasa, y por lo tanto, se hace necesario encontrar herramientas que permitan llevar a cabo estas determinaciones de una forma sencilla.

La voltimetría es un método electroquímico en el cual se aplica un potencial constante o variable en la superficie de un electrodo y se mide la corriente resultante con un sistema de tres electrodos. Puede ser un método para determinar el potencial de reducción de un analito y su reactividad electroquímica; se considera un método no destructivo pues sólo se usa una pequeña cantidad de muestra.

Existen numerosos reportes en los que se utilizan sensores voltamétricos para la caracterización de bebidas alcohólicas (Novakowski, Bertotti, & Paixão, 2011, Wei, Wang, & Ye, 2011, Prieto et al., 2011, Pigani et al., 2011, Gil-Sánchez et al., 2011, Gutiérrez et al., 2011).

Mediante la voltimetría de onda cuadrada (SWV) se realiza tanto un barrido lineal en el tiempo de la corriente en un electrodo de trabajo mientras se mide el potencial entre éste y un electrodo de referencia, como un barrido en escalera del potencial. De la combinación de estos dos barridos surge una función potencial de la corriente. Esta es una de las técnicas más sensibles, cuya principal ventaja es la determinación de concentraciones del orden nanomolar.

Siendo el hidromiel una bebida tan antigua, no se encuentran reportes en los que se utilicen técnicas electroquímicas para realizar el seguimiento de este proceso fermentativo. El

objetivo de este trabajo fue utilizar la voltametría de onda cuadrada como técnica electroquímica para monitorear el avance de la fermentación alcohólica de miel.

2.MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Obtención de los hidromieles

Se evaluó el proceso de obtención de un hidromiel tradicional durante trece días a 25°C por duplicado en el Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos de acuerdo con la metodología propuesta por Acosta, 2012 y Blanco, 2012, utilizando levadura comercial de la especie *Saccharomyces cerevisiae ssp bayanus*, agua potable proveniente de la red de acueducto de Bogotá, miel y polen colombianos provenientes del departamento de Boyacá.

2.2 Caracterización fisicoquímica

Los hidromieles fueron caracterizados mediante determinaciones de los siguientes parámetros:

- Determinación de grados Brix, por utilización de refractometría. Metodología USCL 20-08, 2002
- Determinación de pH realizando valoración potenciométrica. Método AOAC 945.10, 2005
- Determinación de la acidez total, expresada como porcentaje de ácido málico, mediante valoración potenciométrica con potenciómetro comercial. Método AOAC 950.15, 2005.
- Determinación de grado alcohólico expresado como porcentaje en volumen de etanol. Método USCL 20-08, 2002
- Determinación de acidez volátil expresada como g/L de ácido acético. Método USCL 20-08, 2002
- Determinación de Fenoles y ABTS, de acuerdo con las metodologías reportadas por (Alonso, Domínguez, Guillén, & Barroso, 2002; Johnson & Gonzalez de Mejia, 2012)
- Determinación de sacarosa, glucosa, fructosa y etanol utilizando Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC
-). Método AOAC 984.14, 2005

Con base en los resultados obtenidos mediante HPLC se calculó el contenido de azúcares totales al inicio y al final, y el contenido de etanol, con los cuales se determinó el rendimiento de la fermentación alcohólica.

2.3 Caracterización electroquímica

Se utilizó un multipotenciostato marca Palmsens, microsensores voltamétricos de BVT Technologies que tenían como electrodos de trabajo cobre y platino, como electrodo de

referencia plata/cloruro de plata y electrodo de conteo de platino. Se utilizaron las metodologías reportadas por Dan Siele, Lavagnini, Baldo, & Magno, 1998, Marioli & Kuwana, 1992, Novakowski et al., 2011. Cada una de las determinaciones se realizó por triplicado. Para el monitoreo de los azúcares se emplearon electrodos de cobre utilizando como solución electrolítica hidróxido de sodio 0.1M y para los ácidos orgánicos se utilizaron electrodos de platino y ácido perclórico 0.01M con adición de cloruro de potasio 0.1M.

2.4 Análisis de datos

Se estableció la relación entre los sensores electroquímicos y el contenido de carbohidratos, mediante la técnica estadística multivariada de Mínimos Cuadrados Ordinarios (OLS), en la que se obtuvo una función para caracterizar y predecir el comportamiento de un conjunto de muestras pertenecientes a una misma clase y ser utilizada como una herramienta de predicción. En este caso se realizó una validación cruzada de datos, reportándose el valor del coeficiente de correlación R y el error medio de calibración $RMSEC$, tanto para la etapa de entrenamiento del modelo, como para la validación del mismo. Se dice que un modelo tiene robustez y capacidad predictiva adecuada, cuando tanto R y R_{cv} sean cercanos a 1 y la diferencia $|R - R_{cv}|$ cercana a 0. Los modelos de regresión fueron realizados utilizando el software Matlab (The Mathworks, USA).

3. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Se llevó a cabo el monitoreo de la fermentación para la obtención del hidromiel durante 310 horas a 25°C, y se realizaron muestreos en cinco tiempos diferentes para establecer el final del proceso. Se hicieron las determinaciones fisicoquímicas enunciadas en el numeral 2.2 por triplicado, así como las determinaciones electroquímicas. En la Figura 1 se presentan los resultados obtenidos para los perfiles de consumo de glucosa y fructosa y de producción de etanol. Como se observa, a las 250 horas de fermentación casi la totalidad de los azúcares fueron consumidos por la levadura, lo cual junto con el comportamiento de la concentración de etanol, se relaciona con la tendencia de las corrientes obtenidas a lo largo del tiempo tanto para el electrodo de cobre como para el de platino mostrados en las Figuras 2 y 3.

En las figuras 4, 5 y 6 se pueden observar los resultados del análisis de componentes principales (PCA) aplicado a esta fermentación. Se observa que los principales cambios ocurren alrededor de las 150 horas del proceso. Además se evidencia una mayor correlación entre los primeros días de la fermentación (0 – 50 horas) con las señales de los electrodos de

cobre, el contenido de azúcares y el pH, mientras que para el final (250 horas en adelante) la correlación está dada con los resultados de los electrodos de platino, acidez total y rendimiento etanólico.

En cuanto a la generación de un modelo para poder tener en cuenta el comportamiento de la fermentación utilizando los electrodos de cobre y platino, se realizó una regresión por mínimos cuadrados ordinarios, teniendo como respuesta los carbohidratos y el etanol, y como variables independientes la corriente determinada por dichos sensores. En la Tabla 1 se presentan los resultados encontrados, mostrando un R bajo para el etanol, pero alto para las demás variables evaluadas; en esta tabla, Pt y Cu representan las corrientes determinadas con estos sensores.

4. CONCLUSIONES

Mediante la aplicación de voltametría de onda cuadrada utilizando sensores de cobre y platino fue posible establecer una relación entre las corrientes generadas con el comportamiento de la concentración de glucosa, fructosa y etanol a lo largo del tiempo utilizando la técnica de voltametría de onda cuadrada. Este hecho es confirmado con la precisión de la correlación lineal obtenida entre estos parámetros dentro de los modelos obtenidos, permitiendo generar una herramienta de gran importancia no solo para la industria de bebidas alcohólicas sino para el sector alimentario en general, debido a la simplicidad y rapidez del análisis, ya que se puede realizar el seguimiento de fermentaciones alcohólicas de miel utilizando este tipo de técnicas.

5. REFERENCIAS

Acosta, C. (2012). *Evaluación de la fermentación alcohólica para la producción de hidromiel*. Universidad Nacional de Colombia.

Blanco, A. J. (2012). *Evaluación de algunas fuentes de nitrógeno en la fermentación alcohólica de miel*. Universidad Nacional de Colombia.

Daniele, S., Lavagnini, I., Baldo, M., & Magno, F. (1998). Voltammetry for reduction of hydrogen ions from mixtures of mono- and polyprotic acids at platinum microelectrodes. *Analytical Chemistry*, 70(2), 285–294. Gil-Sánchez, L., Soto, J., Martínez-Máñez, R., García-Breijo, E., Ibáñez, J., & Llobet, E. (2011). A novel humid electronic nose combined with an electronic tongue for assessing deterioration of wine. *Sensors and Actuators A: Physical*, 171, 152–158.

Gutiérrez, M., Domingo, C., Vila-Planas, J., Ipatov, A., Capdevila, F., Demming, S., ... Jiménez-Jorquera, C. (2011). Hybrid electronic tongue for the characterization and quantification of grape variety in red wines. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 156(2), 695–702.

Marioli, J. M., & Kuwana, T. (1992). Electrochemical characterization of carbohydrate oxidation at copper electrodes. *Electrochimica Acta*, 37(7), 1187–1197.

Novakowski, W., Bertotti, M., & Paixão, T. R. L. C. (2011). Use of copper and gold electrodes as sensitive elements for fabrication of an electronic tongue: Discrimination of wines and whiskies. *Microchemical Journal*, 99(1), 145–151. doi:10.1016/j.microc.2011.04.012

Pigani, L., Culetu, A., Ulrici, A., Foca, G., Vignali, M., & Seeber, R. (2011). Pedot modified electrodes in amperometric sensing for analysis of red wine samples. *Food Chemistry*, 129(1), 226–233.

Prieto, N., Gay, M., Vidal, S., Aagaard, O., de Saja, J. a., & Rodriguez-Mendez, M. L. (2011). Analysis of the influence of the type of closure in the organoleptic characteristics of a red wine by using an electronic panel. *Food Chemistry*, 129(2), 589–594.

Ramalhosa, E., Gomes, T., Pereira, A. P., Dias, T., & Estevinho, L. M. (2011). *Mead production tradition versus modernity*. *Advances in food and nutrition research* (1st ed., Vol. 63, pp. 101–18). Elsevier Inc.

Wei, Z., Wang, J., & Ye, L. (2011). Classification and prediction of rice wines with different marked ages by using a voltammetric electronic tongue. *Biosensors & bioelectronics*, 26(12), 4767–73.

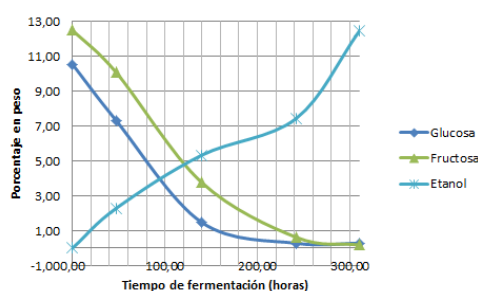


Figura 1. Comportamiento de la concentración de glucosa, fructosa y etanol

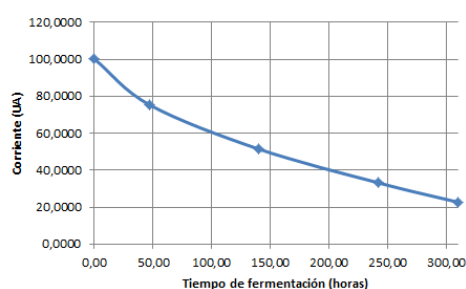


Figura 2. Comportamiento de corriente a lo largo del tiempo para electrodo de cobre

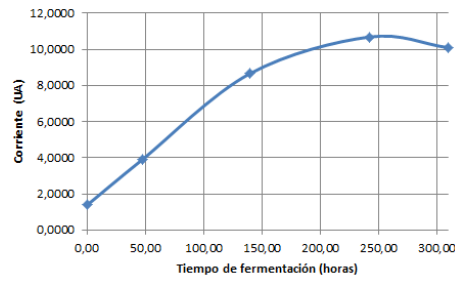


Figura 3. Comportamiento de corriente a lo largo del tiempo para electrodo de platino

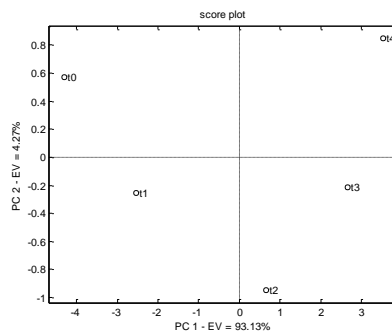


Figura 4. Score plot para monitoreo de fermentación de hidromiel

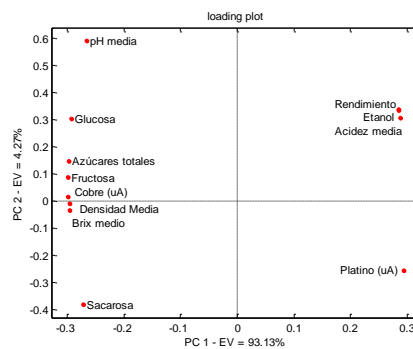


Figura 5. Loading plot para monitoreo de fermentación de hidromiel

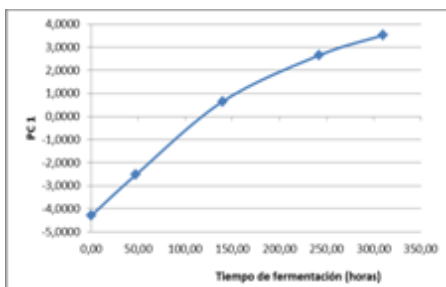


Figura 6. Comportamiento del primer componente principal a lo largo del tiempo

Tabla 1. Resultados obtenidos

Variable	R	RMSEC	Rcv	RMSEC cv	Ecuación
Azúcares Totales	0,995	0,669	0,946	2,186	$Y=16,3583+0,1078*Cu-1,7609*Pt$
Fructosa	0,991	0,469	0,919	1,427	$Y=7,8712+0,0643*Cu-0,8745*Pt$
Glucosa	0,992	0,373	0,959	0,852	$Y=11,6369+0,0024*Cu-1,1227*Pt$
Etanol	0,966	0,796	0,627	2,628	$Y=30,1001-0,2929*Cu-1,1588*Pt$

AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DE DIFERENTES MEMBRANAS POLIMÉRICAS COMERCIAIS NA DESSOLVENTIZAÇÃO DE ÓLEOS COMESTÍVEIS

MSc. Katia Rezzadori¹; Eng. Frederico Marques Penha¹; Eng. Mariane Carolina Proner¹; Dr. Marco Di Luccio¹; Dr. José Carlos Cunha Petrus¹

¹ Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Centro Tecnológico - Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC); Brasil

1 INTRODUÇÃO

O óleo de matérias-primas como a macaúba e a mamona, pode ser extraído pela combinação de prensagem mecânica com a extração por solventes orgânicos. Contudo, há as questões relacionadas à retirada do solvente, geralmente hexano, para que o óleo possa ser consumido e o solvente reutilizado.

A etapa de remoção de solventes é a mais crítica do processo, visto suas implicações econômicas, ambientais e de segurança. Atualmente, a remoção é realizada através de um processo de destilação e posterior condensação do solvente. No entanto, este procedimento envolve gastos energéticos elevados e eventual perda da qualidade dos óleos devido à necessidade de aquecimento. Este problema pode ser amenizado com o uso de membranas na dessolventização parcial de misturas de óleos vegetais com solvente. Assim, muitos estudos recentes na aplicação de membranas à tecnologia de óleos e gorduras têm focado na recuperação de solventes (COUTINHO et al., 2009; KOSEOGLU; ENGELGAU, 1990).

A tecnologia de membranas, como operação unitária, está largamente difundida na indústria, incluindo o setor de alimentos, onde se apresenta como alternativa aos processos tradicionais de recuperação de solventes e refino na indústria de óleos. Suas vantagens estão relacionadas às tecnologias limpas, como o baixo consumo de energia, segurança e redução no consumo de água (OCHOA et al., 2001). Apesar disso, progressos nesse campo são lentos, principalmente devido às membranas comerciais disponíveis serem produzidas principalmente para sistemas aquosos. Em sistemas não aquosos, a baixa estabilidade físico-química das membranas e o baixo fluxo permeado, são alguns dos fatores limitantes à aplicação desta tecnologia e que indicam a necessidade de mais pesquisas nesta área.

Assim, uma etapa de condicionamento é considerada essencial na permeação de solventes orgânicos em membranas poliméricas desenvolvidas para soluções aquosas. Entre os principais efeitos do pré-tratamento, destacam-se o efeito de agrupamento nos sítios hidrofílicos e hidrofóbicos na camada superficial da membrana, remoção de conservantes e

umectantes de sua superfície e de seus poros e aumento do fluxo permeado sem afetar significativamente a retenção. (GARCÍA et al., 2006).

Neste contexto, membranas poliméricas comerciais, sendo: 1 ultrafiltração (UF), 2 de nanofiltração (NF) e 2 de osmose inversa (OI) foram testadas na dessolventização de misturas dos óleos de macaúba e mamona, ambas com hexano. O desempenho das membranas foi avaliado através da medição do fluxo permeado e da retenção de óleo.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Especificação dos Materiais

2.1.1 Óleos

O óleo da amêndoa de macaúba foi adquirido da empresa Cocal Óleos Especiais Ltda. (Abaeté, Minas Gerais, Brasil). O óleo de mamona foi adquirido da Lafan Química Fina (Várzea Paulista, SP, Brasil). Ambos foram acondicionados em embalagens de vidro opacas e mantidos à temperatura ambiente.

2.1.2 Membranas

Cinco membranas comerciais foram estudadas, sendo uma de UF, duas de NF e duas de OI. As principais características de cada membrana, de acordo com informações dos fabricantes, estão descritas na Tabela 1.

Tabela 1: Características das membranas utilizadas nos experimentos.

Membrana	UP005	NF270	NP030	ORBW30	OR AK
Fabricante	Microdyn-Nadir	Dow Filmtech	Microdyn Nadir	Dow Filmtech	Osmonics
Material	PES	Poli(amida) TFC ^d	Poliétersulfona	Poli(amida)TFC ^e	Poliamida
MMC ^f (Da)	5	200-300	400	-	-
P máx (bar)	-	41	40	41	27
T máx (°C)	95	45	95	45	50
Faixa de pH	0 – 14	2-11	0-14	2-11	4-11
Rejeição (%)	91 - 98 ^a	> 97.0 ^b	80-97 ^c	99,5 ^d	99 ^d

^a Solute teste Dextran

^b Rejeição em MgSO₄ (25 °C; 4,8 bar)

^c Rejeição em Na₂SO₄ (20 °C; 40 bar)

^d Rejeição em NaCl (25 °C; 15,5 bar)

^e TFC: Thin film composite

^f MMC: Massa molar de corte

2.1.3 Solventes

Os solventes utilizados nos condicionamentos das membranas e na determinação dos fluxos permeados foram: etanol e *n*-hexano, sendo ambos de grau analítico (> 99%, Vetec, Brasil).

2.1.4 Equipamento de filtração

Os ensaios foram realizados em uma célula de filtração com capacidade de 140 mL, acoplada a um manômetro (1-40 bar) e a um cilindro de nitrogênio. A área efetiva de cada membrana testada foi de $2,624.10^{-3} \text{ m}^2$, utilizando-se filtração perpendicular.

A célula foi disposta sobre um agitador magnético e uma barra magnética suspensa colocada no interior. Para os testes de permeabilidade de solventes os ensaios foram realizados a temperatura ambiente. A pressão requerida foi ajustada pelo regulador de pressão do cilindro de nitrogênio (99,99 %, White Martins, Brasil). O permeado foi coletado através de uma válvula esfera *on/off* (Swagelok, modelo SS-42GS4) localizada na parte inferior da célula, em proveta com graduação compatível com a intensidade do fluxo permeado.

2.2 Procedimentos experimentais

2.2.1 Condicionamento

Primeiramente todas as membranas foram imersas em água destilada por 24 h para eliminação de possíveis resíduos originados de sua fabricação que podem afetar a permeação de solvente. As membranas foram imersas em etanol durante 2 h e, na sequência, por mais 2 h em hexano, para posterior permeação da mistura óleo/solvente.

2.2.2 Produção e permeação das misturas de óleo de macaúba e mamona em hexano

As misturas de óleo de macaúba e mamona em hexano foram produzidas em proporções diferentes óleo/hexano (m/m): 1:3 e 1:20, respectivamente.

Após o condicionamento, as membranas foram acopladas à célula de filtração e esta foi preenchida com a mistura óleo: hexano. Para cada tipo de membrana foi utilizada uma pressão de trabalho: 10 bar para a UP005; 20 bar para NF270 e NP030; e 45 bar para BW30 e ORAK. A mistura óleo macaúba: hexano foi utilizada para a membrana de UF, enquanto que a mistura óleo mamona: hexano, para as membranas de NF e OI. Amostras de fluxo permeado foram coletadas a cada 5 minutos por até 100 minutos.

Após a pesagem final dos frascos, foi possível calcular o percentual de retenção de óleo para cada membrana. Este cálculo foi realizado conforme diversos autores (PAGLIERO et al., 2011; TSUI; CHERYAN, 2004), utilizando-se a equação abaixo:

$$R(\%) = \left(1 - \frac{C_P}{C_R}\right) \times 100$$

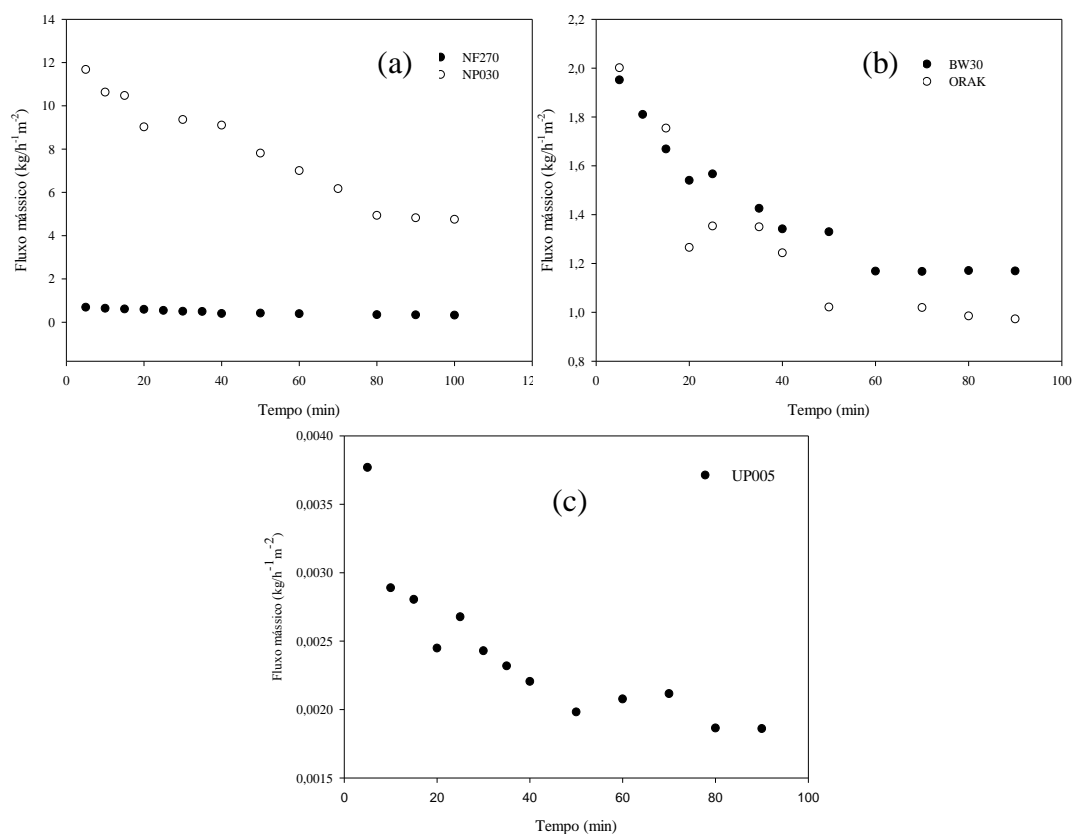
onde, C_P é a concentração de óleo no permeado e C_R é a concentração de óleo no retido.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As curvas de fluxo permeado em relação ao tempo estão apresentadas na Figura 1, para cada membrana investigada. As curvas apresentaram comportamento similar para quase todas as membranas estudadas, com exceção da NF270. Elas apresentam-se em três fases distintas: uma redução acentuada nos primeiros 30 minutos, seguida de uma desaceleração na taxa de redução e uma tendência à estabilização. Comportamentos semelhantes foram observados por Araki et al. (2010), Manjula et al. (2011) e Pagliero et al. (2011) em membranas poliméricas de ultra e nanofiltração.

Essa redução inicial pode ser atribuída à formação de camada polarizada na superfície das membranas. Na maioria dos casos, a estabilização dos fluxos permeados pode ser observada após 60 minutos de permeação. De forma diferente, a membrana NF270 apresentou o fluxo praticamente constante durante o processo.

Figura 1: Curva de fluxo permeado vs. tempo de filtração para as membranas (a) NF270 e NP030; (b) BW30 e ORAK; e (c) UP005.



Observa-se também pela Figura 1 que o maior fluxo permeado foi encontrado para a membrana NP030, com valores médios de aproximadamente $8,5 \text{ kg}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$. Fluxos menores foram encontrados para as membranas ORAK ($1,5 \text{ kg}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$); BW30 ($1,3 \text{ kg}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$), NF270 ($0,5 \text{ kg}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$) e UP005 ($0,0024 \text{ kg}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$). Os maiores fluxos permeados eram esperados para as membranas de UF e NF, uma vez que estas apresentam maior tamanho de poro nominal. Contudo, as membranas UP005 e NF270 apresentaram fluxos muito baixos, inclusive menores que os fluxos obtidos para as membranas de OI.

Quanto à membrana UP005, este comportamento pode estar relacionado à ocorrência de inchamento (*swelling*). Segundo Buonomenna et al. (2011), diferentemente do comportamento das membranas densas, o *swelling* em membranas porosas resulta no inchamento da matriz polimérica, com conseqüente estreitamento dos poros, reduzindo a permeabilidade da membrana. Porém, embora haja um encolhimento destes poros, eles continuam sendo o principal transporte de massa, minimizando a influência da difusão através da matriz polimérica constituinte da membrana.

Por outro lado, o baixo fluxo permeado apresentado pela membrana NF270, pode estar relacionado ao seu caráter hidrofílico (ângulo de contato $\cong 30^\circ$ - Mänttari et al., 2004). Assim, desde o início da permeação da mistura de óleo de mamona e hexano, o gradiente de polaridade entre membrana e mistura pode levar a uma rápida formação de camada polarizada, com conseqüente redução do fluxo permeado, como observado na Figura 1 (a).

Dessa forma, evidencia-se que em sistemas não aquosos, a permeabilidade não depende apenas da MMCO, mas também está fortemente associada à polaridade da membrana e do solvente utilizado, sendo que estes podem determinar o fluxo permeado através da membrana (Firman et al., 2013). Conforme relatado por Pagliero et al. (2011) e Firman et al. (2013), aumentos no fluxo permeado podem ser alcançados com o uso de temperaturas mais elevadas, com conseqüente diminuição da viscosidade das misturas.

Além dos fluxos permeados, o desempenho das membranas também foi avaliado em função da capacidade de retenção de óleo. Na Tabela 2, estão apresentados os valores médios de retenção para o óleo de mamona.

Tabela 2: Valores médios de retenção das membranas estudadas

Membrana	UP005	NF270	NP030	BW30	ORAK
Retenção de óleo (%)	35,0	46,5	55,9	49,2	59,0
Tipo de óleo	Macaúba	Mamona	Mamona	Mamona	Mamona

Observou-se que a retenção das membranas variou de acordo com o tipo de membrana e, também, discretamente com o tempo de processo. A maior retenção foi observada para a membrana ORAK, condizente com sua MMCO. Contudo, observa-se que a retenção da membrana BW30 foi inferior à membrana de NF NP030. Diferentemente, as membranas UP005 e NF270 apresentaram o menor fluxo permeado e a menor retenção de óleo. Segundo Tres et al. (2010) este fato pode estar ligado a efeitos como *swelling* e a plastificação, que provocam a redução da seletividade das membranas.

A melhor relação fluxo permeado/retenção foi alcançada com a membrana NP030, indicando que esta pode ser estável à permeação de solventes orgânicos, com desempenho funcional aceitável para o tempo de permeação estudado. Em estudos realizados por Darvishmanesh et al. (2011), com membranas resistentes à solventes orgânicos (SRNF - STARMEMTM122 and SOLSEP NF030306), foram encontradas retenções de óleo de soja de 38 % e fluxos permeados de $0.55 \text{ kg}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$. Estes valores são menores que os encontrados

neste trabalho, indicando que, as membranas estudadas têm potencial para sistemas não aquosos, mesmo não tendo sido desenvolvidas para essa finalidade.

4 CONCLUSÃO

As membranas estudadas mostraram um comportamento e intensidade de fluxo esperado e compatível com outros estudos encontrados na literatura. Os fluxos de permeado não se correlacionaram com as MMCO, visto que os maiores fluxos foram encontrados para as membranas NP030, ORAK e BW30, evidenciando a necessidade de estudos específicos para cada membrana em sistemas não aquosos, em função da ampla gama de fatores que afetam a permeação de solventes orgânicos em membranas poliméricas. A membrana NP030 apresentou boa relação entre fluxo permeado e retenção, indicando potencial para aplicação industrial na dessolventização parcial de óleos vegetais. Finalmente, constata-se pelos resultados apresentados no presente trabalho, bem como em outros encontrados na literatura, que existe um potencial na utilização destas membranas para a dessolventização de óleos, mas que ainda é necessário investir no aperfeiçoamento destas membranas ou no desenvolvimento de novas membranas com maior desempenho na retenção dos óleos para que o processo se torne industrialmente viável.

5 BIBLIOGRAFIA

- Araki, M.S., Coutinho, C.M., Gonçalves, L.A.G., Viotto, L.A., Solvent permeability in commercial ultrafiltration polymeric membranes and evaluation of the structural and chemical stability towards hexane. *Separation and Purification Technology*, v. 71, p. 13 - 21, 2010.
- Buonomenna, M.G., Golemme, G., Jansen, J.C., Choi, S.H. Asymmetric PEEKWC membranes for treatment of organic solvent solutions. *Journal of Membrane Science*, v. 368, p.144-149, 2011.
- Coutinho, C.M., Chiu, M.C., Basso, R.C., Ribeiro, A.P.B., Gonçalves, L.A.G., Viotto, L.A. State of art of the application of membrane technology to vegetable oils: A review. *Food Research International*, v.42, p.536-550, 2009.
- Darvishmanesh, S., Robberecht, T., Degrève, J., Van der Bruggen, B. Performance of nanofiltration membranes for solvent purification in the oil industry . *Journal of the American Oil Chemists' Society*. v.88, p.1255–1261, 2011.
- Firman, L.R., Ochoa, N.A., Marchese, J., Pagliero, C.L. Deacidification and solvent recovery of soybean oil by nanofiltration membranes. *Journal of Membrane Science*, v.431, p.187-196, 2013.

García, A., Álvarez, S., Riera, F., Álvarez, R., Coca, J. Sunflower oil miscella degumming with polyethersulfone membranes: Effect of process conditions and MWCO on fluxes and rejections. *Journal of Food Engineering*, 74: 516–522, 2006.

Koseoglu, S.S., Engalgau, D.E. Membrane applications and research in the edible oil industry. *Journal of American Oil Chemists' Society*. 67, 239-249,1990.

Manjula, S., Nabetani, H., Subramanian, R. Flux behavior in a hydrophobic dense membrane with undiluted and hexane-diluted vegetable oils, *Journal of Membrane Science*, 2011.

Mänttari, M., Pekuri, T., Nyström, M. NF270, a new membrane having promising characteristics and being suitable for treatment of dilute effluents from the paper industry. *Journal of Membrane Science*, v. 242, p.107-116, 2004.

Ochoa, N., Pagliero, C., Marchese, J., Mattea, M. Ultrafiltration of vegetable oils. Degumming by polymeric membranes. *Separation and Purification Technology*, 23, 417–422, 2001.

Pagliero, C., Ochoa, N. A., Martino, P., Marchese, J. Separation of Sunflower Oil from Hexane by Use of Composite Polymeric Membranes, *Journal of the American Oil Chemists' Society*. v.88, p.1813-1819, 2011.

Tres, M.V., Ferraz, H.C., Dallago, R.M., Di Luccio, M., Oliveira, J.V. Characterization of polymeric membranes used in vegetable oil/organic solvents separation. *Journal of Membrane Science*, v.362, p.495-500, 2010.

Tsui, E., Cheryan, M.; Characteristics of nanofiltration membranes in aqueous ethanol, *Journal of Membrane Science*, v. 237, p.61-69, 2004.

PROPIEDADES FÍSICAS Y ANTIFUNGICAS DE FILMS DE ALMIDÓN-GELATINA CON ACEITES ESENCIALES

Sandra Acosta (*), Chelo González-Martínez(*), Josefa Rosello Caselles (), María Pilar Santamarina Siurana (**), Amparo Chiralt (*), Maite Cháfer (*)**

(*) Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural de la Universidad Politécnica de Valencia. Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos para el desarrollo. Camino de Vera, s/n 46022 Valencia – España. Telf.: 963879833 ext. (79833) mtchafer@tal.upv.es ; cgonza@tal.upv.es ; dchiralt@tal.upv.es ; sanacda@alumno.upv.es

(**) Departamento de Ecosistemas Agroforestales. Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y Medio Rural. Universidad Politécnica de Valencia. Camino de Vera, s/n 46022 Valencia – España. Telf.: 963877414 ext. (74140- 74142) mpsantam@eaf.upv.es ; jrosello@upvnet.upv.es

INTRODUCCION

Los polisacáridos, y en concreto los almidones, son una de las materias primas más utilizadas para obtener films por su bajo coste y gran disponibilidad. Su poca barrera al agua y pobres propiedades mecánicas son su principal limitación. La mezcla de polisacáridos y proteínas puede mejorar algunas de estas propiedades (Pranoto et al., 2007). En concreto, Hassan y Norziah 2012 consiguieron mejorar las propiedades mecánicas de films de almidón, incorporando gelatina. En este mejora será clave la optimización del ratio almidón:gelatina.

Otros compuestos que pueden mejorar las propiedades de estas matrices poliméricos, aportando una actividad antimicrobiana (antibacteriana y antifúngica) a los films, son los aceites esenciales. Su incorporación a estas matrices permitiría desarrollar diferentes formas de aplicación de bajo coste como el control postcosecha en frutas tropicales. En estas frutas son frecuentes las pudriciones causadas por los hongos del género *Fusarium* y *Colletotrichum*. Estudios realizados por Pelissari et al. (2009) en matrices de almidón de yuca y quitosano con aceite esencial de orégano, mostraron un gran efecto antibacteriano. En cuanto al efecto antifúngico, Rozwalka et al. (2010), encontraron en frutas de banano y guayaba un buen control de los conidios de los mohos *Colletotrichum Gloeosporiodes* y *Colletotrichum Musae* con los aceites esenciales tomillo, palmarosa, clavo, canela y citronela. Barrera y García (2008) describieron la efectividad contra el *Fusarium sp.* aislado de los aceites esenciales tomillo, canela, clavo y epazote. Los aceites incorporados tendrán además un efecto sobre las otras propiedades de los films dependiendo de diferentes factores como el tipo de matriz, la composición y dosis de aceite esencial incorporado (Sanchez et al., 2011).

El objetivo del presente estudio es analizar el efecto de la incorporación, con fines antifúngicos, de aceites esenciales de canela, clavo y orégano, en las propiedades físicas asociadas a la funcionalidad (barreras, mecánicas y ópticas) de films de yuca-gelatina (proporción 1:1), así como el análisis de la actividad antifúngica de los films contra dos hongos causantes de plagas en productos vegetales: *Colletotrichum gloesporoides* (CG) y *Fusarium oxysporum* f.sp. *gladiolo* (FOG).

MATERIALES Y METODOS

Materias primas

Las materias primas utilizadas fueron el almidón de yuca procedente de Asia almidón modificado CO, LDT (Kalasin, Tailandia) y proporcionada por Quimidroga SA (Barcelona, España); gelatina de piel bovina tipo A (Bloom 220-240 °) procedente de Gelatinas Alimenticias Sancho de Borja, S.L. (Zaragoza, España), y glicerol proporcionado por Panreac Química, SA (Barcelona-España). Los aceites esenciales utilizados fueron de orégano, clavo de hojas y la canela procedente de la corteza, adquiridos a Herbes del Moli (Benimarfull, Alicante, España). El cultivo madre de *Colletotrichum gloesporoides* (CG) fue aislado de naranjo de Valencia (España) y proporcionado por Grupo de Investigación de Hongos Fito patógenos del Instituto Agroforestal Mediterráneo de la Universidad Politécnica de Valencia. El *Fusarium oxysporum* f.sp. *gladiolo* (FOG) CECT 2868 de la Colección Española de Cultivo Tipo (CECT, Burjassot, Spain). Estos se mantuvieron congelados, en Agar Patata Dextrosa (PDA, Scharlab, Barcelona, Spain), luego fueron encubados a 25°C hasta su esporulación, y se utilizaron a los 7 días de crecimiento activo.

Preparación y acondicionamiento de las películas

La formulación de almidón de yuca (S), gelatina (G) y glicerol contenía un 1 % de cada uno de los polímeros (Proporción S:G 1:1) y una proporción polímeros:glicerol 1:0,25. Las dispersiones de ambos polímeros se prepararon por separado y posteriormente se mezclaron y se incorporó el glicerol. La dispersión de almidón se mantuvo, bajo agitación, a 95° C x 30 minutos para inducir la gelatinización. La dispersión de gelatina se mantuvo con agitación a 80° C x 30 min. Posteriormente, la mezcla se homogeneizó La homogenización se realizó durante 4 minutos a 12.800 r.p.m. utilizando un Ultra-Turrax Blue IKA-T25 Digital. En las formulaciones con Los aceites esenciales, se incorporaron en proporción 1:0,25 (polímero: aceite). Las cantidades correspondientes se añadieron a la dispersión polimérica a y fueron adicionadas antes de la homogenización. Se prepararon formulaciones con tres

aceites esenciales de canela (C), clavo (CL), y orégano (O). Los films se obtuvieron por extensión de la dispersión formadoras del film, sobre una placa de teflón (150 mm de diámetro interno), ajustando el peso vertido a por placa para alcanzar 1,5 g de sólidos totales, y posterior secado por convección natural durante aproximadamente 48 h en condiciones ambientales. Los films, una vez secos se separaron de la placa y se acondicionaron a 52,8 % HR y 25°C

Caracterización de los films

Las propiedades mecánicas de los films se determinaron con una prensa universal de ensayos mecánicos (Stable Micro Systems, TA.XT plus, Haslemere, England) de acuerdo al método estándar D882 (ASTM, 1992). Para cada formulación, se cortaron 8 muestras rectangulares (25 mm por 100 mm). Los films se montaron en unas pinzas para ensayos de tensión (modelo A/TG, Stable Micro System, Haslemere, England). La separación inicial de las pinzas y la velocidad de elongación del film fueron de 50 mm y 50 mm·min⁻¹, respectivamente. Las curvas fuerza-distancia obtenidas en el ensayo se transformaron en curvas de tensión (σ)-deformación de Henky (ϵ_H) que permitieron obtener los parámetros mecánicos módulo de elasticidad (ME), tensión de fractura (TS) y deformación hasta el punto de fractura (E).

La permeabilidad al vapor de agua se determinó según una modificación del método gravimétrico ASTM E96-95 (Mc Hugh *et al.*, 1993) para un gradiente de humedad relativa 52,8-100 % a 25°C. Las muestras (4 por formulación) fueron montadas entre la base y la tapa de una copa de aluminio de 3.5 cm de diámetro (Payne, elcometer SPRL, Hermelle/s Argenteau, Bélgica). El estudio de la permeabilidad se realizó mediante controles de peso de cada copa con una balanza electrónica (± 0.00001 g) (ME36S Sartorius, Alemania) a intervalos de 1,5 horas. La transmisión de vapor de agua se determinó a partir de la pendiente obtenida en el análisis de regresión de los datos del peso frente al tiempo, dividido por el área del film, una vez alcanzado el estado estacionario.

La permeabilidad al Oxígeno se determinó por medio de un sistema de medida de la transmisión de oxígeno (Ox-Tran 1/50 Mocon, Minneapolis, USA) a 25°C (ASTM Standard Method D3985-95, 2002) y 53% de humedad relativa. Las muestras (50 cm²) se colocaron en una celda y neumáticamente fue ubicada en el lugar del equipo para llevar a cabo el ensayo. Para ello, los films se expusieron a una corriente de nitrógeno por una cara y por la otra a una corriente de oxígeno puro. Un sensor registra el oxígeno permeado y el ratio de transmisión de oxígeno se calcula teniendo en cuenta la cantidad de oxígeno y el área de la muestra. La

permeabilidad al oxígeno se calculó dividiendo la tasa de transmisión de oxígeno entre la diferencia de presión parcial de oxígeno en las dos caras del film, y multiplicando por el espesor medio del film. Cada muestra se evaluó por duplicado.

La opacidad de los films se determinó aplicando la teoría de Kubelka-Munk de dispersión múltiple a los espectros de reflexión (Hutchings, 1999). Los espectros de reflexión sobre fondo blanco y fondo negro se determinaron con un espectro colorímetro MINOLTA, modelo CM-3600d (Minolta CO. Tokyo, Japan). Las determinaciones se realizaron sobre la cara del film que había estado en contacto con el aire durante el secado, y los análisis se realizaron por triplicado. Para la medida del brillo se utilizó un Brillómetro Multi-Gloss 268, MINOLTA y se realizaron las medidas a un ángulo de incidencia de 20, 60 y 85° respecto a la normal sobre un fondo negro estándar.

El análisis de la microestructura se realizó tras equilibrar los films en P₂O₅ en un microscopio electrónico de barrido JEOL®, (modelo JSM-5410, Japón). Las muestras se montaron en un soporte de cobre de tal forma que permitían observar la sección transversal y la superficie de las muestras. Éstas se cubrieron de oro con el fin de hacerlas conductoras y fueron observadas directamente con un voltaje de aceleración de 11 KV.

Las propiedades antifúngicas de los films se determinaron por el método de difusión en agar para un disco de film de 2.4 cm de diámetro. Se preparó una suspensión de esporas de 5×10^6 ufc/mL en agua con Tween 80 (0.1%), a partir de colonias de 7 días en crecimiento activo en medio PDA para cada uno de los hongos. Una vez repartido en placas se deja solidificar y a continuación se depositó el disco de film de 2.4 cm de diámetro. Las lecturas se realizaron midiendo el diámetro del halo de inhibición a las 48 y 72 horas. Se realizaron 6 repeticiones por tratamiento más testigo sin film.

Análisis estadístico

Los resultados fueron analizados mediante un análisis de la varianza (ANOVA) mediante el software Statgraphics plus® versión 5.1, utilizando un nivel de significación del 95%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Microestructura de los films

En la figura 1 se muestran las micrografías del corte transversal de los diferentes films. Los films control (S-G) muestran zonas de alineación de las cadenas de los polímeros, embebidas en una matriz amorfa de almidón. Estas zonas fibrosas han sido descrito en

trabajos previos de films de gelatina y se corresponden con zonas de asociación de cadenas a través regiones helicoidales de las cadenas de gelatina (Hassan y Norziah, 2012). La incorporación de aceites esenciales dio lugar a una mayor heterogeneidad de la estructura, donde se observan numerosas cavidades correspondientes a la posición de las gotas del aceite esencial, el cual evapora parcialmente en la superficie crio-fracturada durante la observación por SEM debido al alto vacío. El aspecto de los films con aceites esenciales es similar al descrito en trabajos previos para films de quitosano y HPMC con aceites esenciales (Sanchez-Gonzalez et al., 2011) y en films de gelatina (Mehraj et al., 2012), almidón de yuca (Kechichian et al., 2010).

Propiedades barreras y pérdidas de aceite esencial de los films

En la tabla 1, se observan los valores promedio de permeabilidad al vapor de agua (PVA) y al oxígeno (PO) de los films almidón-gelatina, con y sin AE, equilibrados a 53% de H.R. y 25°C. Además se incluyen, los valores promedio de la pérdida de aceite esencial durante el secado de los films, evaluados a través de la pérdida de peso de los sólidos totales inicialmente extendidos para la formación del film. Estos resultados muestran que los films con AE de orégano son los que más peso pierden ($p < 0.005$) durante el secado (66%), en comparación con los de otros films, con aceite de clavo y canela.

La incorporación de los AE a los films de gelatina-almidón provocó un descenso de la permeabilidad al vapor de agua, como cabe esperar por el incremento del carácter hidrófobo. No se encontraron diferencias significativas en los valores de la PVA entre los films de los diferentes AE. La reducción en los valores de la PVA al incorporar aceites esenciales a matrices de HPMC y quitosano (Sánchez-González et al., 2011) y a matrices de almidón de yuca (Kechichian et al., 2010), ha sido descrita en trabajos previos.

Los valores de la PO también mostraron un descenso significativo con la incorporación los AE respecto a los valores del film control, sin diferencias significativas entre el efecto de los distintos aceites. La incorporación de lípidos líquidos supone en general un aumento en la permeabilidad al oxígeno de los films por la mayor solubilidad del gas en la fase lipídica (Fabra et al., 2012).

Propiedades mecánicas y ópticas

Los valores de los parámetros mecánicos de los diferentes films compuestos, con y sin AE, se muestran en la tabla 2. En general, los resultados obtenidos muestran pocos cambios en las propiedades mecánicas por efecto de la incorporación de los AE. Los valores del

módulo de elasticidad (ME), y la tensión (TS) y elongación (%E) en el punto de fractura no son significativamente diferentes entre el film control y los films con los diferentes aceites.

En estudios previos, se han observado efectos diversos de la incorporación de AE a matrices poliméricas. En general, los resultados apuntan a que el efecto de los aceites esenciales en las propiedades mecánicas de los films depende del tipo y concentración de AE, del tipo de matriz polimérica y de las interacciones específicas entre componentes (Mehraj et al., 2012), así como de la forma de mezclado que a su vez, determina el área efectiva de interacción entre componentes en la interface. La escasa modificación en las propiedades mecánicas de los films de almidón-gelatina por la incorporación de los aceites en las proporciones utilizadas, pone de manifiesto que estas son adecuadas para mantener el comportamiento mecánico los films en relación al film control sin detectarse efectos negativos.

En la tabla 2, se incluyen los valores de las propiedades ópticas evaluadas en los films. El brillo de las películas está ligado a la morfología de su superficie (Sánchez-González et al., 2010) y, en general, cuanto más lisa - menos irregular, menos rugosa - es la superficie, más brillante es el film. Los valores de brillo obtenidos indican que, la incorporación de los AE disminuye el brillo en comparación con el film control. Los AE introducen irregularidades estructurales, por la baja compatibilidad y miscibilidad de estos componentes con la matriz.

Los films control, presentan valores de transparencia, evaluados a través de T_i , menores (más opacos) que los que contienen AE a pesar de poseer una fase dispersa de aceite que podría contribuir a la dispersión de luz y al aumento de su opacidad como se ha observado en estudios previos (Sánchez-González et al. 2011). Sin embargo en los films de almidón-gelatina, los valores de T_i aumentaron significativamente con la incorporación de AE, con independencia del tipo de aceite. Esto podría explicarse por el hecho de que en la matriz de los films control ocurren fenómenos de re-cristalización del almidón y de la gelatina que pueden incrementar en gran medida su opacidad. Jiménez et al., 2012, observaron un descenso en la transparencia y brillo de films de almidón de maíz durante el almacenamiento atribuido al progreso de cristalización de la amilosa. La presencia de los aceites podría contribuir a limitar estos fenómenos de cristalización, dando lugar a films más transparentes.

Propiedades antifúngicas

En la Tabla 3 se muestran los resultados de la evaluación de la efectividad antifúngica de los films con aceites esenciales, evaluadas a través del diámetro del halo de inhibición en el crecimiento de los dos hongos CG y FOG, a las 48 horas y a las 72 horas de incubación. Este diámetro se midió desde el centro del film, de 2.4 cm, hacia el exterior de las placas Petri. Se utilizaron placas control (sin film) para comparar el crecimiento de los hongos. Los resultados indicaron que a las 24 h había un crecimiento equivalente a 2/3 de la superficie de la placa. A las 72 h, toda la superficie quedó cubierta por el hongo. Los resultados muestran que los tres aceites son efectivos contra el crecimiento de los hongos como se ha descrito en trabajos previos (Barrera y García, 2008; Rozwalka et al., 2010). En general este efecto fue mayor en los films que incorporaban aceite de canela, en especial contra el FOG, y menor en los que tenían aceite de orégano. Con el moho CG, los films con AE de clavo fueron los que mostraron mayor efectividad.

CONCLUSIONES

La incorporación de aceites esenciales de corteza de canela, y hoja de clavo y orégano a films de almidón de yuca-gelatina en proporción 1:1, para impartirles carácter antifúngica, fue efectiva, obteniendo una retención del 35-45 % del aceite, incorporado a la dispersión formadora de film, en los films obtenidos por extensión y secado de dicha dispersión. Los aceites incorporados aparecen como fase dispersa en la matriz polimérica por su falta de miscibilidad. Su presencia dio lugar a una reducción significativa de la permeabilidad al vapor de agua de los films de almidón-gelatina, una reducción del 17- 30 % de la permeabilidad al oxígeno, dependiendo del tipo de aceite, y un aumento de su transparencia, sin provocar efectos negativo en su comportamiento mecánico, aunque provocó un descenso de su brillo. Los films con los aceites esenciales presentaron una notable actividad antifúngica con los dos hongos ensayados, especialmente el de aceite de canela contra *Fusarium oxysporum f.sp. gladiolo* y el de aceite de clavo contra *Colletotrichum gloesporoides*.

REFERENCIAS

Barrera Necha L. y GarcíaBarrera L. (2008), Actividad antifungica de aceites esenciales y sus compuestos sobre el crecimiento dew *Fusarium sp.* aislado en papaya. Revista UDO Agrícola 8 (1): 33-44

- Fabra, M. J., Talens, P., & Chiralt, A. (2010a). Water sorption isotherms and phase transitions of sodium casein lipid films as affected by lipid interactions. *Food Hydrocolloids*, 24, 384e391
- Hassan A.A., Norziah M.H. (2012). Starch-gelatin edible films: wáter vapor permeability and mechanical properties as affected by plasticizers. *Food Hydrocolloids* 26, 108-117
- Hutchings, J. B. (1999). *Food color and appearance* (2nd ed.). Gaithersburg, Maryland, USA: Aspen Publishers, Inc.
- Jimenez A., Fabra MJ., Talens P., Chiralt A., (2012) Edible and Biodegradable starch films: A review. *Food Bioprocess Technol.* DOI 10.1007/s11947-012-0835-4.
- Kechichian Viviane, Ditchfield Cynthia, Veiga-Santos Pricila, Tadini Carmen C., (2010). Natural Antimicrobial ingredients incorporated in biodegradable films. *Food Science and Tecnology*. 43 (1088-1094)
- Mehraj Ahmad, Soottawat Benjakul, Thummanoon Prodpran, Tri Winarni Agustini. (2012). Physico-mecanical and antimicrobial properties of gelatin film from the skin of unicorn leatherjacket incorporated with essential oils. *Food Hydrocolloids*, 28 (189-199) .
- Mc Hugh, T. H., Avena-Bustillos, R., & Krochta, J. M. (1993). Hydrophobic edible films: modified procedure for water vapour permeability and explanation of thickness effects. *Journal of Food Science*, 58(4), 899e903.
- Pelissari F., Grossmann M., Yamashita F., Pineda E. (2009). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Antimicrobial, Mechanical and Barrier Properties of cassava starch-chitosan films incorporated with oregano essential oil. 57, 7499-7504.
- Pranoto Y. LeemC.M. & Park H.J. (2007) Characterizations of fish gelatin films added with gellan and K-carrageenan. *LWT e Food Science and Technology*, 40(5), 766e774.
- Rozwalka Lousiana C., Alves E. y Carvalho do Amaral (2010), Ultrastructural study of conidia of *Colletotrichum gloesporioides* and *Colletotrichum Musae* treated with essentials oil. *Interciencia*. vol. 35 N° 12.
- Sánchez-González, L., Chiralt, A., González-Martínez, C., & Cháfer, M. (2011). Effect of essential oils on properties of film forming emulsions and films based on hydroxypropylmethylcellulose and chitosan. *Journal of Food Engineering*, 105, 246e253.
- Sánchez-González, L., González-Martínez, C., Chiralt, A., & Cháfer, M. (2010). Physical and antimicrobial properties of chitosane tea tree essential oil composite films. *Journal of Food Engineering*, 98(2010), 443e452.
- Sanchez T., Dupour D., Moreno I.X., Cebaloos H. (2010). Comparison of pasting and stabilities of waxy and normal starches from potato, maize, and rice with those of a novel waxy cassava starch under thermal, chemical and mechanical stress. *Journal of Agricultural and food chemistry*. 58, 5093-5099.

Tabla 1.- Propiedades barrera y pérdida de aceite esencial durante la etapa de secado en films almidón-gelatina (50S-50G), con y sin AE de canela (C), clavo (CL), orégano (O), equilibrados a 53% de H.R. y 25°C. Valores medios, desviaciones y resultados del ANOVA.

Film	PVA (g.mm/kPa.h.m ²)	PO 10 ⁻¹³ (cm ³ /m.seg.Pa)	Perdida de aceite (1)
50S-50G	5,9(0,4)a	0,52(0,10)a	-
50S-50G-C	4,2(0,2)b	0,39(0,02)b	59(4)b
50S-50G-Cl	4,2(0,2)b	0,43(0,02)b	56(2)b
50S-50G-O	4,6(0,4)b	0,358(0,005)b	66(4)a

(1) Porcentaje de pérdida durante el secado del film respecto a la cantidad inicial incorporada en la dispersión formadora de film

a, b, Diferentes superíndices dentro de una columna indican diferencias significativas entre formulaciones diferentes para un mismo tiempo. (p < 0.05).

Tabla 2.- Propiedades mecánicas y ópticas de los films almidón-gelatina (50S-50G), con y sin AE de canela (C), clavo (CL), orégano (O), equilibrados a 53% de H.R. y 25°C. Valores medios, desviaciones y resultados del ANOVA.

Film	ME(MPa)	TS(MPa)	E(%)	Ti 480nm	Brillo 60°
50S-50G	627(54)ab	24(2)a	14(4)ab	81(0,04)a	37(4)a
50S-50G-C	775(119)b	25(2)ab	8(3)a	91(0,5)b	12(2)d
50S-50G-Cl	642(71)ab	25(3)ab	17(3)b	90(0,4)b	17(3)c
50S-50G-O	612(213)a	22(2)b	12(3)ab	92(0,4)b	23(4)b

a,b,c,d, Diferentes superíndices dentro de una columna indican diferencias significativas entre formulaciones diferentes para un mismo tiempo. (p < 0.05).

Tabla 3.- Halo de inhibición de los diferentes films para *Fusarium oxysporum* f.sp. *gladiolo* (FOG) y *Colletotrichum gloeosporoides* (CG) a las 48 y 72 horas de incubación en contacto con la placa. Valores medios, desviaciones y resultados del ANOVA.

Film	Halo de inhibición en el crecimiento del hongo (mm)			
	FOG2 a las 48 h	FOG2 a las 72 h	CG a las 48 h	CG a las 72 h
50S-50G-C	57(4)a	48(2)a	49(3)a	38(3)a
50S-50G-Cl	49(2)b	46(2)a	52(2)a	45(2)b
50S-50G-O	42(3)c	36(2)b	41(7)b	30(7)c

a, b, c, Diferentes superíndices dentro de una columna indican diferencias significativas entre formulaciones diferentes para un mismo tiempo de almacenamiento.(p < 0.05).

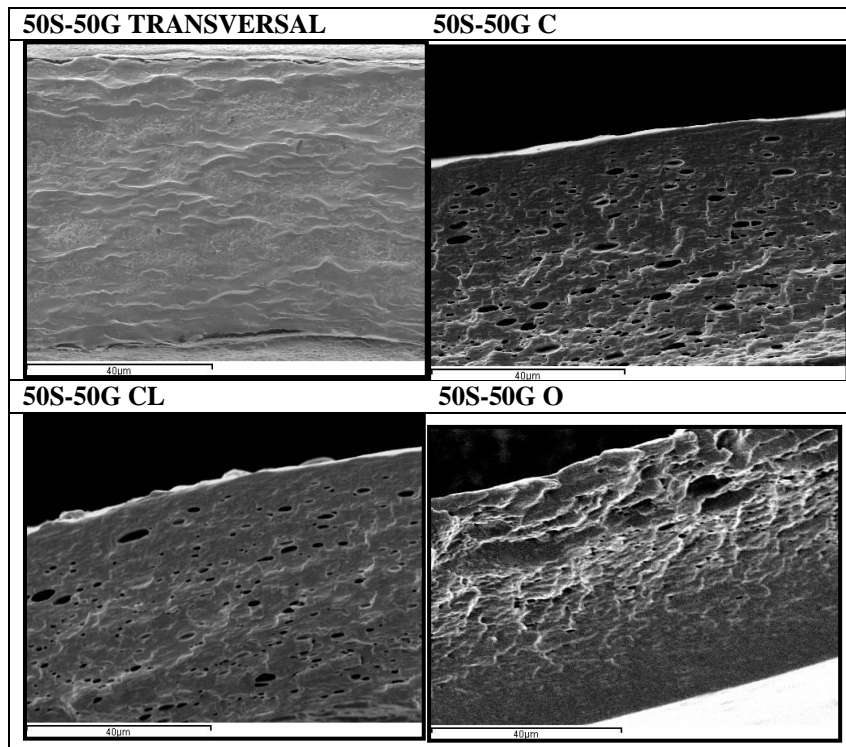


Figura 1. Observaciones microestructurales (SEM) de secciones transversales de films almidón-gelatina (50S-50G), sin y con AE de canela (C), clavo (CL) y orégano (O), equilibrados a 53% de H.R. y 25°C.

APLICACIÓN DE UN RECUBRIMIENTO COMESTIBLE PARA AUMENTAR LA VIDA ÚTIL EN CARNE DE POLLO.

Acevedo, N^a; Riquelme, N^a; Matiacevich, S^a.

^aDepartamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Facultad Tecnológica. Universidad de Santiago de Chile. Obispo Umaña 050. Estación Central. Santiago. Chile. Tel: +56 2 2718 4517. E-mail: silvia.matiacevich@usach.cl

1.INTRODUCCIÓN.

Los productos cárnicos avícolas, poseen una vida útil corta (7 días aprox.) a 4°C (Mexis y col., 2012; Chouliara y col., 2007), ya que son susceptibles a la oxidación de lípidos y al deterioro microbiano, debido a sus características de pH, a_w , entre otros (Fennema, 2000; Chouliara y col, 2007; Fellenberg, 2011). La aplicación de recubrimientos comestibles en alimentos para extender su vida útil y mejorar sus propiedades, es una tecnología muy reciente, por lo cual es necesario seguir estudiándola. Por lo tanto, para prevenir los problemas de deterioro en la carne de pollo y responder a la creciente demanda de los consumidores en preferir productos mínimamente procesados, la aplicación de recubrimientos comestibles a base de compuestos naturales es una buena alternativa. El objetivo de este estudio fue evaluar la capacidad de aumentar la vida útil mediante un recubrimiento comestible a base de alginato con la adición de un antimicrobiano y un antioxidante y sus mezclas, en carne de pollo durante su almacenamiento.

2. MATERIALES Y MÉTODOS.

2.1. Preparación de las suspensiones.

Se prepararon suspensiones filmogénicas a base de alginato, sorbitol, CaCO₃, Tween20: aceite de tomillo, ácido propiónico y/o sus mezclas (Tabla 1), y ajustadas a pH constante. Las concentraciones utilizadas de cada componente no son descriptas ya que son confidenciales, con posibilidad de solicitud de patentamiento.

2.2. Estabilidad de las suspensiones.

Se determinó la estabilidad de las suspensiones filmogénicas mediante Turbiscan MA 2000. Las mediciones se realizaron inmediatamente después de la formación de la emulsión y a diferentes tiempos de almacenamiento a 40°C y a 4°C para simular el comportamiento durante el almacenamiento de la emulsión sobre el producto.

2.3. Recubrimiento de los trozos de pechuga de pollo.

La aplicación de las suspensiones filmogénicas sobre trozos de pechuga de pollo (cubos de 0,5cm*2cm*1,5cm) se realizó mediante un método de aspersion eléctrica por 5 segundos, para luego ser secados bajo flujo laminar horizontal por 30 minutos.

2.4. Generación de compuestos antioxidantes.

Se evaluó la capacidad antioxidante mediante el método del TBA, durante el almacenamiento de las muestras recubiertas y sin recubrir. Para ello, las muestras se secaron a temperatura de refrigeración y se almacenaron a 40°C por 24 horas. Se extrajo la porción lipídica superficial del trozo de carne, pues solo se deseaba ver capacidad antioxidante del recubrimiento, para ésto se utilizaron las metodologías expuestas en Lorenzo y Gómez (2012) y Sallam y col. (2004), con mínimas modificaciones.

2.5. Color.

La variación de color (CIEDE 2000) durante el almacenamiento, se determinó a través de análisis de imagen utilizando un sistema de visión computacional calibrado con iluminación D65 (Pedreschi y col., 2006; Matiacevich y col., 2012). Los datos de color se midieron en el espacio RGB utilizando el programa Adobe Photoshop CS5 v12.0.3, y convertidas al espacio CIEL*a*b.

2.6. Deshidratación y pH.

Se determinó la pérdida de peso del producto durante su almacenamiento, denominada deshidratación, a través del cambio en el peso de las muestras, usando una balanza analítica. Se determinó pH de la superficie del pollo recubierto y sin recubrir durante su almacenamiento, utilizando sonda de pH de contacto para sólidos conectado a un pHmetro.

2.7. Recuento de Aerobios Mesófilos (RAM).

Se realizó un recuento de Aerobios Mesófilos a las muestras de pollo, siguiendo el Manual de Técnicas Microbiológicas para Alimentos y Aguas del Instituto de Salud Publica (ISP, 1998), con algunas modificaciones. Al no contar con bolsas estériles, se remplazaron por bolsas plásticas sellables, esterilizadas previamente con radiación UV, la solución de agua peptonada con el trozo de carne, se agitó en forma manual vigorosa durante 1 minuto. La prueba del RAM se realizó sólo hasta que el alimento sobrepasó el límite establecido por el RSA ($<10^7$ UFC/gr). Como control de la bolsa plástica utilizada, se realizó el mismo procedimiento pero sin el trozo de carne en su interior.

2.8. Análisis sensorial.

Se realizó un análisis sensorial usando el método triangular y la escala hedónica de 9 puntos para la prueba de aceptabilidad, el análisis se realizó al tiempo 0 y 7 días del almacenamiento de la muestra, en donde participaron 24 jueces semi-entrenados en cada prueba.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

3.1. Estabilidad de la emulsión.

Se observa en la Figura 1, que la suspensión almacenada a 40°C es más inestable que la almacenada a 4°C, puesto que a 40°C el porcentaje de luz dispersada (%BS) disminuyó rápidamente, indicando en un principio coalescencia de las gotas. Por otra parte, a 40°C se observa un cremado en la superficie del tubo en las muestras que contiene A-AT-AP.

3.2. Generación de compuestos antioxidantes.

En la Figura 2 se observa que las muestras recubiertas poseen menor oxidación que las muestras no recubiertas sólo hasta el tercer día de almacenamiento, lo que confirma la capacidad antioxidante de los recubrimientos en cuestión. Sin embargo, después del tercer día de almacenamiento, las muestras recubiertas presentan oxidación lipídica levemente mayor o igual a la del control, posiblemente a que el compuesto antioxidante reaccionó totalmente.

3.3. Color.

Las muestras recubiertas y sin recubrir no muestran una diferencia de color significativa ($p < 0,05$) (Tabla 2). Además, se observa en la Figura 3, una mínima variación en el color al inicio de las muestras recubiertas y sin recubrir y al final del almacenamiento, sin embargo no se observan diferencias por los distintos recubrimientos utilizados.

3.4. Deshidratación y pH.

En la Figura 4.a, se muestra la pérdida de peso de las muestras, donde se aprecia que todos los recubrimientos, a excepción del A-AP, disminuyeron la pérdida de peso, en comparación con la muestra sin recubrir. Además en la Figura 4.b, se muestra el porcentaje de deshidratación obtenido al noveno día de almacenamiento, respecto al peso inicial de cada muestra. Estos resultados son muy positivos debido a que la utilización de estos recubrimientos, podría reducir el costo y aumentar la utilidad del producto.

Por otro lado, se observa en la Figura 5, que el pH no varió significativamente ($p > 0,05$) en el producto durante su almacenamiento, hecho positivo debido a que el

recubrimiento no modificaría las propiedades de pH del alimento. También se puede observar que al aplicar los recubrimientos en los trozos de pollo el pH superficial aumento de 6,2 a 6,8, lo cual se asocia al efecto generado por los carbonatos ionizados, provenientes del CaCO_3 de la suspensión.

3.5. Recuento de Aerobios Mesófilos (RAM).

Según el RSA (2010), para un trozo carne de ave, estima como parámetro microbiológico y de calidad el RAM, donde estipula como “aceptable” cuando se posee con $<10^6$ [UFC/g], “medianamente aceptable” entre 10^6 [UFC/g] y 10^7 [UFC/g]) y “rechazable” $>10^7$ [UFC/g].

Teniendo en cuenta estos parámetros para definir la vida útil del producto, de acuerdo a la Figura 6 se puede decir que el recubrimiento que extendió más la vida útil del producto en cuanto a la inhibición del crecimiento microbiano, fue el A-AP, se estimó que la extendió en casi 2 días, seguido del A-AT con 1,75 días, después el A-AT-AP con 0,55 días.

3.6. Análisis sensorial.

En el análisis de aceptabilidad, se aprecia que en cuanto al aroma, que en general las muestras recubiertas obtuvieron una mayor aceptación que las no recubiertas. Con respecto al color, al día 0 de almacenamiento, la muestra con A-AP fue la que presentó menor aceptación, cabe destacar que las demás muestras recubiertas obtuvieron mayor aceptación que la sin recubrir, y a los 7 días de almacenamiento el color de las muestras recubiertas fue mejor evaluado que el de la muestra sin recubrir, obteniendo una mayor aceptación. En el análisis de la prueba triangular, los evaluadores no encontraron diferencias significativas en el parámetro apariencia entre las muestras.

4. CONCLUSIONES.

Se logró extender la vida útil con casi todos los recubrimientos (excepto con A). Si sólo se tiene en cuenta al crecimiento microbiano del alimento, se extendió la vida útil hasta casi 2 días con el recubrimiento de A-AP y 1,75 días con el recubrimiento de A-AT. Sin embargo, si se tiene en cuenta la pérdida de agua, el recubrimiento A-AT fue el que disminuyó significativamente dicha pérdida en el tiempo. Por lo tanto, se eligió como el mejor recubrimiento evaluado el que posee A-AT, extendiendo su vida útil en al menos 1,75 días.

5. BIBLIOGRAFÍA.

Chouliara, E., Karatapanis, A., Savvaidis, I., Kontominas, M. (2007).. Combined effect of oregano essential oil and modified atmosphere packaging on shelf-life extension of fresh chicken breast meat, stored at 4 °C. *International Journal of Food Microbiology* 24: 60–617.

Fellenberg, M. (2011). Carne de pollo Importancia y prevención de su oxidación. *Revista Agronomía y Forestal UC*. 25: 17-19.

Fennema, O. (2000). *Química de Los Alimentos*. Editorial Acribia S.A. Fernández, J. García, T. (2010). *Vida Útil de los Alimentos*. Editorial Horizonte, CA.

ISP, Instituto de Salud Pública de Chile (1998). *Manual de Técnicas Microbiológicas para alimentos y aguas*. 11-17.

Lorenzo, J., Gómez, M. (2012). Shelf life of fresh foal meat under MAP, overwrap and vacuum packaging conditions. *Meat Science*. 92: 610-618.

Matiacevich, S., Silva, P., Osorio, F. and Enrione, J. (2012). Evaluation of Blueberry Color during storage using Image Analysis. In: *Color in Food: Technological and Psychophysical Aspects* Edited by José Luis Caivano and María del Pilar Buera. Chemical Rubber Company Publisher. Chapter 22 : 211-218.

Mexis, S., Chouliara, E., Kontominas, M. (2012). Shelf life extension of ground chicken meat using an oxygen absorber and a citrus extract. *Food Science and Technology*. 49: 21-27.

Pedreschi, F., Mery, D. Mendoza, F., Aguilera, J. (2006). Classification of potato chips using pattern recognition. *Food Engineering and Physical Properties*. 69(6): 264-269.




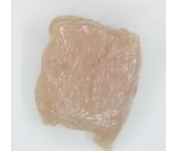



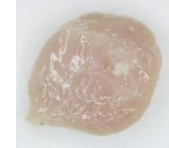


RSA, (2010). *Reglamento Sanitario de los Alimentos*. 53 - 55 - 58 - 78 – 79.

Sallam, K., Ishioroshi, M., Samejima, K. (2004). Antioxidant and antimicrobial effects of garlic in chicken sausage. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol*. 37: 849-855.

Tabla 1. Nomenclatura de las suspensiones filmogénicas.

Suspensión	Nomenclatura
Sin recubrir	S/R
Alginato	A
Alginato-aceite de tomillo	A-AT
Alginato-ácido propiónico	A-AP
Alginato-aceite de tomillo-ácido propiónico	A-AT-AP

Tabla 2. Fotografías de muestras sin recubrir (S/R) y recubiertas con las distintas suspensiones (A: alginato; AP: ácido propiónico; AT: aceite de tomillo) a los 0 y 7 días de almacenamiento a 4°C.

Días	Muestras				
	S/R	A	A-AP	A-AT	A-AT-AP
0					
7					

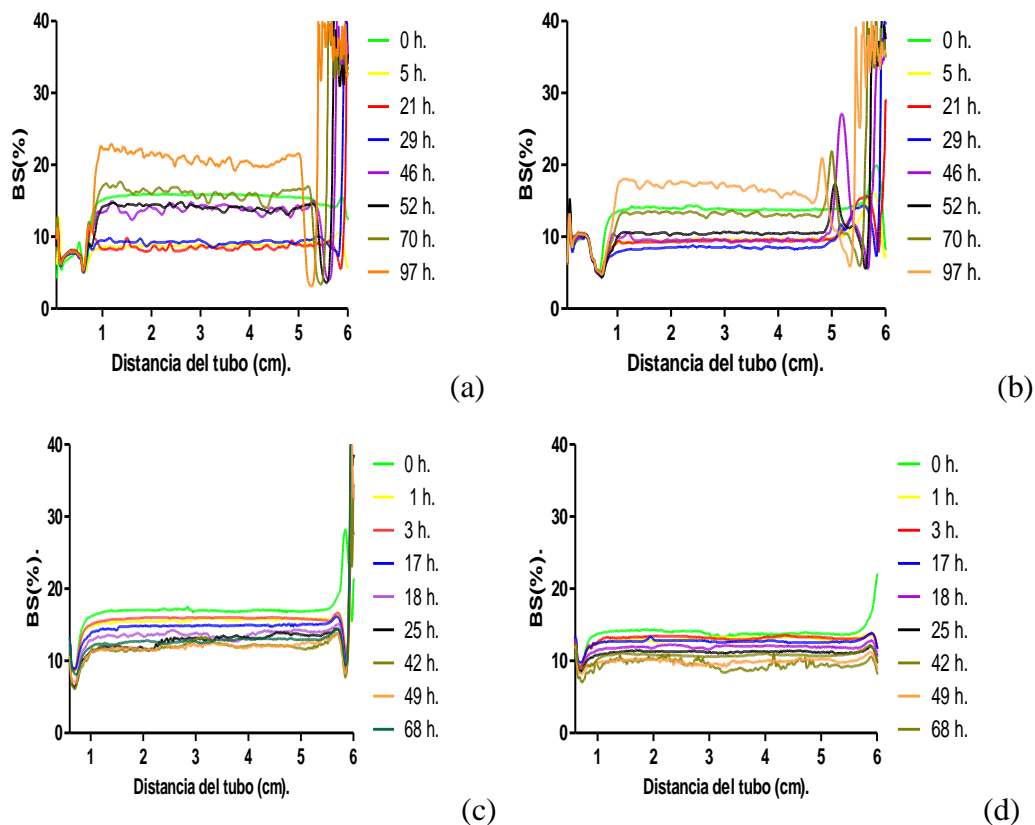


Figura 1. Gráficas de Turbiscan. (a) A-AT, 40°C. (b) A-AT-AP, 40°C. (c) A-AT, 4°C. (d) A-AT-AP, 4°C.

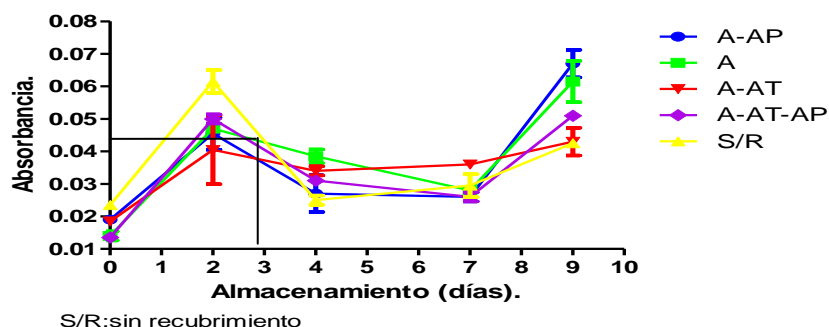


Figura 2. Capacidad antioxidante de los recubrimientos sobre las muestras recubiertas y sin recubrir (S/R).

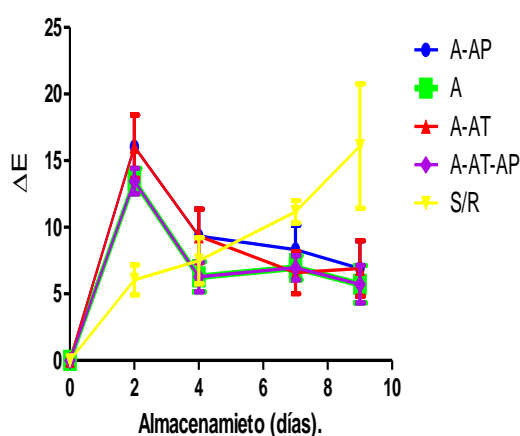


Figura 3. Comportamiento de la variación de color (ΔE_{2000}) de las muestras recubiertas y sin recubrir (S/R) durante el almacenamiento.

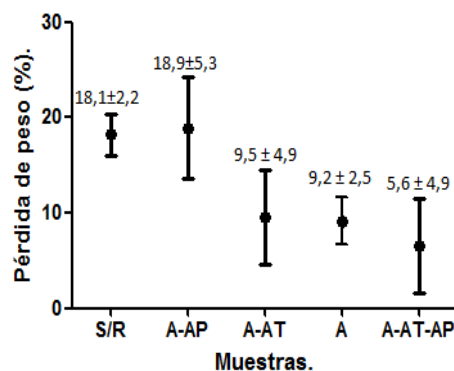
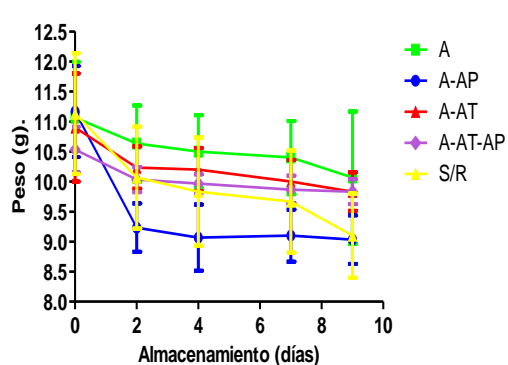


Figura 4. Deshidratación de las muestras en el almacenamiento. (a) Pérdida de masa durante el almacenamiento. (b) deshidratación de las muestras al noveno día de almacenamiento.

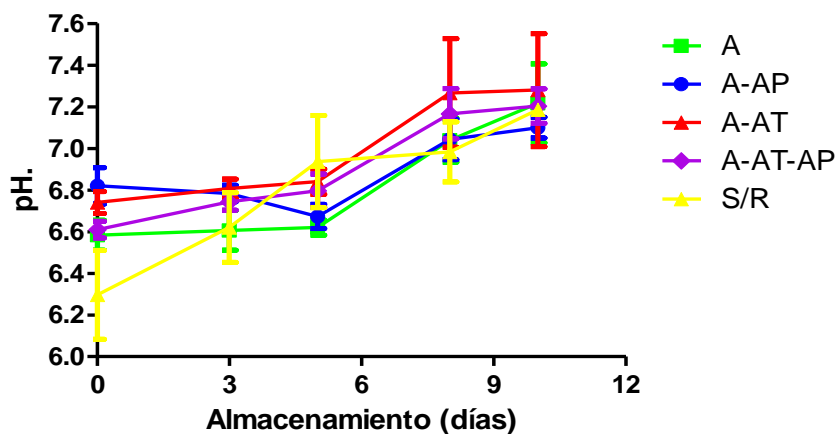


Figura 5. Comportamiento del pH superficial del pollo durante el almacenamiento.

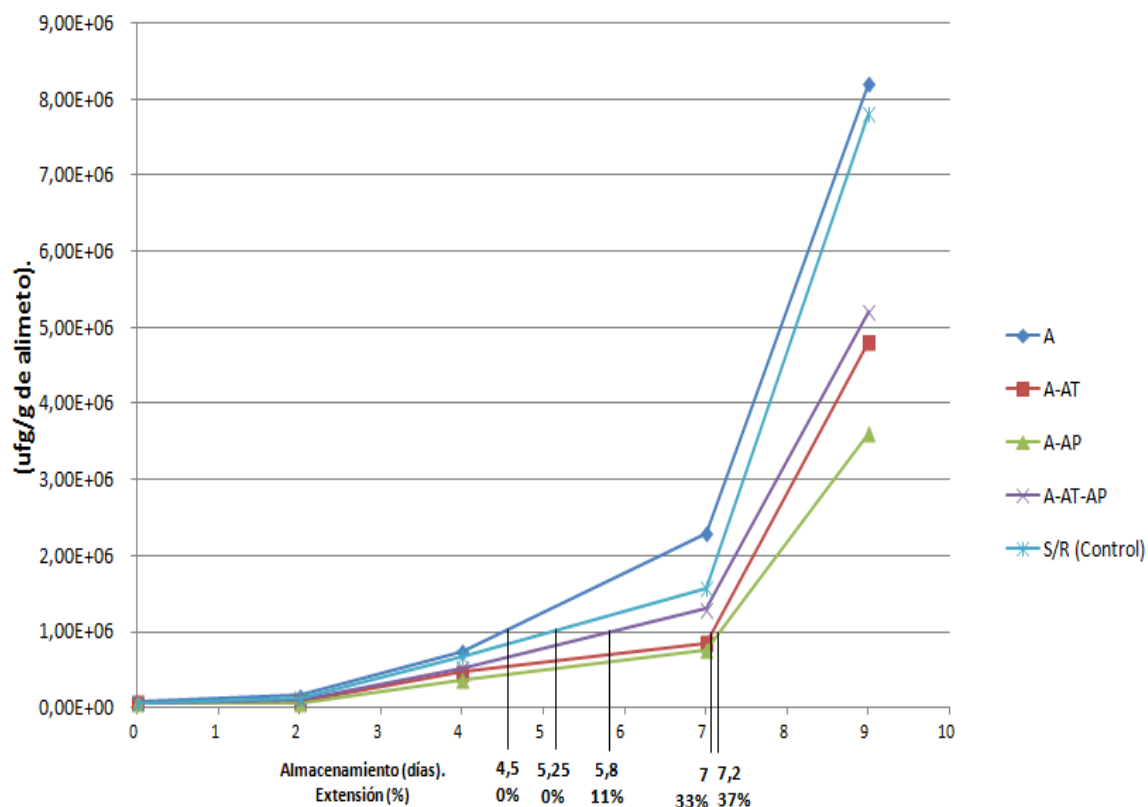


Figura 6. Recuento de aerobios mesófilos en carne de pollo almacenado a 4°C recubierto y sin recubrir (control).

ESTUDIO DE LOS FACTORES QUE AFECTAN LA LIBERACIÓN PROLONGADA DE CARVACROL ENCAPSULADO EN PELÍCULAS COMESTIBLES DE ALGINATO.

Almonacid, M.J^a; Riquelme, N^a; Matiacevich, S^a.

^aDepartamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Facultad Tecnológica. Universidad de Santiago de Chile. Obispo Umaña 050. Estación Central. Santiago. Chile.

Tel: +56 2 718 4517. E-mail: silvia.matiacevich@usach.cl

1.INTRODUCCIÓN.

La liberación controlada de compuestos que conforman los envases ha sido investigado como una forma innovadora de envase activo, donde los compuestos tales como agentes antimicrobianos y antioxidantes están incorporados en un polímero sintético o natural, siendo liberado del polímero en el alimento de una forma gradual (Marathe, 2008). Se acepta generalmente, que la eficiencia de la microencapsulación debe maximizarse para alcanzar la estabilidad óptima de un ingrediente encapsulado, sin embargo, factores como la permeabilidad al oxígeno, la distribución del aceite y su estabilización química se vuelven limitantes para la estabilidad a largo plazo (Drusch y col., 2012). El objetivo de este trabajo fue evaluar los factores que afectan la liberación prolongada en el tiempo de carvacrol encapsulado en películas comestibles de alginato.

2.MATERIALES Y MÉTODOS.

2.1 Preparación de la suspensión formadora de película y formación de las películas.

Se preparó una suspensión formadora de película, constituida por alginato de sodio 1%p/p, sorbitol 1%p/p, carbonato de calcio 0,02%p/p y carvacrol 0,5%p/p. A partir de esto, se formaron emulsiones con trehalosa 0,25 y 0,75%p/p y otras con Tween20 1%p/p, disolviendo por medio de agitación a 350 rpm a 40°C, ajustando a distintos pHs entre 4 y 8, luego fueron homogeneizadas a 10.000 rpm por 1 min utilizando ultraturrax (Thristor Regler TR50).Las películas se obtuvieron por la técnica de casting, donde 40 mL de la suspensión formadora de película, fueron dispensadas en placas petri y secadas en una estufa a 40°C por 20 horas, obteniendo películas de un grosor igual a $0,12\pm 0,02$ mm.

2.2 Diámetro de Sauter (d₃₂).

Una de las propiedades más importantes para caracterizar las emulsiones es el diámetro promedio de ellas, que puede ser representado por el diámetro de Sauter d₃₂

(ecuación 1). Este diámetro corresponde al de la gota que tiene el área promedio de la emulsión (Di Scipio y col., 2008).

$$d_{32} = \frac{\sum_{i=0}^n n_i d_i^3}{\sum_{i=0}^n n_i d_i^2} \quad [\text{Ec. 1}]$$

Donde d_{32} = diámetro medio de gota de Sauter; n_i = número de gotas y d_i = diámetro interno [μm].

2.3 Estabilidad de las emulsiones.

Se determinó la estabilidad de las emulsiones mediante Turbiscan MA 2000. Las mediciones se realizaron inmediatamente después de la formación de la emulsión y a diferentes tiempos de almacenamiento a 40°C.

2.4 Diseño experimental.

Se realizó un diseño compuesto central rotacional, en donde es necesaria la realización de sólo 17 ensayos (Tabla 1). Se evaluó la liberación del antimicrobiano a tres diferentes variables independientes, pH de 4 a 8, temperatura de almacenamiento entre 4 a 30°C y humedad de almacenamiento entre 75 a 100%, con 5 niveles para cada variable, evaluando durante distintos tiempos de almacenamiento (0-14 días). Con los resultados obtenidos se obtuvo un gráfico de superficie respuesta a través del cual se determinaron las condiciones óptimas para la liberación prolongada en el tiempo del antimicrobiano.

2.5 Color y Opacidad.

Imágenes digitales de cada película fueron capturadas sobre fondo blanco o fondo negro a través de un sistema de visión computacional, que consiste en una caja negra con cuatro tubos de luz D65 natural de 18W (Phillips) y una cámara (Canon 4 MP Powershot G3), puesta en posición vertical a 22,5 cm de la muestra. Se midieron los datos de color en el espacio RGB usando el programa Photoshop CS5 (versión 12.0.3; Adobe Systems Incorporated), transformándolos al espacio CIEL*a*b*. La opacidad de las películas se obtiene mediante la ecuación 2, la cual considera el parámetro de claridad (L^*) obtenido sobre fondo negro (L^*_{negro}) y fondo blanco (L^*_{blanco}).

$$\text{Opacidad} = \frac{L^*_{\text{negro}}}{L^*_{\text{blanco}}} \quad [\text{Ec. 2}]$$

Por otro lado, se evaluó el color en el espacio CIEL*a*b* para determinar la variación de color (ΔE_{00}) (CIEDE 2000) con respecto a las películas sin antimicrobiano.

2.6 Propiedades antimicrobianas.

La difusión en agar se llevó a cabo utilizando *Listeria innocua* y *Escherichia coli* como indicadores de microorganismos, con el fin de determinar la inhibición en bacterias Gram – y Gram +. Un inóculo de cada bacteria se preparó en caldo Mueller Hinton (DIFCO) y se incubó a 30°C hasta principio de la fase estacionaria (24 horas). La suspensión con el inóculo se ajustó con el 0,5 de la escala turbidimétrica de Mc Farland equivalente a 10^8 unidades formadoras de colonias/mL (UFC/mL) (Negroni, 2009). Se realizó diluciones posteriores para obtener una concentración de 10^3 UFC/mL en el agar. Se colocaron trozos de películas de cada ensayo sobre el agar y se incubó por 24 horas a 37°C, para finalmente medir diámetro del halo de inhibición formado por el antimicrobiano alrededor de la película (Benavides y col., 2012).

3.RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

3.1 Diámetro de Sauter (d32).

La Figura 1, muestra las gotas obtenidas de las emulsiones formuladas con trehalosa y Tween20, mostrando visualmente un menor tamaño de gota y menor dispersión de tamaños cuando se adicionó mayor concentración de trehalosa. Por análisis de varianza, se corroboró que existe diferencia significativa ($p < 0,05$) en el tamaño de gota según la concentración de trehalosa (Tabla 2).

3.2 Estabilidad de las emulsiones.

Las emulsiones formadas con trehalosa presentaron diferencias en la estabilidad por efecto del pH de la solución. Los gráficos muestran que a 0,25% y 0,75% de trehalosa a pH 4 presentó mayor estabilidad durante su almacenamiento. Sin embargo, a pH 8 se observó coalescencia de las gotas (disminución del *back scattering*, %BS). El cambio en el %BS de las emulsiones adicionando Tween20, indicó la presencia de sedimentación en la suspensión, generando un precipitado. Este efecto se acelera con el aumento del pH de la emulsión, como se muestra en la Figura 2, en donde disminuye el %BS a mayor pH.

3.3 Color y Opacidad.

Se observan diferencias significativas ($p < 0,05$) en la variación de color al tiempo cero, lo que se puede observar gráficamente en la Figura 3.a. Variaciones de color > 5 indican cambios perceptibles (CIE, 1978) en las películas que contienen trehalosa y Tween20 además del carvacrol, con respecto a las de alginato puro. La opacidad es afectada significativamente por el emulsificante usado (Figura 3.b.). Aquellas películas formadas con Tween20

presentaron una opacidad mayor que con trehalosa, debido a que la suspensión de Tween20 genera precipitados, como se vio en Turbiscan, lo que pudo afectar en la formación de la película.

Según el diseño experimental compuesto central rotacional, el pH y la humedad relativa afectan significativamente la variación de color durante el tiempo de almacenamiento en las películas con 0,75% trehalosa, mientras que la humedad relativa es el factor que más afecta la opacidad de las películas que contienen Tween20 y 0,75% de trehalosa. Las mínimas variaciones de color y opacidad a los 14 días de almacenamiento, vienen dadas por los valores óptimos de pH, humedad relativa y temperatura de almacenamiento. Dichos valores óptimos se muestran en la Tabla 3 y 4.

3.4 Propiedades antimicrobianas.

En la Figura 4 se observan fotografías de los halos de inhibición formados en algunas de las condiciones a tiempo inicial. Se observó mayor halo de inhibición en las películas generadas con Tween20 y 0,25% de trehalosa.

Durante su almacenamiento, se observó una disminución en el halo de inhibición en películas con trehalosa, respuesta que se ve afectada significativamente por la humedad y temperatura. Es probable que esto sea a causa de una rápida liberación en el tiempo del antimicrobiano, que es liberado en mayor parte durante los primeros días de almacenamiento. En las películas con Tween20, se observó mayor halo de inhibición a mayor tiempo de almacenamiento, lo que denota una liberación más prolongada del antimicrobiano en el tiempo. Los valores óptimos de pH, humedad relativa y temperatura para maximizar el halo de inhibición, se muestra en la Tabla 5.

3.5 Optimización de múltiples respuestas.

Las metas de cada una de las respuestas fueron establecidas: maximizar la inhibición y minimizar variación de color y opacidad. Las condiciones óptimas se detallan en la Tabla 6 y sus respectivas respuestas en la Tabla 7.

4.CONCLUSIONES

La concentración de trehalosa afecta el tamaño de gota obtenido. Además, la trehalosa actúa como estabilizador de las emulsiones, siendo más estable a pH 4. El Tween20 altera el color, generando películas más opacas. El mayor halo de inhibición inicial se obtiene en películas con 0,25% trehalosa, manteniéndose hasta los 14 días de almacenamiento.

En relación al tiempo de almacenamiento, el color y la opacidad varían significativamente en películas con Tween20 afectados por la humedad de almacenamiento. Las propiedades antimicrobianas se mantienen durante el almacenamiento tanto para películas con trehalosa como con Tween20. Finalmente, los factores que más afectaron las propiedades de todas las películas evaluadas durante su almacenamiento fueron la temperatura y la humedad relativa.

A pesar de tener un tamaño de gota mayor a las otras formulaciones, la formulación de 0,25% trehalosa fue la que obtuvo mejores condiciones deseables a los 14 días de almacenamiento (mínimos cambios de color y opacidad y máxima inhibición) almacenando las películas en condiciones óptimas para esto (película a pH7; 30°C y 78%HR). Futuros trabajos deben estar relacionados al conocimiento sobre la forma en que afectan estos factores ambientales a las películas y a la posible aplicabilidad de ésta en algún producto fresco que pueda almacenarse en esas condiciones.

5.BIBLIOGRAFÍA.

Benavides, S., Villalobos-Carvajal, R., Reyes, J. (2012). Physical, mechanical and antibacterial properties of alginate film: Effect of the crosslinking degree and oregano essential oil concentration. *Journal of Food Engineering* 110: 232–239

Di Scipio., Escalona, Y., Quijada, K., Millán, F. (2008). Estudio del mezclado de emulsiones aplicando la metodología de superficie respuesta. *Rev. Fac. Ing. UCV* 23: 3.

Drusch, S., Serfert, Y., Berger, A., Shaikh, M. Q., Rätzke, K., Zaporojtchenko, V., Schwarz, K. (2012). New insights into the microencapsulation properties of sodium caseinate and hydrolyzed casein. *Food Hydrocolloids* 27: 332-338.

Luo, M., Cui G., Rigg B. (2000). The development of the CIE 2000 Colour Difference formula: CIEDE 2000.

Marathe, R. (2008). Development of controlled release antimicrobial films from low methoxyl pectin. Trabajo para optar al título de Master in Science. State University of New Jersey.

Negróni, M. (2009). Microbiología estomatológica, fundamentos y guía práctica. 2ª ed. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina.

Tabla 1. Combinaciones de temperatura, pH y humedad relativa (HR) otorgadas y utilizadas en el diseño experimental central rotacional.

Ensayo	Temperatura [°C]	pH	HR [%]
1	10	4,81	87
2	25	4,81	74
3	10	7,19	87
4	25	7,19	74
5	10	4,81	94
6	25	4,81	94
7	10	7,19	94
8	25	7,19	94
9	30	6	84
10	4	6	87
11	20	8	100
12	20	4	75
13	20	6	85
14	20	6	85
15	20	6	85
16	20	6	85
17	20	6	85

Tabla 2. Condiciones de encapsulantes a utilizar en los ensayos.

Condición	d32 [µm]	Desviación Estándar [µm]
0,25% Trehalosa	0,55	0,34
0,75% Trehalosa	0,29	0,16
1% Tween20	0,53	0,20

Tabla 3. Factores óptimos para la respuesta de variación de color al día 14 de almacenamiento.

Factor	Óptimo 0,25% trehalosa	Óptimo 0,75% trehalosa	Óptimo 1% Tween20
pH	4	8	8
Temperatura (°C)	4	30	30
HR (%)	100	75	80

Tabla 4. Combinación de los niveles de los factores, la cual minimiza Opacidad sobre la región indicada al día 14 de almacenamiento.

Factor	Óptimo 0,25% trehalosa	Óptimo 0,75% trehalosa	Óptimo 1% Tween20
pH	6	4	4
Temperatura (°C)	20	30	20
HR (%)	84	84	75

Tabla 5. Combinación de los niveles de los factores, la cual maximiza halo de inhibición sobre la región indicada en el día 14 de almacenamiento.

Factor	Óptimo 0,25% trehalosa	Óptimo 0,75% trehalosa	Óptimo 1% Tween20
pH	4	6	4
Temperatura(°C)	6	4	4
HR (%)	75	75	100

Tabla 6. Factores óptimos de “deseabilidad” al día 14 de almacenamiento.

Factor	Óptimo 0,25% trehalosa	Óptimo 0,75% trehalosa	Óptimo 1% Tween20
pH	7	8	6
Temperatura (°C)	30	11	26
HR (%)	78	75,	78

Tabla 7. Respuestas óptimas según combinación de factores óptimos día 14 de almacenamiento.

Respuesta	Óptimo 0,25% trehalosa	Óptimo 0,75% trehalosa	Óptimo 1% Tween20
Inhibición (cm)	3	2,7	3
Variación color	1,4	3,2	2,7
Opacidad	5,5	5,3	21,6

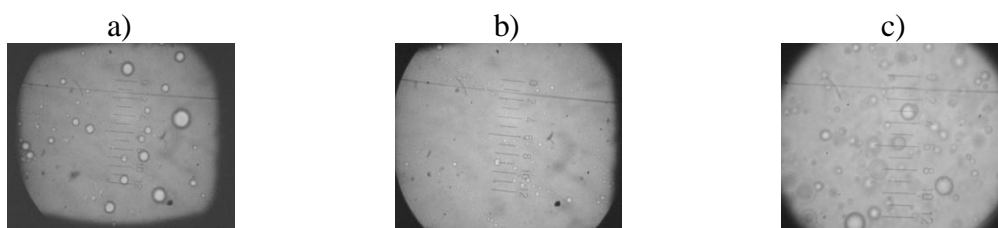


Figura 1. Tamaño de gota en aumento de 100x, a diferentes concentraciones y tipo de encapsulante. a) 0,25% trehalosa b) 0,75% trehalosa c) 1% Tween20.

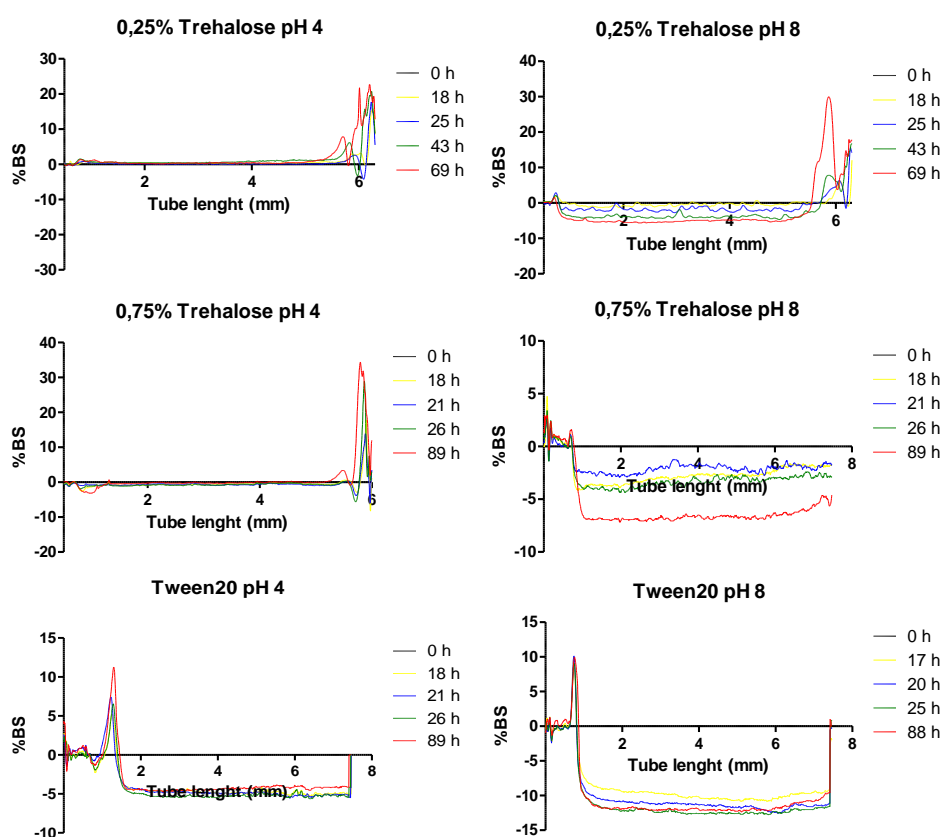


Figura 2. Variación de back scattering (BS) en función de la longitud del tubo con el tiempo de almacenamiento.

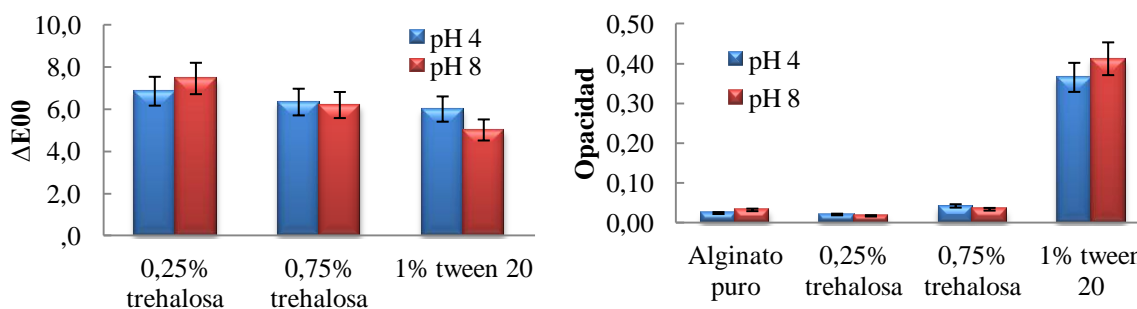


Figura 3. a) Variación de color (ΔE_{2000}) en películas alginato-carvacrol adicionando trehalosa o tween20 (%p/p) y sus variaciones según el pH. b) Opacidad de películas con y sin encapsulantes y emulsificantes, según el pH de formación.

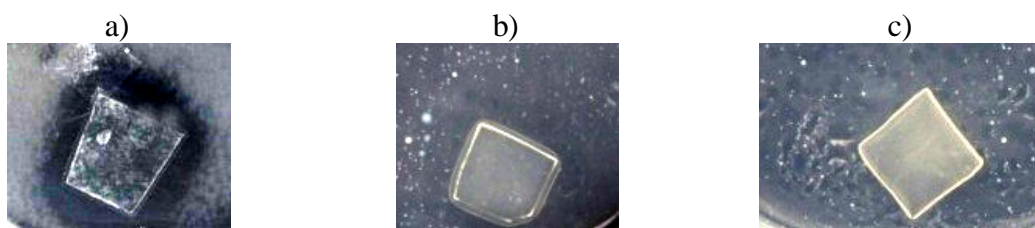


Figura 4. Halos de inhibición formados en el tiempo inicial. a) Películas 0,25% trehalosa, b) Películas 0,75% trehalosa, c) Películas 1% Tween20.

EFFECTOS DE LA ADICIÓN DE INULINA, POLIDEXTROSA Y AÍSLADO PROTEICO SOBRE LA CALIDAD SENSORIAL DE QUESO GOUDA REDUCIDO EN CALORIAS

Molina, R. P.; Gertosio, C. A.; Medina, A. E. y Acevedo, C. A..

Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Facultad Tecnológica, Universidad de Santiago de Chile, Av. Ecuador 3769, Estación Central, Santiago, Chile.

INTRODUCCIÓN

El consumo de productos lácteos es importante en Chile, siendo muy popular el queso, comercializándose en forma mayoritaria la variedad Gouda, que alcanza un 70% de la producción nacional (Esnaola, 2005). El queso Gouda aporta una serie de nutrientes y minerales necesarios para una buena nutrición, sin embargo este contiene una gran cantidad de grasa (~ 28 %) y por lo tanto es una alta fuente calórica.

Por otra parte, el registro de personas que sufren de sobrepeso es de un 67%, tasa que hasta el día de hoy sigue en aumento debido al mal cuidado que se tiene en la alimentación. En base a ello, existe la necesidad de elaborar productos bajos en calorías y funcionales como podría ser un queso Gouda reducido en calorías que posea características sensoriales similares a un queso normal.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar los cambios físico-químicos y de calidad sensorial que se producen en la elaboración de tres quesos Gouda reducidos en calorías, cada uno adicionado con un aditivo diferente: inulina, polidextrosa y aislado proteico.

MATERIALES Y MÉTODOS

La metodología experimental utilizada en la elaboración y análisis del queso gouda reducido en calorías con adición de inulina, polidextrosa y aislado proteico, comprendió las siguientes etapas:

Productos elaborados:

Los productos elaborados en el presente trabajo, fueron:

- Producto 1: Queso Gouda control a partir de leche entera no estandarizada.
- Producto 2: Queso Gouda control reducido en calorías, con leche estandarizada al 2% de Materia Grasa.
- Producto 3-4: Queso reducido en calorías, con leche estandarizada al 2% de Materia Grasa, más incorporación de inulina al 5% y 10%.

- Producto 5-6: Queso reducido en calorías, con leche estandarizada al 2% de Materia Grasa, más incorporación de polidextrosa al 5% y 10%.
- Producto 7-8: Queso reducido en calorías, con leche estandarizada al 2% de Materia Grasa, más incorporación de un aislado proteico al 0,5% y 1%.

Proceso de elaboración de los quesos Gouda:

El proceso utilizado en la elaboración de los distintos quesos fabricados, ya sea con leche descremada al 2% o con leche entera, corresponde a un típico diagrama de flujo para un Queso Gouda normal.

Análisis Físico químicos:

Se realizaron análisis Físico – Químico a la leche recepcionada, al producto en proceso y a los quesos elaborados luego de la etapa de maduración. Los análisis realizados una vez recepcionada la leche fueron: Materia Grasa y pH. Durante el proceso de elaboración de los quesos, los análisis realizados fueron: pH, temperatura y rendimiento del proceso. Una vez madurado el queso se realizó un análisis proximal para determinar: Humedad, cenizas, proteínas, lípidos e hidratos de Carbono.

Análisis instrumentales:

A los distintos quesos elaborados, y luego del periodo de maduración, se les realizó un análisis de perfil de textura (TPA) con un Texturómetro Zwick y un análisis de determinación de color con un colorímetro Hunter Lab. El Perfil de Textura se realizó mediante el uso de un, el cual se programó a una velocidad de 100 mm/min con dos ciclos de penetración de 3 segundos de diferencia, utilizando muestras de queso con un diámetro de 2 cm y una altura de 3 cm. La compresión utilizada para el ensayo fue de 70% con un punzón esférico de 10cm. En la determinación de color, el Colorímetro fue calibrado para color negro y color blanco, luego de esto se disparó el lector hacia la muestra.

Evaluación de Calidad Sensorial:

Al final de la etapa de maduración se realizó un análisis sensorial con 15 panelistas entrenados, para determinar la calidad sensorial del producto elaborado con las distintas formulaciones. Para ello se realizó una prueba descriptiva, con una escala de 9 puntos para evaluar atributos de textura, color, sabor, aroma. Estos parámetros se evaluaron por medio de un análisis estadístico con un ANOVA simple mediante el programa Statgraphics v5.1

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en los análisis físico químicos realizados a las leches recepcionadas - para la fabricación de los distintos quesos - se muestran en la Tabla 1. En ella se puede observar, que los contenidos de grasa son coincidentes con el tipo de queso a elaborar, es decir, Gouda normal (3,2 %) o reducido en calorías (2,0 %).

El pH obtenido se mantuvo en un rango de 6,6 - 6,8 en la leche utilizada para todos los productos, lo que implica que se encontraba dentro del valor esperado que es de 6,7. Este pH influirá posteriormente en la acidificación de la leche y la formación de la cuajada, factor importante a la hora de la elaboración del queso Gouda.

En la Tabla 2 se muestran los ingredientes utilizados - con sus correspondientes cantidades - en las distintas formulaciones de quesos desarrollados, como también, la producción y pérdidas obtenidas en el proceso de fabricación.

De la Tabla 2 se establece que la elaboración de los distintos quesos entregaron rendimientos bastante similares y que en promedio son de un 8 %. Esto permite afirmar que los imitadores grasos adicionados no tienen influencia en el rendimiento en queso. Por otra parte, estos valores son inferiores al teórico de 10 %, lo que significa que las pérdidas obtenidas son producto netamente de la metodología de trabajo.

En lo que se refiere al control de los parámetros de proceso durante la elaboración de las distintas muestras de queso, en la Figura 1 se muestran los valores de pH obtenidos para cada uno de los productos.

El descenso de pH en la elaboración de todos los productos fue bastante lento. Esto podría indicar que los cultivos lácticos no se encontraban acidificando de forma correcta la leche, lo que se descartó luego de la última medición al final de la maduración, donde se obtuvieron valores de pH entre 4,94 - 5,55, los que se encuentran cercanos a lo aceptado en queso Gouda con pH entre 5,1 - 5,3 (INN, 1998). Los productos 3, 4 y 8 están dentro de lo esperado, mientras que el producto 2 está bajo el límite inferior y los productos 1, 5, 6 y 7 se encuentran sobre el límite superior.

Al finalizar el proceso de maduración de los diferentes productos elaborados, se les procedió a realizar un análisis proximal y calcular el aporte calórico de cada uno de ellos, seleccionándose además, un queso Gouda del mercado utilizado como producto control, el cual se usó como lo óptimo de un queso Gouda al que se le realizaron los mismos análisis mencionados anteriormente. Dichos resultados se detallan en la Tabla 3.

Se puede apreciar que la humedad de los productos elaborados oscilan entre 43,82 - 48,09 %. Los productos 3, 4, 5, 6, 7 y 8 que contienen imitadores grasos, que aumentan la

cantidad de sólidos presentes en el queso, disminuyeron la humedad influyendo en el queso Gouda final, siendo levemente más seco que un queso Gouda normal.

El contenido de materia grasa obtenido en los distintos productos, es prácticamente el 50 % de la muestra control, confirmándose que existió una reducción de materia grasa en el producto final. La mayor disminución de grasa se obtuvo cuando se adiciono povidexrosa y aislado proteico, lo que puede afectar en mayor medida la calidad sensorial de los productos.

Al comparar los productos elaborados se puede observar que todos aquellos que presentan una reducción de grasa, presentan valores de aporte calórico entre 254,2 – 301,7 Kcal, mientras que el producto control correspondiente a un queso Gouda normal aporta 362,2 Kcal. Estos valores nos señalan que se redujo como máximo un 30% de las calorías que aporta un queso normal, al reducir la grasa en un 47 % y adicionarle un sustituto graso al producto.

El análisis de Textura instrumental (TPA) realizado a cada uno de los productos elaborados y al control establecido, asemeja la mordida del producto en la boca mediante el uso de un punzón que hace la función de los dientes y que presiona la muestra dos veces en un rango de tiempo de alrededor de 5 segundos. Los resultados de este análisis se aprecian en la Tabla 4. Los resultados de la Tabla 4 muestran que los productos 3, 5, 6, y el control presentan una dureza acorde o similar al queso Gouda normal. La dureza otorgada por los imitadores grasos podría clasificarse de menor a mayor: Aislado Proteico, Povidexrosa e Inulina. Otro de los parámetros que se obtuvo fue la cohesividad, que corresponde a la fuerza que los enlaces internos hacen sobre el alimento, es decir, a medida que el queso madura se vuelve un material más cohesivo. Los valores que se muestran en la Tabla 4 reflejan que existen pequeñas diferencias entre los productos elaborados y la menor cohesividad la presentó la muestra con adición de povidexrosa al 5% (producto 5), lo que puede atribuirse a la cantidad de ojos que presentó esta muestra. Los productos se pueden ordenar de menos a más cohesivo de la siguiente manera: Povidexrosa, Inulina y Aislado proteico.

Los valores de elasticidad de los productos, muestran que el producto control y el producto 2 (descremado) fueron los que presentaron una menor elasticidad con un valor de 0,69; Los demás productos elaborados fueron más elásticos y no presentaron diferencias significativas entre sí, por lo que mantienen una elasticidad uniforme entre ellos, significando que la adición de los imitadores grasos a cada producto aumenta la elasticidad del queso. La adhesividad en el proceso de masticación, es la fuerza para remover el material adherido a la boca. Los valores que se aprecian en la Tabla 4 no presentan grandes diferencias significativas entre sí. Solo el producto 5 (Povidexrosa 5%) se escapa en forma significativa

presentando más adhesividad que los otros, esto implica que el producto es más blando y por lo mismo más adhesivo a la superficie.

En la determinación de color, se obtuvieron las variables L^* , a^* , b^* del sistema de color del espacio CIE, para cada uno de los quesos elaborados, tal como se muestra en la Tabla 5. El parámetro L^* , corresponde a la luminosidad que posee el queso; Si se observa el ANOVA aplicado a los resultados se logra determinar que existen diferencias significativas entre las muestras siendo el producto control similar al producto 3, 4, 5, 6 y 8. Los productos 2 y 7 se alejan del producto control; el producto 2 que corresponde al descremado se encuentra sobre lo establecido por lo que es más claro, mientras que el 7 que contiene aislado proteico al 0,5% se encuentra bajo lo establecido, por lo que se ve más oscuro.

El parámetro a^* corresponde a la posición existente entre rojo y verde, los valores negativos indican que el color tiende a verde, mientras que los valores positivos significan que el color tiende a rojo. Se observa en la Tabla 5 que el valor máximo es de 3,25 siendo lo óptimo para queso Gouda – según bibliografía – un valor de 3,6. Además se aprecia que existen diferencias significativas entre los productos; entre estas se observa que el producto control no se asemeja a ninguno de los productos elaborados durante la experiencia. Esto se debe principalmente a que la disminución de la grasa hace que el color tenga una leve tendencia más al verde que al rojo (Wadhvani y McMahon, 2012), mientras que el queso Gouda normal presenta valores que tienden más al rojo.

El parámetro b^* indica la posición entre los colores amarillos y azules, si el valor es negativo el color tiende al azul, mientras que si el color es positivo este tiende al amarillo. En la Tabla 5 se observa claramente que los valores son positivos lo que es obvio ya que el color característico del queso es amarillo; Se determinó que existen diferencias significativas en el análisis estadístico, y que además el producto control no se asemeja a ninguno de los productos elaborados.

En la evaluación de la calidad sensorial de los productos elaborados y el control, se utilizó una escala de 1-9 donde el óptimo se encuentra en los valores intermedios. Los valores obtenidos de esta evaluación con su respectivo análisis estadístico se muestran en la Tabla 6. En el caso del color, el producto 5 con polidextrosa al 5%, el que más se asemeja al color del control comercial, mientras que la muestra peor evaluada en este parámetro fue el del producto 7 (0,5% Aislado proteico), seguido por el producto 6 (10% Polidextrosa). Según los evaluadores, a los productos elaborados les falta intensidad en su color, siendo menos intenso que lo deseado para un queso Gouda típico.

En el parámetro aroma como se observa en la Tabla 6 se obtuvieron valores que nos demuestran una importante intensidad. Aun así, en algunos casos, si su intensidad es muy fuerte, el aroma no es agradable, ya que no se espera que el queso Gouda tenga una aroma tan intenso. Los valores de sabor para las diferentes muestras, presentaron diferencias estadísticas significativas, lo que permite deducir que los quesos no mantienen un sabor parecido entre ellos. El producto que más se asemeja al control es el 3 y 4, ambos con adición de inulina, mientras que los peores evaluados son el 2, 6 y 7.

En relación a la textura, los productos peor evaluados fueron el 2, 3, 6 y 7, debido a que no se cumplió el hecho que un queso Gouda debe ser de masa cerrada o con escasos ojos redondos.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos a partir de la metodología experimental planteada, nos permiten concluir que el queso Gouda reducido en calorías con adición de povidexrosa, en sus dos niveles, es el queso que presenta las mejores características a nivel global haciéndolo ser el producto más cercano a la calidad del queso Gouda normal. Según lo evaluado, a este queso lo siguen en calidad el queso Gouda adicionado con inulina y finalmente el adicionado con aislado proteico. En este último no se obtuvieron los resultados deseados, sin embargo igual se mejoraron las características del queso Gouda descremado.

BIBLIOGRAFÍA

Acevedo, C. y Medina, A. (2011). “Elaboración de un queso gouda reducido en calorías”. Trabajo de Titulación de Ingeniería en Alimentos. Depto. de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Santiago de Chile.

Esnaola Lewis, Víctor. (2005). “Situación del mercado del queso en Chile”. ODEPA. Chile.

Instituto Nacional de Normalización, INN. (1999). Productos Lácteos, Queso Gouda, Requisitos, Norma Chilena 2478. Santiago.

Wadhvani R. y McMahon D.J. (2012). “Color of low-fat cheese influences flavor perception and consumer liking” *American Dairy Science Association* ® 95: 2336-2346.

Tabla 1: Análisis físico químicos realizados a las leches recepcionadas

	Leche inicial [Kg]	% Grasa final	pH
Producto 1	12,0	3,2	6,7
Producto 2	12,2	2,2	6,8
Producto 3	11,5	2,1	6,8
Producto 4	12,1	2,0	6,8
Producto 5	10,8	2,0	6,6
Producto 6	10,9	2,0	6,6
Producto 7	10,3	2,0	6,7
Producto 8	11,8	2,0	6,6

Tabla 2: Formulaciones de los distintos quesos Gouda elaborados

	Producto 1	Producto 2	Producto 3	Producto 4	Producto 5	Producto 6	Producto 7	Producto 8
Leche descremada inicial [kg]	12	12,24	11,5	12,11	10,78	10,9	10,28	11,84
Crema 35% [Kg]	0	0	0,65	0,72	0,63	0,51	0,48	0,64
Leche descremada estándar. [Lt]	-	-	12,15	12,83	11,41	11,41	10,76	12,48
Inulina	-	-	0,575	1,21	-	-	-	-
Polidextrosa	-	-	-	-	0,538	1,09	-	-
Aislado Proteico	-	-	-	-	-	-	0,051	0,118
Cloruro de Calcio [Kg]	0,02	0,018	0,02	0,018	0,02	0,02	0,02	0,02
Cultivos lácticos [Kg] x 10 ⁴	6,6	6	6,2	6,6	6,2	6	6,2	6,2
Cuajo [Kg] x10 ⁵	2,1	2,1	2,1	2,1	2,1	2,1	2,1	2,1
Suero total [Kg]	9,74	10,28	10,08	11,66	10,54	8,84	9,27	10,34
Queso final [Kg]	0,94	1,26	0,94	1,2	0,9	1	0,88	0,92
Perdidas [Kg]	1,32	0,7	1,71	1,181	0,516	2,66	0,661	1,344

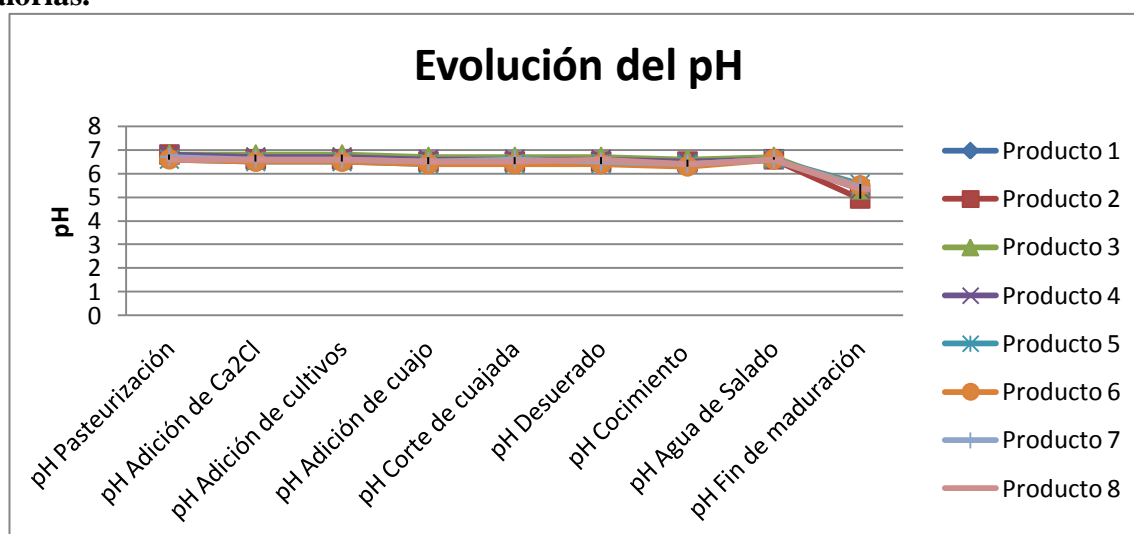
Figura 1: Evolución de pH durante la elaboración del queso Gouda reducido en calorías.


Tabla 3: Análisis Proximal (%) y aporte calórico (Kcal) de los quesos Goudas descremados elaborados.

Porcentajes	Humedad	Cenizas	Proteína	Grasa	Hidratos de Carbono	Aporte calórico
Producto 2	48,09	3,36	26,44	21,50	0,61	301,7
Producto 3	44,60	3,42	27,83	18,98	0,17	294,3
Producto 4	43,82	3,41	27,29	18,64	-3,16	256,3
Producto 5	46,52	3,29	25,42	14,10	0,67	282,1
Producto 6	43,46	3,39	26,19	15,90	1,06	254,2
Producto 7	47,50	3,45	29,13	15,50	0,41	269,7
Producto 8	44,76	3,43	28,93	16,30	0,57	301,7
Producto Control	44,03	2,92	22,90	30,00	0,15	362,2

Tabla 4: Resultados del análisis Instrumental de Textura

	Dureza (N)	Cohesividad	Adhesividad (mJ)	Gomosis (N)	Elasticidad	Masticabilidad (N)
Producto 2	11,96 ± 1,97b	0,48 ± 0,20ab	0,21 ± 0,16 ^a	5,60 ± 1,83abc	0,69 ± 1,82ab	4,01 ± 1,82ab
Producto 3	20,64 ± 0,27d	0,69 ± 0,03bc	0,33 ± 0,11 ^a	14,31 ± 0,54e	0,83 ± 0,003ab	11,83 ± 0,49d
Producto 4	7,30 ± 1,39a	0,61 ± 0,1abc	0,69 ± 0,61ab	4,44 ± 1,20 ^a	0,81 ± 0,03ab	3,59 ± 0,98a
Producto 5	15,09 ± 3,47bc	0,36 ± 0,06 ^a	1,04 ± 0,67b	5,50 ± 1,88ab	0,83 ± 0,06ab	4,48 ± 1,27ab
Producto 6	17,67 ± 0,74cd	0,58 ± 0,14abc	0,58 ± 0,66ab	10,22 ± 2,79cde	0,85 ± 0,03ab	8,61 ± 2,1bcd
Producto 7	14,59 ± 3,78bc	0,72 ± 0,04bc	0,11 ± 0,16 ^a	10,39 ± 2,25bcde	0,84 ± 0,02ab	8,68 ± 1,78bcd
Producto 8	14,14 ± 4,53bc	0,81 ± 0,19c	0,12 ± 0,12 ^a	11,55 ± 4,304de	0,88 ± 0,12ab	10,43 ± 4,94cd
Producto Control	17,42 ± 0,85bcd	0,66 ± 0,25bc	0,33 ± 0,01 ^a	7,56 ± 0,88abcd	0,69 ± 0,21a	6,74 ± 1,05abc

Tabla 5: Resultados del Análisis Instrumental de Color

	L*	a*	b*
Producto 2	84,11 ± 0,66 ^b	1,87 ± 0,19 ^c	24,61 ± 0,13 ^{bc}
Producto 3	81,12 ± 0,15 ^{cd}	1,79 ± 0,18 ^{cd}	24,12 ± 0,33 ^a
Producto 4	82,78 ± 2,11 ^{bc}	1,93 ± 0,16 ^b	19,22 ± 1,89 ^{bc}
Producto 5	82,44 ± 0,19 ^{cd}	2,12 ± 0,03 ^a	23,69 ± 0,48 ^b
Producto 6	77,48 ± 0,19 ^{bc}	3,25 ± 0,06 ^d	26,70 ± 0,49 ^{bc}
Producto 7	82,00 ± 0,37 ^a	1,16 ± 0,26 ^e	23,18 ± 1,01 ^d
Producto 8	83,33 ± 0,58 ^d	0,82 ± 0,08 ^{cd}	22,96 ± 0,41 ^c
Producto Control	83,07 ± 0,63 ^{cd}	5,35 ± 0,17 ^f	33,59 ± 1,03 ^e

*a,b,c,d,e,f: Las medias dentro de una columna con letras comunes no difieren significativamente (P<0,05)

Tabla 6: Resultados de la evaluación sensorial de los productos elaborados.

	Color	Aroma	Textura	Sabor
Producto 2	4,0 ± 0,85 ^{ab}	6,2 ± 1,15 ^{cde}	5,0 ± 1,13 ^a	4,46 ± 1,25 ^{ab}
Producto 3	4,73 ± 1,31 ^{bc}	7,13 ± 1,30 ^e	5,07 ± 1,44 ^a	6,8 ± 1,66 ^d
Producto 4	5,47 ± 1,10 ^c	5,27 ± 1,23 ^{abc}	6,73 ± 0,70 ^c	5,93 ± 0,80 ^{cd}
Producto 5	7,2 ± 1,145 ^d	6,2 ± 1,66 ^{cde}	5,47 ± 0,92 ^{ab}	5,27 ± 1,23 ^{bc}
Producto 6	3,8 ± 0,94 ^a	6,13 ± 1,30 ^{bcd}	4,73 ± 1,49 ^a	4,2 ± 1,15 ^a
Producto 7	3,53 ± 0,92 ^a	5,2 ± 1,70 ^{ab}	5,13 ± 1,30 ^a	3,87 ± 1,60 ^a
Producto 8	4,07 ± 0,88 ^{ab}	6,4 ± 1,24 ^{de}	6,33 ± 1,63 ^{bc}	5,27 ± 1,44 ^{bc}
Producto Control	6,67 ± 1,18 ^d	4,73 ± 0,80 ^a	6,93 ± 0,80 ^c	6,47 ± 1,36 ^d

*a,b,c,d,e: Las medias dentro de una columna con letras comunes no difieren significativamente (P<0,05)

FORMULACION Y DESARROLLO DE UN GEL DE FRUTAS A PARTIR DE PULPA DE MANZANA

Cecilia Gertosio S.; Katherinne Saavedra R.; Paulina Sandoval T.

Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Facultad Tecnológica, Universidad de Santiago de Chile, Av. Ecuador 3769, Estación Central, Santiago, Chile. e-mail: cecilia.gertosio@usach.cl

INTRODUCCIÓN

La tendencia de los consumidores a mejorar sus hábitos de consumo, ha creado en la industria de alimentos la necesidad de elaborar productos más naturales para la satisfacción del mercado. Es por esta razón que se propone desarrollar un gel de frutas producido en base de pulpa de frutas, para ser añadido a diferentes alimentos, como por ejemplo barra de cereal, helados, chocolates, u otros similares.

Este nuevo tipo de productos representa una alternativa atractiva para la industria de alimentos, ya que permite el uso de excedentes de frutas provenientes de exportación, consumo en fresco y agroindustria nacional, permitiendo disminuir costos de producción.

La manzana es una de las frutas más tradicionales y consumidas en todo el mundo. su nombre científico es *Malus sylvestris Mill* y es un fruto climatérico rico en pectina, fibra soluble que tiene la propiedad de ayudar al cuerpo a eliminar el colesterol. (Sotomayor, 2002).

El objetivo de este trabajo es el de formular y desarrollar un gel comestible a partir de pulpa de manzana, sin la adición de preservantes químicos, con una actividad de agua cercana a 0,6 y una humedad de 15%.

MATERIALES Y MÉTODOS

La metodología experimental utilizada en la elaboración describe cada uno los pasos a seguir para la formación del gel, los tratamientos y análisis aplicados. Se realizaron las siguientes determinaciones:

Determinaciones analíticas a la materia prima: Sólidos Solubles: mediante un refractómetro Passed (28-62°Brix).pH: se cuantificó mediante un pHmetro Corning modelo 7; Humedad: se determinó mediante el método gravimétrico (AOAC N°14.003, 1995).

Determinación de gelificantes utilizar para la obtención de la formulación final. Se determinó la solubilidad en agua fría o caliente y la formación de aglutinaciones, siendo estas propiedades importantes en la generación del producto deseado.

Obtención de formulación final.: Se evaluó diferentes formulaciones (ver tabla n°2) utilizando espesantes y gelificantes en concentraciones desiguales, las que se valoraron por análisis sensorial simple en base a la gelificación, textura y consistencia que se logró alcanzar en cada una de ellas. Se adicionó jarabe de glucosa y agua en diferentes proporciones para obtener mayor gomosidad y transparencia en el producto. Se buscó, además, un agente que ayudara a retener la humedad superficial del gel.

Determinación temperatura/tiempo de secado: Para establecer la temperatura de trabajo, se realizaron ensayos con tres temperaturas diferentes a un mismo tiempo de secado, basadas en los efectos que provocaban éstas en las mezclas utilizadas en la elaboración del producto. Además fue necesario establecer el tipo de estufa (aire forzado o estática) a utilizar en este proceso. Para ello se secó una muestra del gel en ambos tipos de estufas durante dieciocho horas a la misma temperatura. Los parámetros a medir fueron formación de costra y pardeamiento.

Descripción de las etapas en la formación del gel.

Recepción de la materia prima: En esta etapa se realizó una caracterización de la materia prima, en donde se midió el pH y los °Brix. Dependiendo de los °Brix que contenía la pulpa, se adicionó azúcar granulada hasta alcanzar un 50% de sólidos solubles.

Mezclado: En la tabla N°2 se muestran los diferentes ingredientes que se usaron para realizar la mezcla. que se realizó en un recipiente apto para someterlo al calentamiento.

Tratamiento térmico: La mezcla se calentó hasta alcanzar la temperatura de ebullición, aproximadamente 98°C (medida por un termómetro) por tres minutos.

Moldeado: En esta etapa la mezcla fue depositada sobre una bandeja con papel aluminio, y se esparció de manera uniforme hasta obtener 1-1,5 cm. de espesor aproximadamente.

Enfriado: La mezcla se dejó enfriar a temperatura ambiente hasta que se formó un gel compacto.

Secado: El gel formado en la etapa anterior se llevó a una estufa de secado de aire forzado. Una vez obtenido el gel, se procedió a cortarlo en segmentos cuadrados de 1 cm² aproximadamente. El producto obtenido finalmente se dejó a temperatura ambiente, para terminar de enfriar.

Selección y envasado: En esta etapa se seleccionaron los mejores segmentos y posteriormente se envasaron en papel celofán o cajas de cartón.

Determinación de la Curva de Secado

El gel obtenido se secó en una estufa de aire forzado, obteniendo muestras de 4 gramos aproximadamente cada una hora, por 24 horas continuas, luego a cada una de estas muestras se le determinó la humedad basado en el método AOAC N° 14.003. Para llevar a cabo este ensayo se utilizó una balanza analítica (Denver Instrument Company AA-200) y una estufa de secado de aire forzado (Binder FD-53).

Determinación de la Isotherma de Desorción: Para determinar la Isotherma de Desorción se midió la humedad y la actividad de agua del producto. La humedad se midió de igual forma que el punto anterior. y la actividad de agua se determinó mediante un equipo de actividad de agua (Aqualab). La humedad y a_w se determinó tomando muestras de 4 gramos aproximadamente cada una hora, por 24 horas en total. Donde se obtuvo asimismo la curva de a_w versus tiempo

Determinación de la Isotherma de Adsorción: Se realizó, mediante el método gravimétrico, sometiendo al alimento a un ambiente con una atmósfera de humedad saturada (100% de HR), a una temperatura de 52°C. El ambiente de 100% de humedad relativa se logró mediante una cámara hermética con agua acondicionada previamente. La curva se construyó tomando muestras cada 30 minutos, durante 8 horas continuas, de 4 gramos aproximadamente. Estas muestras se sometieron a determinación de humedad y a_w de igual forma que para la Isotherma de Desorción.

Análisis Microbiológico: Se realizó Recuento de Aerobios Mesófilos, RAM: por medio de siembra en profundidad, En este caso se utilizó *AGAR PLATE COUNT* (y se incubaron por 48 horas a una temperatura de 35 °C. (Manual de Técnicas Microbiológicas para Alimentos y Aguas, ISP, 1998). Recuento de *Staphylococcus aureus*: se realizó por una siembra en superficie. Se sembraron en *AGAR BAIROL-PARKER*, agar selectivo para *Staphylococcus aureus* según Baird-Parker (base), Se incubaron por 48 horas a 35°C. (Manual de Técnicas Microbiológicas para Alimentos y Aguas, ISP, 1998). Determinación de Mohos y Levaduras: el inóculo se sembró en profundidad, en placas petri con *AGAR PAPA DEXTROSA*, Se incubaron por cinco días a 22°C. Para el recuento se utilizó tinción simple y un contador de colonias. (Manual de Técnicas Microbiológicas para Alimentos y Aguas, ISP, 1998).

Análisis Sensorial : Se utilizaron métodos afectivos: para determinar cuál era la temperatura de secado más aceptada por los consumidores. Para ello se realizó el Test de Preferencia y el Test de Aceptabilidad. En ambos casos se utilizaron diez jueces entrenados y tres muestras de gel de manzana secadas a 62°C, 65°C y 67°C, durante un periodo de 24 horas continuas. El Test de Aceptabilidad utilizó una escala hedónica valorada en nueve puntos, donde el punto 9

correspondía a la máxima aceptabilidad, el punto 5 a la indiferencia y el punto 1 a la mínima aceptabilidad. En el Test de Preferencia el juez debió ordenar las muestras según su preferencia de mayor a menor, en cuanto sabor, color y gomosidad

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La pulpa de manzana comercial conseguida como materia prima obtuvo un 74,19% de humedad la cual es más baja que la humedad proximal de manzana fresca descrita por Gil (2001), ver tabla N° 1.

Debido a que la mayoría de los ingredientes (Tabla N°2) para realizar la mezcla son agregados en frío, se prefirió, en primera instancia, a los gelificantes/espesantes que se disolvieran de la misma forma, para facilitar principalmente el proceso de mezclado y disminuir etapas en el proceso. En la Tabla N°3 se puede ver que los agentes gelificantes/espesantes que cumplen con esta característica son: el gelificante carragenina y los espesantes goma guar y goma xantana.

De los dos espesantes elegidos anteriormente se debió seleccionar para trabajar la goma guar, ya que la goma xantana presentó pequeñas aglomeraciones al momento de disolverla, lo cual perjudicaría el proceso de mezclado y entregaría un producto heterogéneo después del secado.

Por lo tanto, se utilizó a la carragenina como agente gelificante y la goma guar como agente espesante. Las formulaciones se elaboraron en una estufa con aire forzado a 65°C por 24 horas.

La formulación inicial (Tabla N°4) no entregó un producto gomoso como se esperaba, además presentó un color pardo lo que no lo hacía apetecible para consumir. La dureza y sequedad del producto pudo deberse a la adición de un porcentaje muy alto de carragenina a la mezcla, ya que se trataba de carragenina del tipo kappa y ésta puede formar geles en soluciones acuosas a concentraciones tan bajas como 0,5%.

De las diferentes pruebas realizadas con variación de gelificante y espesante se llegó a que la disminución del agente gelificante redujo la dureza del producto, por lo cual se decidió añadir una menor cantidad de carragenina para obtener un gel más blando, lo que se logró favorablemente con la adición de agua. La composición se muestra en la tabla N°5

La acentuación en la gomosidad del producto se debió principalmente al aumento del espesante utilizado (goma guar), debido a que éste entrega propiedades de viscosidad y elasticidad en los alimentos en que es añadido.

A pesar de que las características de consistencia, gomosidad y sabor concordaban con lo esperado teóricamente, la apariencia que presentó el producto, no era deseable para el consumidor, debido a que al tratarse de un gel de manzana el consumidor espera un producto de color más claro y translúcido.

Una de las causas a la cual se puede asociar el color obtenido es una leve caramelización de los azúcares, ya que la mezcla presentaba un alto contenido en azúcares concentrados, mientras que la nula translucidez se debió a que el ingrediente adicionado en mayor cantidad era la pulpa, dándole un aspecto más pastoso al producto.

Con la formulación que se presenta en la tabla N°6 se obtuvo un gel con una muy buena consistencia y gomosidad, con un color claro y translúcido. Además se frenó la sinéresis de manera definitiva. La disminución en el porcentaje de ácidos actuó de manera favorable en la detención de la sinéresis que se producía en el producto, por lo tanto, esta formulación fue la que mejor se ajustó al gel de manzana deseado. Ésta fue, en consecuencia la formulación escogida para la realización de los análisis posteriores.

Las curvas de desorción para los tres tratamientos que se muestran en la Tabla N°7 (con temperaturas de secado a 62°C, 65°C y 67°C, por 24 horas) fueron realizadas a 25 °C. Las tres curvas presentan un comportamiento similar, ya que comienzan con una actividad de agua de 0,9 y con una humedad, en base seca, en un rango de 0,2-0,25 (Kg de H₂O/Kg ss) hasta llegar a una actividad de agua 0,45-0,5 y con una humedad en base seca de 0,08-0,1 (Kg de H₂O/Kg ss). Estos resultados indican que las tres temperaturas utilizadas en el proceso de secado no intervienen de manera importante en la actividad de agua y humedad finales del producto, por lo tanto, si se lleva éste a una elaboración industrial sería conveniente utilizar la temperatura más baja debido a que generarían menores costos energéticos para la planta procesadora. Con los tres tratamientos realizados se obtiene una baja actividad de agua final, la cual se encuentra por debajo de los límites expuestos en bibliografía. La proliferación de microorganismos es pequeña o nula y la humedad representada, en base seca, se acerca a lo deseado para el producto. Por otra parte en la evaluación sensorial realizada se manifestó que las muestras no mostraban mayores diferencias en los descriptores evaluados, por lo cual, el tiempo de secado establecido para el producto se puede dar por terminado a las 18 horas.

CONCLUSIONES

Los geles de manzana elaborados en este trabajo, son un producto natural sin preservantes químicos, conteniendo una alta concentración de azúcar, una reducida actividad

de agua y un bajo contenido de humedad, lo que permite asegurar la estabilidad microbiológica, favoreciendo así su conservación durante un prolongado período de tiempo.

Los resultados microbiológicos obtenidos entregan respaldo y validez de que el producto se mantendría estable durante un período prolongado.

La relación tiempo/temperatura obtenida, se estableció comparando las características de cada ensayo por medio de prueba y error.

Los tres tratamientos realizados (secado a 62°C, 65°C y 67°C) presentaron valores similares en cuanto a humedad y actividad de agua, sin embargo, el tratamiento con mayor aceptabilidad sensorial correspondió al tratamiento de 67°C.

El tiempo de secado más recomendado para la elaboración del producto industrialmente es de 18 horas, con una temperatura de 67°C, lo que permitiría de esta manera un ahorro en los costos energéticos.

BIBLIOGRAFÍA

Association Of Official Chemist. Official Methods of Analysis of the AOAC, 14th ed. Virginia, USA. 1984; p 1141

Badui D., S. 2006. Química de los alimentos. Cuarta edición. Editorial Pearson. México. 736 p.

Casp, A.; Abril. J. 1999. Procesos de conservación de alimentos. Editorial Mundi-Prensa. Madrid, España. 494p.

Carpenter, R.; Lyon, D.; Hasdell, T. 2000. Análisis sensorial en el desarrollo y control de la calidad de los alimentos. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España. 320 p.

Chile, Corporación De Fomento De La Producción (Corfo). 1980. Estudio de alternativas para la Industrialización de la Manzana. 326 p.

Manual de Técnicas Microbiológicas para Alimentos y Aguas. 1998. Instituto de salud Público.

Vaclavik, V. 2002. Fundamentos de ciencia de los alimentos. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España. 485p.

Tabla N° 1. Composición química proximal de la manzana por 100g de fruta comestible.

Componente	Cantidad
Calorías (Kcal.)	53
Humedad (g)	85
Proteínas (g)	0,2
Lípidos (g)	0,5
Hidratos de Carbono (g)	14
Fibra (g)	2,0
Tiamina (mg)	0,02
Riboflavina (mg)	0,02

Tabla N°2 “Porcentaje de ingredientes a utilizar en gel”.

Ingredientes	Porcentaje (%)
Pulpa adicionada de azúcar (30-50° Brix).	45-50
Agua	0-25
Jarabe de Glucosa	0-25
Acido Málico	0-0.5
Acido Cítrico	0-0.5
Maltodextrina	0-2
Carragenina	0.2-2
Goma Guar	0.5-1.5
Gelatina	0-1
Goma Xantana	0-1
Agar-agar	0-2

Tabla N°3 “Determinación del (de los) gelificante(s) para formulación final”

Gelificante/espesante	Disolución en frío/caliente	Formación de aglutinaciones
Carragenina	Frío	No presenta
Goma guar	Frío	No presenta
Gelatina	Caliente	Si presenta
Goma Santana	Frío	Si presenta
Agar-agar	Caliente	No presenta

Tabla N° 4 “Formulación inicial”

Ingrediente	%
Pulpa concentrada 20°Brix	60-68
Jarabe de glucosa	10-15
Azúcar	20-30
Carragenina	2-4

Tabla N°5 “Formulación con adición de agua

Ingrediente	%
Pulpa adicionada de azúcar 40°Brix	40-50
Jarabe de glucosa	20-30
Carragenina	0-1
Goma guar	2-3
Agua	20-30

Tabla N°6 “Formulación final”

Ingrediente	%
Pulpa adicionada de azúcar 50°Brix	40-50
Jarabe de glucosa	20-30
Agua	20-30
Goma guar	1-2
Carragenina	0-1
Ácido cítrico	0-0,3
Ácido málico	0-0,3
Maltodextrina (15%)	0-1

Tabla N°7 “Determinación temperatura/tiempo de secado”

Temperatura de secado	Tiempo de secado	Observaciones del producto	
		Estufa estática	Estufa con aire forzado
60°C	24 horas	El producto presentó costras delgadas en los extremos, sin embargo, el interior del gel se mantuvo húmedo.	El gel resultante presentó costras un poco más gruesas que el secado en la estufa estática, pero continuó con humedad en el centro.
65°C	24 horas	Se formaron costras de mayor grosor que las muestras secadas a 60°C, pero aún contenían el centro húmedo.	El producto se secó de forma homogénea, sin producción de costras en los extremos.
70°C	24 horas	La muestra retirada de la estufa presentó un acentuado pardeamiento, se secó completamente, pero en exceso.	Esta muestra, al igual que la secada con estufa estática, se secó excesivamente. Se obtuvo un producto duro y pardo.

CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA, TEXTURAL, REOLÓGICA Y SENSORIAL DE QUESOS TIPO PANELA ELABORADOS CON MEZCLAS DE LECHE DE CABRA Y VACA

Carolina Ramírez-López, Jorge Fernando Vélez-Ruiz

Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental, Fundación Universidad de las Américas Puebla. Ex Hacienda Sta. Catarina Mártir S/N, Cholula, Puebla. C.P.72810. México. Tel.: +52 222 229 2126, Fax: + 52 222 229 2727. Dirección electrónica: jorgef.velez@udlap.mx y carolina.ramirezlz@udlap.mx

RESUMEN

En México predomina la producción de queso fresco, de cuyas variantes, el queso Panela es el producto lácteo de mayor consumo. Este tipo de queso es elaborado casi de forma exclusiva con leche de vaca, sin embargo, en los últimos años se ha remarcado la importancia de la leche de cabra por sus propiedades benéficas en el sabor y la salud. En el presente estudio se evaluaron algunas formulaciones elaboradas a partir de diferentes proporciones de leches de cabra y vaca para determinar el efecto de la composición química de la leche sobre las características físicas, texturales, reológicas y sensoriales de un queso fresco tipo Panela. A cada formulación se le determinó la composición proximal, parámetros fisicoquímicos y color. El comportamiento textural y reológico fue obtenido mediante pruebas de compresión uniaxial, análisis de perfil de textura, creep y pruebas dinámicas de baja amplitud oscilatoria, respectivamente. De acuerdo a los resultados de composición proximal, el contenido de grasa y proteína fue significativamente diferente entre las formulaciones ($P < 0.05$), aumentando directamente en relación a la cantidad de leche de cabra presente (grasa: 16.60 – 19.40 %; proteína: 15.18 – 18.52%). Del análisis de resultados de las pruebas texturales y reológicas, se observó que la incorporación de leche de cabra (10% a 40% de sustitución) en la elaboración de queso fresco Panela, causó efectos significativos ($P < 0.05$) en su textura (dureza: 5.4 – 10.8 N; gomosidad: 1.8 – 3.1 y masticabilidad: 1.4 – 2.5) y propiedades viscoelásticas (G' : 10.6 – 15.8 kPa). De éstos resultados se infiere que la caseína de la leche de cabra brinda un mayor soporte y estabilidad a la red proteica formada durante la coagulación, originando quesos con mayor resistencia a la fractura (mayor dureza) y a la deformación (mayor elasticidad).

Palabras clave: Queso Panela, propiedades, tipo de leche

1. INTRODUCCIÓN

El queso es el producto obtenido por coagulación de la leche cruda o pasteurizada (entera, semidescremada y descremada), constituido esencialmente por caseína de la leche en forma de gel más o menos deshidratado (Eck, 2000). Mediante este proceso se logra preservar el valor nutritivo de la mayoría de los componentes de la leche, incluidas las grasas, proteínas y otros constituyentes menores, generando un sabor especial y una consistencia sólida o semisólida en el producto obtenido (Vélez-Ruiz, 2009). En México, culturalmente el consumo de quesos está orientado a los quesos frescos, dentro de esta clasificación se encuentra el queso Panela, un queso de coagulación enzimática y pasta blanda, que no incluye maduración (Van Hekken y Farkye, 2003). Este tipo de queso es elaborado casi de manera exclusiva con leche de vaca, sin embargo, la leche de cabra puede proporcionar una alternativa viable debido a su peculiar sabor, textura, tipicidad y su imagen sana y natural (Raynal-Ljutovaca et al., 2008). Las propiedades físicas y texturales del queso son aquellas que se desarrollan durante el procesado e influyen de manera importante en la aceptación del producto. Estas propiedades están relacionadas a la composición, estructura y fuerza de las interacciones entre los elementos estructurales del queso y están ligadas a la deformación y la fluidez del mismo cuando es sometido a algún tipo de esfuerzo (Osorio-Tobón et al., 2005). Con base a lo anterior, el objetivo del presente trabajo se centró en evaluar el efecto de diferentes proporciones de leche de cabra y vaca, sobre las propiedades fisicoquímicas, texturales, reológicas y sensoriales de un queso fresco tipo Panela.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Elaboración de los quesos

Para la elaboración del queso tipo Panela se siguió la formulación de un proceso artesanal propio de la zona. Se utilizó leche fresca pasteurizada de cabra (*Capra hircus*) de raza “Alpina francesa” (Rancho El Sahuaro, Tecamachalco, Puebla, México) y leche pasteurizada de vaca marca Lala®. Se elaboraron cuatro formulaciones variando la proporción de leche de cabra (S1: 10%, S2: 20%, S3: 30% y S4: 40%) y dos quesos testigo (S5: 100% leche de cabra y S6: 100 % leche de vaca). Cada bloque de queso fue empacado al vacío en bolsas de polietileno de alta barrera y colocado a temperatura de refrigeración (4-7°C) para su posterior análisis.

2.2 Determinación de la composición, parámetros fisicoquímicos y color en el queso

El contenido de grasas y proteínas fue determinado usando los métodos oficiales 989.05 y 920.123, respectivamente (A.O.A.C., 2005). El pH se determinó con un potenciómetro digital (Conductronics, México) empleando 10 g de queso molido y 10 mL de agua destilada. El color se determinó utilizando un colorímetro ColorGard® (modelo System/05, Hunter Labs, Reston VA, EE.UU.), midiendo la reflectancia de cada muestra para obtener los parámetros *L*, *a* y *b* en escala Hunter. La acidez se determinó mediante titulación por el método 920.124, mientras que la humedad se determinó por pérdida de peso de acuerdo al método 948.12, ambos de la A.O.A.C. (2005). La actividad de agua (a_w) se midió utilizando un higrómetro eléctrico Aqualab® (modelo 3 TE, Decagon Devices, Inc., Pullman, WA, EE.UU.). Todas las determinaciones se realizaron por triplicado.

2.3 Parámetros texturales

Se utilizó un Texturómetro Texture Analyser® modelo TA.XT2 con celda de carga de 25 kg y software Texture Expert versión 1.22 (Texture Technologies Corporation, Scardale, NY, EE.UU.), con sonda plana de acero inoxidable de 35 mm de diámetro. Las muestras de queso se cortaron en cilindros (15 mm de diámetro por 15 mm de altura). Se realizaron seis repeticiones por muestra a temperatura ambiente ($21 \pm 2^\circ\text{C}$).

Para el análisis de perfil de textura se aplicó una doble compresión a 75% de la altura original de la muestra con una velocidad de 1.6 mm/s y tiempo entre ciclos de 5 s. A partir de la gráfica y mediante el software del equipo, se calcularon siete características de textura: fracturabilidad, dureza, cohesividad y adhesividad (medidas directamente), y tres calculadas a partir de los parámetros anteriores (gomosidad, masticabilidad y resiliencia) (Tunick y Van Hekken, 2010).

La firmeza del queso se determinó por compresión uniaxial a velocidad constante, las muestras fueron comprimidas 80% con relación a la altura original a una velocidad constante de 1.3 mm/s (método modificado, Buffa et al., 2001). Para la prueba de creep, se aplicó una compresión al 10% de la altura original de la muestra, durante 150 s, a una velocidad de 3.3 mm/s (Buffa et al., 2001).

2.4 Parámetros reológicos

Los parámetros reológicos se determinaron a partir de pruebas de baja amplitud oscilatoria basándose en las metodologías propuestas por Van Hekken et al. (2007) y Guo et al. (2011). Se utilizó un reómetro de esfuerzo controlado ARES (Modelo RFSIII, TA. Instruments Waters, New Castle, DE, EE.UU.), con geometría de placas paralelas estriadas

de 25 mm diámetro. Se realizó un barrido de deformación (0.01-1.0% de amplitud), para detectar la zona de comportamiento lineal El barrido de frecuencia se realizó desde 0.1 hasta 100 rad/s y se obtuvieron los siguientes parámetros: módulo de almacenamiento (G') y módulo de pérdida (G''). Las mediciones se realizaron por duplicado a temperatura controlada de $21^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ mediante un recirculador de agua Thermo Haake (Karlsruhe, Alemania).

2.5 Evaluación sensorial

La evaluación sensorial de la textura se realizó por medio de un grupo de jueces entrenados y utilizando la metodología del “Análisis Descriptivo Cuantitativo” (QDA, por sus siglas en inglés) (Stone, 1992), utilizando una escala de 1 a 4 para expresar la intensidad percibida en cada propiedad de textura. Los descriptores propuestos fueron: firmeza (fuerza de corte por molares), elasticidad (capacidad del alimento para recuperar su forma original después de una deformación menor a la del corte), resistencia al corte (fuerza necesaria para provocar el corte mediante un cuchillo), masticabilidad (número de masticaciones necesarias antes de deglutir la muestra). Adicionalmente, se evaluaron adhesividad y cohesividad (estímulos bucales durante el proceso de masticación) y cremosidad (tersura después de la masticación) (Eymery y Pangborn, 1988).

2.6 Análisis estadístico

Los resultados obtenidos se evaluaron por medio de análisis de varianza (ANOVA) de una vía, para determinar si existen diferencias significativas para cada propiedad entre las muestras, así como comparación de medias por prueba de Tukey con un nivel de significancia del 95% utilizando el paquete estadístico Minitab® versión 16 (Minitab Inc., State Collage, PA, EE.UU.).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Composición y parámetros fisicoquímicos en el queso

La composición química proximal y los parámetros fisicoquímicos de los quesos elaborados se muestran en la Tabla 1. De manera general, se observó un incremento en el contenido de grasa y proteína como respuesta al aumento de la proporción de leche de cabra en la fórmula. Los valores para a_w , fueron muy similares entre los sistemas, a excepción del queso de cabra que presentó un valor menor ($S5 = 0.977$). Con respecto al pH aunque el análisis de varianza mostró diferencias significativas entre los sistemas ($P < 0.05$), los valores

se encuentran en el rango reportado por la literatura para el queso Panela, pH 5.6-6.4 (Van-Hekken y Farkye, 2003).

El valor de luminosidad “*L*” fue mayor en los quesos con mayor contenido de leche de cabra. Lo anterior se explica debido a la ausencia de β -carotenos en la leche de cabra lo que origina un queso más blanco (Park et al., 2007).

3.2 Pruebas texturales

Los valores del área bajo la curva obtenidos en la prueba de compresión uniaxial en donde se observa que se requiere mayor esfuerzo de compresión a mayor proporción de leche de cabra en la fórmula (Figura 1). Lo que coincide con lo reportado por Mallatou et al. (1994).

Los resultados de los parámetros texturales derivados del análisis de perfil de textura (datos no reportados), mostraron un efecto significativo ($P < 0.05$) conforme aumenta la cantidad de leche de cabra en la fórmula (dureza: 5.4 – 10.8 N; gomosidad: 1.8 – 3.1 y masticabilidad: 1.4 – 2.5), éstos valores mostraron una correlación con respecto al contenido de grasa y proteína y coinciden con el rango de valores para dureza (6 – 16 N) reportados por otros autores (Tunick y Van Hekken, 2010; Guo et al., 2011). En la Figura 2, se observa una gráfica derivada del análisis de perfil de textura para la fórmula con 40% de leche de cabra.

En la Figura 3 se muestra la curva de evolución de la deformación o creep para los quesos testigo, donde se puede inferir que los quesos mostraron un comportamiento de material viscoelástico. Del análisis de dicha gráfica se observó que el queso de cabra (S5) presentó menor deformación ante el esfuerzo aplicado con respecto al queso testigo de vaca (S6).

3.3 Propiedades reológicas

En la Tabla 2 se muestran los parámetros reológicos obtenidos a partir de las pruebas dinámicas de baja amplitud oscilatoria. Los sistemas evaluados mostraron un comportamiento tipo gel fuerte ($G' > G''$) en el rango de frecuencias estudiado y en general mostraron un aumento en los valores de G' y G'' con el aumento de leche de cabra en la fórmula. Los valores para la tangente delta (δ) fueron muy similares y muy cercanos a 0, lo que confirma la naturaleza elástica de las muestras. El perfil de viscosidad compleja (η^*) obtenida para este tipo de quesos muestra un comportamiento semisólido, lo que coincide con la bibliografía referida a geles de caseína (Kealy, 2006).

Adicionalmente, las pruebas de evaluación sensorial permitieron correlacionar los parámetros texturales con el grado de aceptación del producto (atributos de calidad durante

consumo). Las fórmulas S2 y S3 fueron mejor aceptadas en base a sus propiedades de sabor, olor y textura contra los quesos testigos (Figura 4).

4. CONCLUSIONES

Los parámetros fisicoquímicos, texturales y reológicos son útiles para caracterizar las diferentes variedades de quesos. En la prueba de compresión uniaxial, el queso elaborado con 100% leche de cabra, presentó mayor fuerza de compresión o dureza, que los elaborados a partir de leche de vaca. En cuanto a los resultados de análisis de perfil de textura evidenciaron que de manera general, los valores de dureza y elasticidad fueron los más afectados y se incrementaron al aumentar el contenido de leche de cabra en la fórmula. Las pruebas de reología dinámica evidenciaron el incremento de la firmeza del queso y el módulo elástico (G'), por lo que en el rango de frecuencias estudiado las muestras se comportan como un gel sólido. Las pruebas de evaluación sensorial permitieron correlacionar los parámetros texturales con el grado de aceptación del producto (atributos de calidad durante consumo). Con base a los resultados se concluye que el uso combinado de leche de cabra y vaca es factible toda vez que modificó deseablemente las propiedades texturales del queso Panela mexicano.

BIBLIOGRAFÍA

- A.O.A.C. (2005). Official Methods of Analysis. 18th ed. AOAC International, Gaithersburg, MD, EE.UU.
- Buffa, M.N., Trujillo, A.J., Pavia, M. y Guamis, B. (2001). Changes in textural, microstructural, and color characteristics during ripening of cheeses made from raw, pasteurized or high-pressure-treated goat's milk. *International Dairy Journal*, 11, 927 – 934.
- Eck, A. (2000). What is a cheese?. En: A. Eck y J.C. Gilis (Eds). *Cheesemaking: From Science to Quality Assurance*. Lavoisier Publishing. pp. 661 – 662.
- Eymery O. y Pangborn R.M. (1988). Influence of fat, citric acid, and sodium chloride on texture and taste of a cheese analog. *Science des Aliments*, 8, 15 – 32.
- Guo, L., Van Hekken, D.L., Tomasula, P.M., Tunick, M.H. y Huo, G. (2011). Effect of salt on microbiology and proteolysis of Queso Fresco cheese during storage. *Milchwissenschaft*, 67, 74 – 77.
- Kealy, T. (2006). Application of liquid and solid rheological technologies to the textural characterization of semi-solid foods. *Food research Internacional*, 39, 265 – 276.
- Mallatou H., Pappas C.P. y Voutsinas L.P. (1994). Manufacture of Feta cheese from sheep's milk, goat's milk or mixtures of these milks. *International Dairy Journal*, 4, 641 – 663.
- Osorio-Tobón J.F., Ciro-Velásquez H.J., Guillermo-Mejía L. (2005). Rheological and textural characterization of the Edam cheese. *Dyna*, 72 (147), 33 – 45.

Park Y.W., Juárez M., Ramos M. y Haenlein G.F.W. (2007). Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*, 68, 88 – 113.

Raynal-Ljutovaca, K., Lagriffoulb, G., Paccardb, P., Guilleta, I. y Chilliard, Y. (2008). Composition of goat and sheep milk products: An update. *Small Ruminant Research*, 79, 57–72.

Stone, H. (1992). Quantitative Descriptive Analysis. En: Hooman R.C. *Manual on Descriptive Analysis Testing for Sensory Evaluation*. ASTM International, pp.15 – 21.

Tunick, M.H. y Van Hekken, D.L. (2010). Rheology and texture of commercial queso fresco cheeses made from raw and pasteurized milk. *Journal of Food Quality*, 33, 204 – 215.

Van Hekken, D.L. y Farkye, N. (2003). Hispanic Cheeses: The quest for queso. *Food Technology*, 57, 32 – 38.

Van Hekken D.L., Tunick M.H., Tomasula P.M., Molina-Corral F.J. y Gardea A.A. (2007). Mexican Queso Chihuahua: rheology of fresh cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 60(1), 5 – 12.

Vélez-Ruiz, J.F. (2009). Rheology and Texture of Cheese. En: Sosa-Morales, M.E. y Vélez-Ruiz, J.F. (Eds). *Food Processing and Engineering Topics*. Ed. Nova Science Publishers. Nueva York. EE.UU. pp 87-122.

Tabla 1. Composición química proximal de los quesos experimentales.

Parámetros	Quesos experimentales					
	S1	S2	S3	S4	S5	S6
Humedad (%)	46.34 ^c ± 1.76	46.73 ^c ± 1.08	50.06 ^b ± 1.82	47.49 ^c ± 0.81	53.24 ^a ± 1.52	51.35 ^a ± 1.43
Proteína (%)	15.18 ^d ± 0.61	16.39 ^c ± 0.45	17.43 ^{bc} ± 0.22	18.52 ^a ± 0.20	19.12 ^a ± 0.16	15.73 ^d ± 0.28
Grasa (%)	16.60 ^c ± 0.37	18.61 ^b ± 0.12	18.81 ^b ± 0.11	19.40 ^b ± 0.35	21.13 ^a ± 0.36	13.20 ^d ± 0.76
pH	6.53 ^d ± 0.01	6.67 ^a ± 0.00	6.55 ^c ± 0.01	6.58 ^b ± 0.01	6.58 ^b ± 0.01	6.57 ^{bc} ± 0.00
Ac. láctico (%)	0.06 ^c ± 0.02	0.11 ^a ± 0.00	0.07 ^{bc} ± 0.00	0.08 ^b ± 0.02	0.07 ^{bc} ± 0.00	0.07 ^{bc} ± 0.00
a _w	0.978 ^b ± 0.001	0.980 ^a ± 0.000	0.981 ^a ± 0.001	0.978 ^b ± 0.001	0.977 ^b ± 0.001	0.980 ^b ± 0.001
Color (L)	64.39 ^b ± 0.59	66.22 ^{ba} ± 0.47	65.86 ^b ± 1.97	68.61 ^a ± 1.20	66.09 ^{ab} ± 1.11	64.07 ^b ± 0.75

* Letras diferentes, indican diferencia estadística significativa con un 95% de confianza, mediante prueba de ANOVA de una vía y comparación múltiple de Tukey.

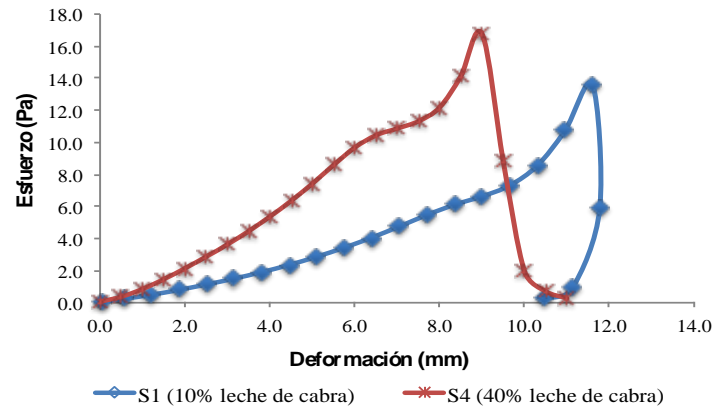


Figura 1. Curva de compresión uniaxial a velocidad constante para dos muestras de queso.

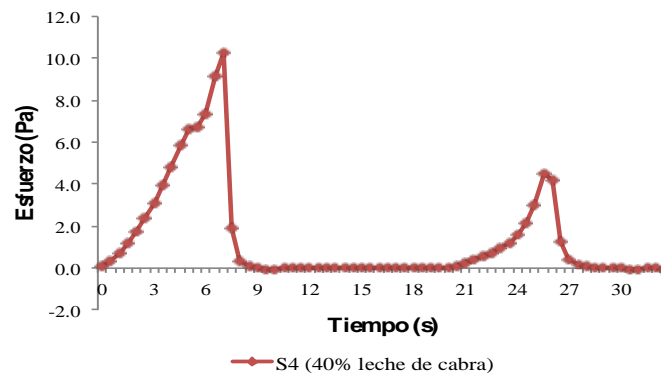


Figura 2. Curva típica del perfil de análisis de textura para un queso.

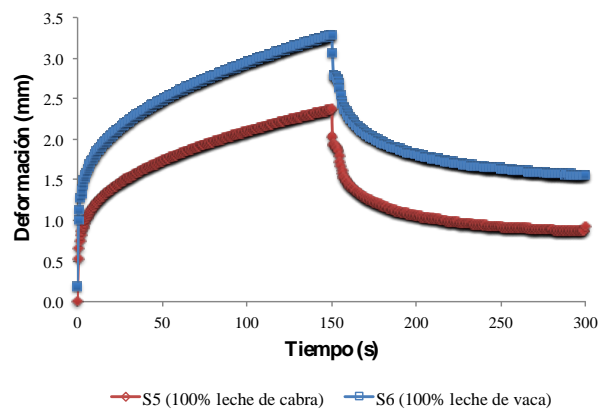


Figura 3. Curva de recuperación de creep para dos quesos testigo (S5 y S6) elaborados con leche de cabra y vaca, respectivamente

Tabla 2. Parámetros reológicos de los sistemas de queso Panela, reportados a 10 rad/s.

Sistema	Módulo elástico G' (kPa)	Módulo viscoso G'' (kPa)	Tangente delta (δ)	Viscosidad compleja η^* (kPa.s)
S1	12.183 ± 0.144	2.726 ± 0.040	0.224 ± 0.001	1.248 ± 0.015
S2	10.561 ± 0.093	2.387 ± 0.018	0.226 ± 0.000	1.083 ± 0.009
S3	14.087 ± 3.362	3.261 ± 0.753	0.232 ± 0.001	1.446 ± 0.345
S4	15.751 ± 4.747	3.534 ± 0.941	0.226 ± 0.008	1.614 ± 0.484
S5	22.448 ± 2.548	5.503 ± 0.476	0.246 ± 0.007	2.311 ± 0.259
S6	12.796 ± 3.598	2.889 ± 0.725	0.227 ± 0.007	1.312 ± 0.367

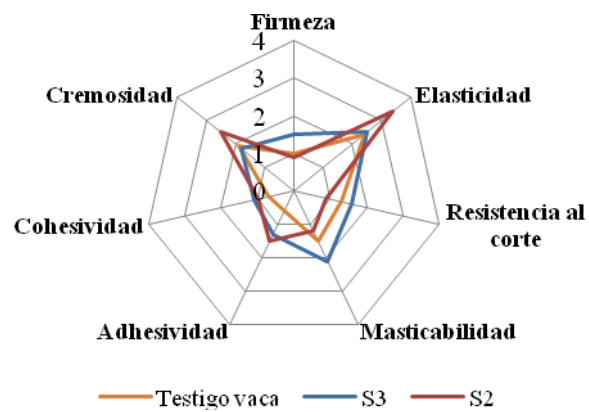


Figura 4. Evaluación sensorial del perfil de textura para dos quesos (S2 y S3), respecto al queso testigo de leche de vaca (S6).

AISLAMIENTO, SELECCIÓN Y CARACTERIZACIÓN FUNCIONAL DE CEPAS AUTÓCTONAS DE LECHE Y QUESOS ARTESANALES DE CABRA PARA LA ELABORACIÓN DE CULTIVOS INICIADORES

Carolina Ramírez-López, Jorge Fernando Vélez-Ruiz

Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental, Fundación Universidad de las Américas Puebla. Ex Hacienda Sta. Catarina Mártir S/N, Cholula, Puebla. C.P.72810. México. Tel.: +52 222 229 2126, Fax: + 52 222 229 2727. Dirección electrónica: jorgef.velez@udlap.mx y carolina.ramirezlz@udlap.mx

RESUMEN

El empleo de las bacterias ácido lácticas (BAL) en forma de cultivos iniciadores para la elaboración de productos lácteos fermentados es importante por las características de aroma, sabor y textura que éstas desarrollan, así como también por la seguridad microbiológica que ofrecen a causa del descenso de pH, presencia de bacteriocinas y otros metabolitos con actividad antimicrobiana. En el presente estudio se aislaron y caracterizaron 18 cepas de BAL de muestras de leche cruda y queso fresco artesanal de cabra, con el objetivo de seleccionar las cepas lácticas con características tecnológicas óptimas para la formulación de los cultivos iniciadores. Se determinaron las actividades proteolíticas, lipolíticas, producción de gas y capacidad acidificante. Las cepas seleccionadas fueron caracterizadas fenotípicamente, mediante pruebas bioquímicas (fermentación de carbohidratos). Los géneros presentes en mayor proporción fueron *Lactobacillus* (56%), *Lactococcus* (22%) y *Leuconostoc* (22%). Del total de cepas aisladas, 3 de ellas presentaron actividad lipolítica y fueron identificadas como *Lactobacillus acidophilus*. En general, las cepas aisladas presentaron poder acidificante y coagulante (precipitación de proteína), ninguna de las cepas presentó producción de gas. El aislamiento y caracterización bioquímica de las cepas BAL provenientes de productos artesanales, permite incrementar el conocimiento acerca del potencial de cepas autóctonas, para ser utilizadas como cultivos iniciadores, de esta manera es posible mejorar el control sobre los procesos de fermentación, permitiendo incrementar la vida de anaquel y la calidad microbiológica de un producto particularmente sensible al deterioro, como es el caso del queso fresco.

Palabras clave: bacterias ácido lácticas, cultivos iniciadores, queso fresco artesanal

1. INTRODUCCIÓN

Actualmente, diversos productos lácteos se elaboran con cultivos iniciadores comerciales, los cuales han sido aislados y seleccionados con base a algunas propiedades deseadas; producción de sabores y aromas, resistencia a bacteriófagos, producción de bacteriocinas y ácido láctico (Muzzi et al., 2010). Para fines prácticos, las cepas de cultivos iniciadores deben ser capaces de transformar el alimento, en este caso la leche, en un nuevo producto con propiedades definidas y constantes. Así mismo, deben permitir una buena conservación del alimento al ofrecer protección contra el deterioro por otros microorganismos. Los efectos inhibitorios y destructivos no sólo son el resultado de una acidificación del medio, si no que intervienen otros mecanismos, entre ellos la producción de peróxido de hidrógeno (H_2O_2), ácidos grasos, bacteriocinas y agotamiento de nutrientes, lo que favorece un aumento en la vida de anaquel del producto lácteo (Kongo, 2013). Las bacterias ácido lácticas (BAL) son organismos industrialmente importantes, reconocidos por su capacidad fermentativa, así como por sus beneficios nutricionales y para la salud humana (Saarela et al., 2000). Se utilizan en forma de cultivos iniciadores, siendo los géneros más importantes; *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Pediococcus* y *Leuconostoc* (Leroy y De Vuyst, 2004). En la producción de queso, la incorporación de BAL se basa en su capacidad para fermentar azúcares (especialmente galactosa y glucosa), para producir ácido láctico y sustancias aromáticas (Pavunc et al., 2012). El objetivo de este trabajo de investigación consistió en aislar, caracterizar e identificar cepas de BAL, aisladas a partir de leche y queso fresco de cabra.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Materia prima

Se realizaron aislamientos a partir de leche cruda y quesos frescos artesanales de cabra, las muestras fueron colectadas directamente en el hato caprino (Rancho El Sahuaro, Tecamachalco, Puebla, México) bajo condiciones extremas de higiene, y fueron transportadas al laboratorio en hielera, donde permanecieron en refrigeración (4 a 7°C) hasta su análisis, no mayor a 24 horas.

2.2 Aislamiento de bacterias lácticas de leche y quesos de cabra

Para el aislamiento de bacterias lácticas, se realizaron diluciones seriadas de cada muestra (10^{-1} a 10^{-6}), se inocularon por vertido en placa en diferentes medios de cultivo: MRS y LSAB (*Lactobacillus*), M17 (*Lactococcus*) y MSE (*Leuconostoc*), y se incubaron por 24 a

48 horas a 35°C en atmósfera microaerofílica (5% de O₂), utilizando sobres generadores de condiciones anaerobias (BD GasPak® EZ Gas Generating Systems, Baltimore, MD, EE.UU.). Las cepas lácticas aisladas fueron conservadas en glicerol al 30% a -70°C en viales para crio-preservación, así como liofilizadas utilizando leche descremada como soporte. Posteriormente se realizaron las pruebas de caracterización tecnológica quesera que consistieron en: a) Determinación cualitativa de la actividad acidificante-proteolítica; b) Determinación cualitativa de la actividad lipolítica; c) Determinación del poder acidificante y d) Prueba para la determinación de producción de gas. Todos los análisis se realizaron por duplicado.

2.3 Determinación cualitativa de actividad lipolítica

Para evaluar la capacidad lipolítica de las BAL se utilizó la metodología reportada por Morais (2004), el cual consiste en sembrar la cepa en estudio en agar nutritivo con 1% de nata (aprox. 36% de grasa), incubando a 30°C por 72 horas, al cabo de este tiempo se revisaron las placas a contra luz para detectar presencia de halo alrededor de la colonia, indicativos de una degradación de la grasa (lipólisis positiva).

2.4 Determinación cualitativa de actividad proteolítica

Para esta prueba se utilizó medio Litmus milk BD Difco® (Becton Dickinson France S.A., Le Pont de Claix, Francia), a razón de 10 mL por cada tubo (previamente esterilizado), el cuál se inoculó con 200 microlitros (2%) de una suspensión de cada bacteria de concentración 3 MacFarland (9.0×10^8 UFC/ml). La incubación se efectuó durante 7 días a 30°C, realizando la lectura diaria de los tubos.

2.5 Prueba de producción de gas

Para detectar la capacidad de producción de gas, las cepas de BAL (0.1 mL de cultivo a una concentración 3 MacFarland) fueron añadidas en tubos de ensayo con 10 mL de caldo nutritivo con 5% de lactosa y campana de Durhan. La incubación se llevó a cabo durante 4 días a 30°C.

2.6 Determinación del poder acidificante

Esta prueba fue realizada a aquellas cepas de BAL que coagularon el medio Litmus milk durante el primer día de incubación. Para realizar las curvas de acidificación se siguió el protocolo propuesto por la Federación Internacional de Lácteos (IDF, Boletín No. 306, 1995), el cual consistió en inocular la cepa a evaluar (1%), previamente estandarizada a una concentración equivalente a 4 MacFarland (1.2×10^9 UFC/mL) en 100 mL de leche entera ultrapasteurizada (UHT). Posteriormente se incubó a 30°C y se monitoreo el descenso de pH,

el crecimiento microbiano y la generación de ácido láctico al tiempo 0, 6, 12, 24 y 48 horas (Doyon et al., 1991).

2.7 Diferenciación de capacidad fermentativa (homo y heteroláctica)

A partir de un cultivo puro, cada cepa fue sembrada por estría en un medio mejorado para la identificación y diferenciación de BAL en homo y heterolácticas. El medio M5 es empleado como un medio general de diferenciación para BAL y ocupa fructosa como fuente de carbono (Zúñiga et al., 1993). Posteriormente se incubaron a 35°C en condiciones microaerófilas. Se consideran BAL homolácticas aquellas colonias azul-verdoso con vire del medio a amarillo, mientras que las BAL heterolácticas son aquellas colonias de color blanco que no provocan cambio de color en el medio, es decir, éste permanece de color azul.

2.8 Caracterización fenotípica de las cepas aisladas mediante pruebas bioquímicas

La identificación fenotípica de las cepas de BAL que se encontraban conservadas mediante congelación con glicerol al 30% a -70°C, consistió en verificar su pureza, así como la observación de sus características de morfología microscópica utilizando tinción Gram, así como las pruebas de catalasa y oxidasa. La identificación bioquímica de las cepas BAL aisladas, se realizó mediante el sistema API 50 CHL (bioMérieux, Inc., Hazelwood Missouri, EE.UU.), destinado a la identificación del género *Lactobacillus* y microorganismos próximos basado en la fermentación de los 49 azúcares. Los resultados obtenidos constituyeron el perfil bioquímico y permitieron la identificación microbiana apoyados en un programa informático APIWEB®. El llenado de los microtubos con el medio 50 CHL, adición del inóculo, incubación, lectura e interpretación de las pruebas se realizó de acuerdo con la metodología descrita en la ficha técnica incluida en el sistema API 50 CHL.

3. RESULTADOS

En total se aislaron 22 cepas, a las cuales se les hicieron pruebas bioquímicas para su caracterización.

3.1 Morfología macroscópica y microscópica

Se consideraron cepas BAL, aquellas cuyo diámetro fue de 1 a 3 mm, de color blanco cremoso, de forma redonda, puntiformes, con bordes enteros, superficie convexa, consistencia butirosa y húmeda. El medio de diferenciación M5F (fructosa) permitió distinguir las cepas homolácticas de las heterolácticas (Figura 1).

Con respecto a la morfología microscópica, de las 22 cepas aisladas, morfológicamente se identificaron 13 cepas como cocobacilos Gram positivos, 5 cepas como

cocos Gram positivos y 4 cepas que crecieron en medio MRS, pero que correspondieron a levaduras (Tabla 1).

3.2 Determinación cualitativa de actividad lipolítica

En las pruebas de determinación cualitativa de lipólisis (Figura 2), únicamente tres cepas (codificadas con los números 5, 6 y 7), presentaron actividad positiva, en la Figura 2b se muestra el halo de inhibición debido a la degradación de grasas por el sistema enzimático lipolítico de la cepa 5.

3.3 Determinación cualitativa de actividad proteolítica

Para el caso de las pruebas de proteólisis en medio Litmus milk, 14 cepas dieron positivo, es decir; presentaron coagulación y cambio de color. En la Figura 3 se representan los diferentes tipos de reacciones observadas en esta prueba.

3.4 Identificación de las cepas de BAL por pruebas bioquímicas

Los resultados de la identificación se muestran en la Tabla 2, notándose en la misma que la identificación sólo llegó a nivel de especie y en algunos casos a nivel de subespecie. En la Figura 4 se presenta la distribución de cepas por género y subespecie. Los géneros identificados fueron *Lactobacillus*, *Lactococcus* y *Leuconostoc*.

La escasa presencia de BAL puede atribuirse a diversos factores, entre los que destacan las condiciones higiénicas de la ordeña, el estado de maduración del queso (en este caso no está presente al tratarse de queso fresco), predominando cepas del género *Lactobacillus*.

3.5 Capacidad acidificante

La cinética de disminución de pH fue un factor que se utilizó para la selección de las BAL, pues el queso artesanal presenta un pH bajo. El pH bajo inhibe el crecimiento de microorganismos indeseables y patógenos. En la Figura 5a se presenta la gráfica de descenso de pH observados para las cepas seleccionadas por su potencial de intensificar las cualidades organolépticas y texturales de un queso Panela. Así mismo, en la Figura 5b se muestra la cinética de crecimiento de las BAL seleccionadas, diferentes tiempos (0, 6, 12, 24, 48 y 72 horas).

4. CONCLUSIONES

De los aislamientos en leche y quesos de cabra, el género presente en mayor proporción fue el *Lactobacillus* ($\approx 56\%$), seguido por *Lactococcus* y *Leuconostoc* ($\approx 22\%$, respectivamente). Dentro del primer grupo los microorganismos autóctonos más abundantes correspondieron a las especies

Lactobacillus plantarum, seguidos de *Lactococcus lactis* spp. *lactis* y *Lactobacillus acidophilus*, y con menor frecuencia el *Lactobacillus paracasei* spp. *paracasei*, representando en su conjunto cerca del 80% de la totalidad de las cepas. A través de las características evaluadas, es posible conocer el desempeño de las mismas durante la fermentación. El crecimiento de estas bacterias en la leche y su actividad en los quesos tiene consecuencias deseables, tales como la potenciación de aromas y sabores; y por otro lado la fermentación de la lactosa a ácido láctico, acidifica el medio y juntamente con la proteólisis de las caseínas provoca la coagulación de la leche y la sinéresis de la cuajada. El uso de cepas de BAL autóctonas permitirá mejorar el control sobre los procesos de fermentación, derivando en un aumento de la vida de anaquel y la calidad microbiológica del producto lácteo terminado.

BIBLIOGRAFÍA

Doyon, G., Gaudreau, G., St-Gelais, D., Beaulieu, Y. y Randall, C.J. (1991). Simultaneous HPLC determination of organic acids, sugars and alcohols. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*, 24 (1–2), 87–94.

International Dairy Federation. (1995). Bulletin of the IDF No. 306/1995. *Fermented and Non-Fermented Milk Products: Detection and Enumeration of Lactobacillus acidophilus*. IDF Guideline. Determination of Acidifying Activity of Dairy Cultures.

Kongo, J.M. (2013). Lactic acid bacteria as starter-cultures for cheese processing: Past, present and future developments. En: *Lactic Acid Bacteria-R&D for Food, Health and Livestock purposes*. Editor Kongo M. InTech. DOI: 10.5772/2825. 658 pp.

Pavunc, A.L., Beganovi J., Kos B., Uroic K., Blazic M. y Suskovic J. (2012). Characterization and application of autochthonous starter cultures for fresh cheese production. *Food Technology and Biotechnology*, 50 (2), 141–151.

Leroy, F. y De Vuyst, L. (2004). Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science and Technology*, 15 (2), 67 – 78.

Morais, J. (2004). Estudio de adecuación de cepas lácticas autóctonas aisladas de leche cruda de oveja guirra para la elaboración de queso. Tesis de Doctorado. Facultad de Veterinaria. Departamento de Ciencia Animal y de los Alimentos. *Universidad Autónoma de Barcelona*. 134 pp.

Muzzi, F., Raya, R.R. y Vignolo, G.M. (2010). *Biotechnology of Lactic Acid Bacteria: Novel Applications*. Primera edición. Editorial John Wiley & Sons. 352 pp.

Saarela, M., Mogensen, G., Fondén, R., Mättö, J. y Mattila-Sandholm, T. (2000). Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *Journal of Biotechnology*, 84 (3), 197 – 215.

Zúñiga, M., Pardo I. y Ferrer, S. (1993). An improved medium for distinguishing between homofermentative and heterofermentative lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 18 (1), 37– 42.

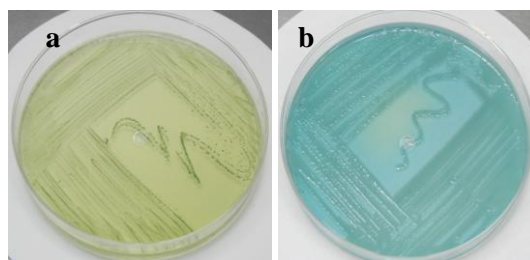


Figura 1. Diferenciación del tipo de fermentación realizado por BAL; Homoláctica y b) Heteroláctica.

Tabla 1. Caracterización bioquímica y microscópica de las cepas aisladas.

Cepa	Actividad proteolítica	Actividad lipolítica	Producción de gas	Tipo de Fermentación	Tinción Gram	Oxidasa	Catalasa
1	+	-	-	1	Cocobacilos (+)	-	-
2	+	-	-	1	Cocobacilos (+)	-	-
3	-	-	-	1	Cocobacilos (+)	-	-
4	-	-	-	1	Cocobacilos (+)	-	-
5	-	+	-	1	Cocobacilos (+)	-	-
6	-	+	-	1	Cocobacilos (+)	-	-
7	-	+	-	2	Levadura	ND	ND
8	-	-	-	1	Cocobacilos (+)	-	-
9	+	-	-	1	Cocobacilos (+)	-	-
10	+	-	-	1	Levadura	ND	ND
11	+	-	-	1	Cocos (+)	-	-
12	+	-	-	1	Cocos (+)	-	-
13	+	-	-	1	Cocos (+)	-	-
14	+	-	-	1	Cocobacilos (+)	-	-
15	-	-	-	2	Levadura	ND	ND
16	+	-	-	2	Cocos (+)	-	-
17	+	-	-	1	Cocos (+)	-	-
18	-	-	-	2	Levadura	ND	ND
19	+	-	-	1	Cocobacilos (+)	-	-
20	+	-	-	1	Cocobacilos (+)	-	-
21	+	-	-	1	Cocobacilos (+)	-	-
22	+	-	-	1	Cocobacilos (+)	-	-

¹ Fermentación homoláctica, colonias azul-verdoso, el color del medio M5F vira a amarillo

² Fermentación heteroláctica, colonias blancas, el color del medio permanece azul

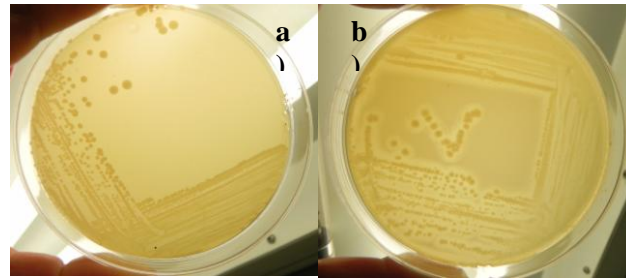


Figura 2. Crecimiento de BAL en medio agar nata para detección de actividad lipolítica;
a) Negativa y b) Positiva

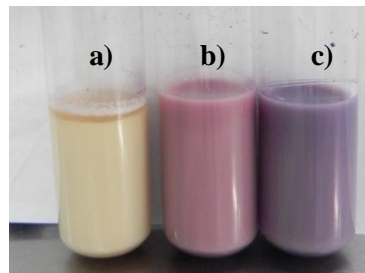


Figura 3. Reacciones en medio Litmus milk a las 24 horas de cultivo;
a) Reducción, b) Reacción ácida y c) Reacción alcalina

Tabla 2. Caracterización fenotípica (API 50 CHL) de las cepas de BAL aisladas

Origen	No. de cepas	Código de cepas	Género y especie	Porcentaje
Leche cruda	12	1, 13 y 14	<i>Lactococcus lactis ssp lactis</i> 2	25.0
		2	<i>Lactobacillus paracasei ssp paracasei</i> 3	8.3
		5 y 6	<i>Lactobacillus acidophilus</i> 1	16.7
		8 y 16	<i>Leuconostoc mesenteroides ssp mesenteroides/dextranicum</i> 2	16.7
		9, 11, 12 y 17	<i>Lactobacillus plantarum</i> 2	33.3
Queso fresco artesanal	6	3 y 4	<i>Leuconostoc mesenteroides ssp mesenteroides/dextranicum</i> 2	33.3
		19	<i>Lactococcus lactis ssp lactis</i> 1	16.7
		20, 21 y 22	<i>Lactobacillus plantarum</i> 1	50.0

Distribución de población de BAL en queso y leche de cabra

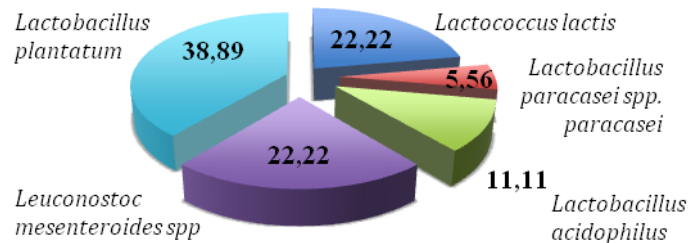


Figura 4. Porcentaje de BAL por especie, aisladas en queso artesanal y leche de cabra.

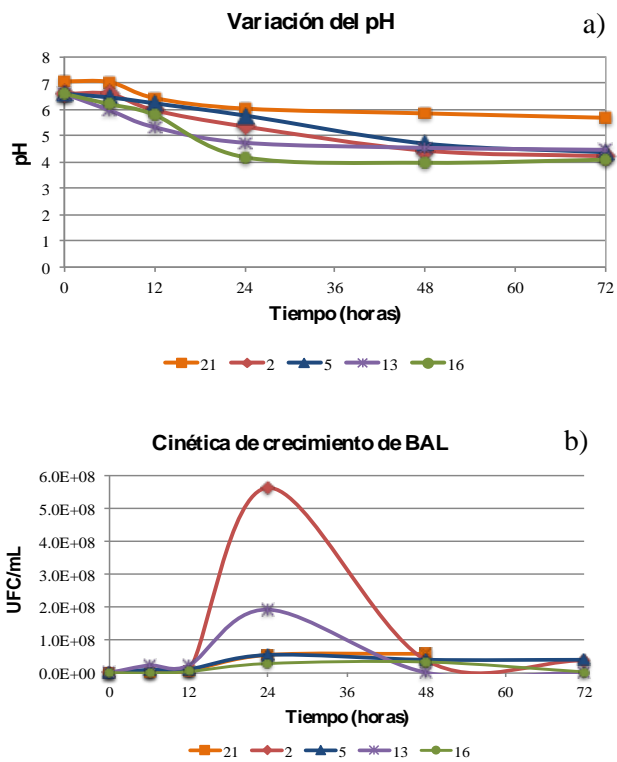


Figura 5. Capacidad acidificante. a) Curva de descenso de pH y b) Curva de crecimiento.

DETERMINAÇÃO DO CALOR ESPECÍFICO DE SUSPENSÕES AQUOSAS DE BIOMASSA DE RESÍDUOS DE AMENDOIM

Tiago Carregari Polachini*, Javier Telis-Romero*, Renato Alexandre Ferreira Cabral*

*UNESP - Universidade Estadual Paulista, Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos, São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil. E-mail: tiagopolachini@terra.com.br

1.INTRODUÇÃO

A biomassa lignocelulósica é considerada como o material mais promissório para a indústria de bioetanol devido a sua alta disponibilidade na natureza e no setor agroindustrial (FAVARO et al., 2013). Para a conversão do material lignocelulósico em biocombustível, o pré-tratamento é o primeiro passo para a geração de açúcar redutor, provenientes da quebra da celulose e hemicelulose (MENON, RAO, 2012). Os diferentes métodos de pré-tratamento podem classificar-se como: físicos, químicos, biológicos, elétricos, ou a combinação entre eles (PASSOTH et al., 2013). A conversão química combinada com a sacarificação enzimática é mostrada como o processo combinado mais eficiente, mostrando importantes resultados na indústria de biocombustíveis (ZHANG et al., 2012). Pré-tratamentos químicos são de longe, as metodologias mais estudadas entre essas categorias. Estes incluem técnicas de processos catalíticos por ácido ou álcalis, por solventes orgânicos e por água quente a pH controlado. No entanto, a maioria destes processos requer uma alta energia para quebrar a estrutura cristalina da celulose amorfa, resultando em muitos casos, na formação de produtos indesejáveis (RODSRUD et al., 2012). Pesquisas recentes sugerem que o estudo das propriedades térmicas de biomassa é um passo fundamental para padronizar e controlar os diferentes processos das operações unitárias aplicadas na indústria de biocombustíveis. O calor específico é uma propriedade térmica necessária para os cálculos de tais operações unitárias. O conhecimento preciso das propriedades termofísicas e o desenvolvimento de modelos para prever estas propriedades desempenha um papel importante na concepção e operação de plantas de biocombustíveis (SMIRNOV et al., 2013). Assim, o presente trabalho tem como objetivo principal a determinação do calor específico de suspensões aquosas de casca de amendoim em pó, em função da concentração de biomassa, pH e temperatura.

2.MATERIAIS E MÉTODOS

Cascas de amendoim (*Arachis hypogaea*, cultivar RUNNER IAC 886) foram adquiridas da empresa COPLANA (Jaboticabal, São Paulo, Brasil) e mantido a temperatura

ambiente para posterior uso. As cascas secas foram moídas usando um moinho de facas (modelo MA380, Marconi, Piracicaba, Brasil) para obter um pó com tamanho média de partícula de 950 μm , o qual foi determinado utilizando uma combinação de malhas de peneiras da série Tyler.

Feito isso, procedeu-se a preparação das diferentes suspensões aquosas. Para uma correta mistura das suspensões, todas as concentrações foram realizadas em unidades de peso, através de uma balança analítica com precisão de 0.0001 g (Modelo AUX220, Shimadzu, Japão). Usou-se um cadinho de vidro onde foram colocados como solvente água em diferentes pH (3,0; 4,0; 5,0; 6,0 e 7,0) e cascas em pó para obter as diferentes concentrações de biomassa (0; 4; 6; 8; 10 e 12% m/m). Uma vez adicionada a casca de amendoim em pó no cadinho realizou-se uma agitação até observar completa mistura da solução.

O pH da água foi ajustado com H_2SO_4 0.001%. Cada suspensão aquosa preparada foi colocada em uma panela de alumínio (ref 0219-0062, Perkin Elmer, USA). A panela de alumínio para amostras líquidas é colocada na balança onde é adicionado cuidadosamente o volume de 5 μL através de uma microseringa de 25 μL (Agilent, Santa Clara, USA) e, finalmente é tampada hermeticamente.

O calor específico (C_p) foi medido em triplicata usando um calorímetro diferencial de varredura DSC 8000 (Perkin Elmer, Shelton, USA). O equipamento foi calibrado com índio (m.p. 165.75 $^{\circ}\text{C}$, $\Delta H_f = 28.45 \text{ J.g}^{-1}$) a uma taxa de 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$. Como gás foi usado nitrogênio (99.5 % de pureza) a uma taxa de aproximadamente 20 mL/min. Painéis de alumínio para voláteis $24.01 \pm 0.04 \text{ mg}$ (ref 0219-0062, Perkin Elmer, USA) foram usadas como linha base e discos de safira sintética de 3 mm de diâmetro (ref 0219-1268, Perkin Elmer, Shelton, USA) como cobertura do material de referência (ARCHED, 1993). Linha base, material de referencia e amostra foram submetidas aos seguintes programas térmicos: isotérmico a 0 $^{\circ}\text{C}$ por 1 min, fluxo de calor de 0 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ até 60 $^{\circ}\text{C}$ e isotérmico a 60 $^{\circ}\text{C}$ por 1 min, de acordo com o método da ASTM (ASTM E1269, 2005). O programa PYRIS 10.1 (Perkin Elmer, Shelton, USA) foi utilizado para calcular o valor do calor específico ($\text{J.kg}^{-1}.\text{K}^{-1}$).

Modelos empíricos foram estabelecidos usando regressões não-lineares de superfície de dados pelo programa OriginPro 8.0 (OriginLab Corporation, Northampton, USA), usando equações de diferentes ordens em função da concentração de biomassa, pH e temperatura. O ajuste do coeficiente de correlação (R^2) foi usados para verificar a eficiência dos modelos (CASTELL-PALOU et al., 2012).

3.RESULTADOS E DISCUSSÕES

Foram determinadas as médias e desvios padrão dos calores específicos das suspensões ácidas de casca de amendoim em pó na faixa de temperatura de 1 a 60 °C, concentração de biomassa de 0,00 a 0,12 g/mL, e pH de 3 a 7, usando o método DSC. Os resultados experimentais, assim como a avaliação dos modelos são mostrados na Figura 1 e Tabela 1, respectivamente. Nas equações, x representa a fração de sólidos em suspensão; T a temperatura absoluta (Kelvin); pH representa o próprio pH e $a_1, a_2, a_3, a_4, a_5, M, N$ e K são parâmetros dos modelos.

É possível verificar pelos parâmetros extraídos dos modelos e pelos gráficos da Figura 1 e Figura 2 que o aumento da concentração de biomassa na suspensão afeta negativamente o calor específico juntamente com o aumento do pH, diferentemente da temperatura.

As dependentes que mais influenciam nos valores de calor específico são a concentração de sólidos, seguida do pH e da temperatura, com variações podendo atingir aproximadamente 595 J/kgK, 22 J/kgK e 6 J/kgK respectivamente, para a faixa de valores estudados.

4.CONCLUSÕES

A metodologia empregada para a preparação das amostras no DSC foi fundamental para uma correta análise térmica. Foram encontrados três modelos empíricos de diferentes ordens para descrever o calor específico em pH neutro (7,0) e um modelo para simular os dados experimentais do calor específico em função da concentração de sólidos, temperatura e pH. Na análise encontrou-se que a variável que mais influenciaram no calor específico foi a concentração de biomassa, seguida do pH e depois a temperatura.

Todos modelos determinados possuíam coeficiente de correlação (R^2) aproximadamente igual ou maior que 0,96, traduzindo assim, a alta capacidade dos modelos de representarem bem os valores de calor específico.

5.BIBLIOGRAFIA

Arched, D. G. Thermodynamic properties of synthetic sapphire (a-A1203) standard reference material 720 and the effect of temperature-scale differences on thermodynamic properties. J Phys Chem Ref Data. v. 22, p. 1441-1453. 1993.

ASTM E1269. Standart test method for determining specific heat capacity by differential scanning calorimetry. West Conshohocken: ASTM International. 2005.

Castell-Palou, A.; Váquiro, H. A.; Cárcel, J. A.; Rosselló, C.; Femenia, A.; Simal, S. Mathematical Modeling of Moisture Distribution and Kinetics in Cheese Drying. *Dry Technol.* v. 30, p. 1247-1255. 2012.

Favaro, L.; Basaglia, M.; Van Zyl, W. H.; Casella, S. Using an efficient fermenting yeast enhances ethanol production from unfiltred wheat bran hydrolysates. *Appl Energy.* v. 102, p. 170-178, 2013.

Menon, V. Rao, M. Trends in bioconversion of lignocellulose: biofuels, platform chemicals & biorefinery concept. *Prog Energy Combust Sci.* v. 38, p. 522-550. 2012.

Passoth, V.; Tabassum, M. R.; Nair, H. A. S.; Olstorpe, M.; Tiukova, L.; Rodsrud, G.; Lersch, M.; Sjöde, A. History and future of world's most advanced biorefinery in operation. *Biomass Bioenerg.* v. 46, p. 46-59. 2012.

Smirnov, I. A.; Smirnov, B. I.; Orlova, T. S.; Wlosewicz, D.; Hackemer, A.; Misiorek, H.; Mucha, J.; Jezowski, A.; Ramirez-Rico, J.; Martinez-Fernandez, J. Heat capacity of Bio-SiC and SiC/Si ecoceramics prepared from white eucalyptus, beech, and sapele tree wood. *Phys Solid State.* v. 55, p. 454-460. 2013.

Zhang, Z.; Donaldson, A. A.; Ma, X. Advancements and future directions in enzyme technology for biomass conversion. *Biotechnol Adv.* v. 30, p. 913-919. 2012.

6.AGRADECIMENTOS

Agradecimento ao apoio financeiro prestado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo para o desenvolvimento da pesquisa (FAPESP – Processo nº 2013/09344-4).

Figura 1. Superfície dos dados experimentais e calculados do calor específico (C_p ; J/kgK) em função da temperatura T (Kelvin) e concentração de biomassa (x ; g/mL).

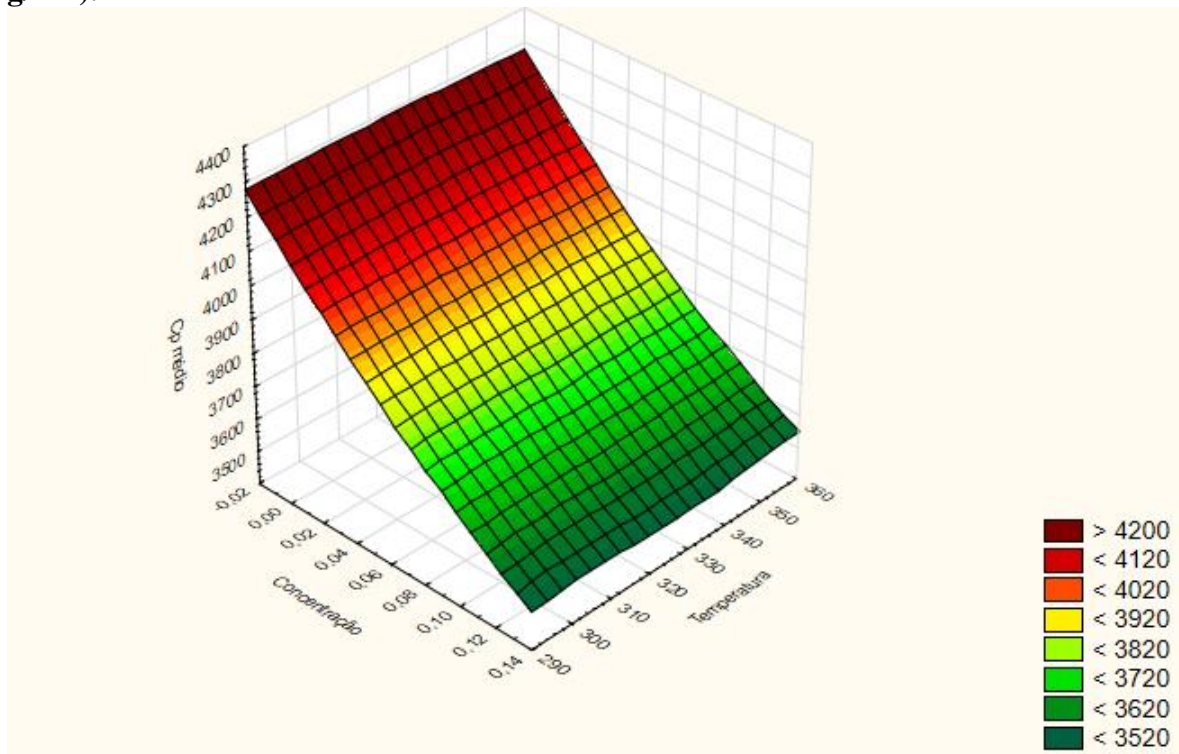


Figura 2. Superfície dos dados experimentais e calculados do calor específico (C_p ; J/kgK) em função do pH e concentração de biomassa (x ; g/mL).

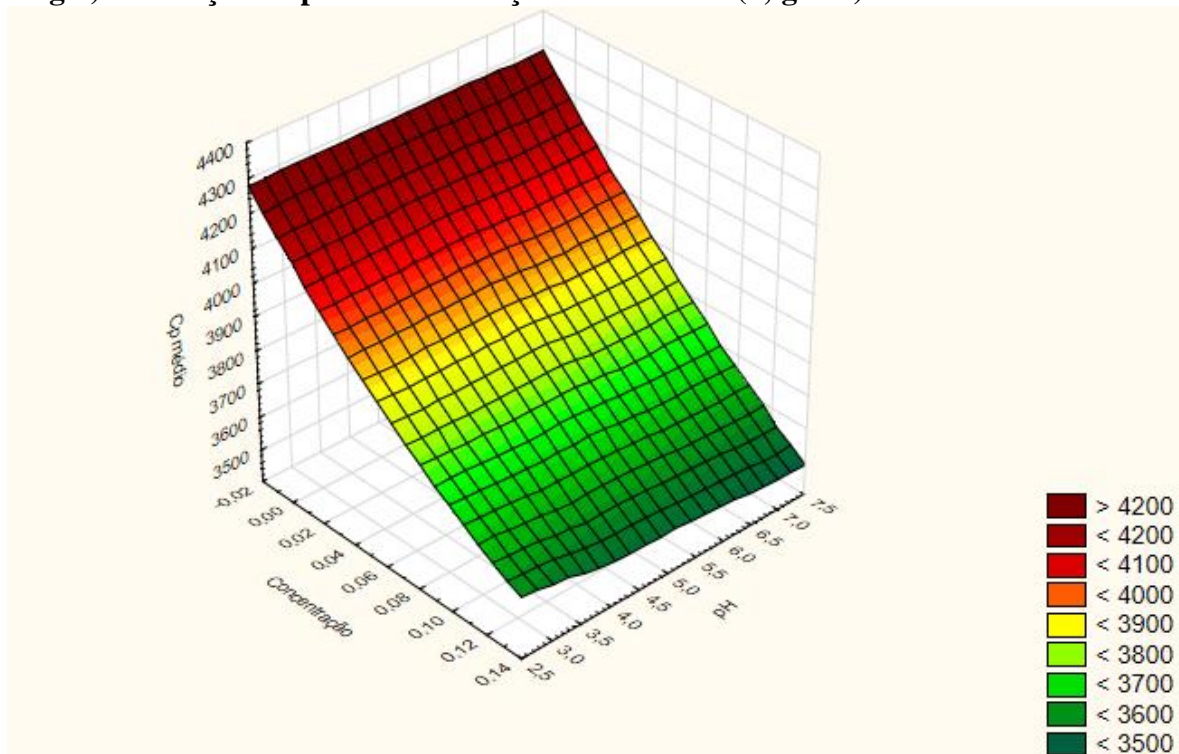


Tabela 1. Resultados da modelagem do calor específico empregando diferentes modelos empíricos, onde x = fração de sólidos em suspensão; T = temperatura absoluta em Kelvin; pH = próprio pH da suspensão.

Modelos	Parâmetros	R ²
$Cp = a_1 + a_2x + a_3T$	$a_1 = 4125,15 \text{ J.kg}^{-1}.\text{K}^{-1}$ $a_2 = -4742,53 \text{ J.kg}^{-1}.\text{K}^{-1}$ $a_3 = 0,0754 \text{ J.kg}^{-1}.\text{K}^{-2}$	0,95926
$Cp = a_1 + a_2x + a_3T + a_4x^2 + a_5T^2$	$a_1 = 4062,63 \text{ J.kg}^{-1}.\text{K}^{-1}$ $a_2 = -5738,08 \text{ J.kg}^{-1}.\text{K}^{-1}$ $a_3 = 0,5691 \text{ J.kg}^{-1}.\text{K}^{-2}$ $a_4 = 8296,26 \text{ J.kg}^{-1}.\text{K}^{-1}$ $a_5 = -7,676 \times 10^{-4} \text{ J.kg}^{-1}.\text{K}^{-3}$	0,96317
$Cp = a_1 + a_2x^M + a_3T^N$	$a_1 = 4130,42 \text{ J.kg}^{-1}.\text{K}^{-1}$ $a_2 = -3241,39 \text{ J.kg}^{-1}.\text{K}^{-1}$ $a_3 = 1,7537 \text{ J.kg}^{-1}.\text{K}^{-(1+N)}$ $M = 0,8157$ $N = 0,5567$	0,96652
$Cp = a_1 + a_2x + a_3T^N + a_4pH^K$	$a_1 = 4149,59 \text{ J.kg}^{-1}.\text{K}^{-1}$ $a_2 = -4956,2 \text{ J.kg}^{-1}.\text{K}^{-1}$ $a_3 = 0,000194 \text{ J.kg}^{-1}.\text{K}^{-(1+N)}$ $a_4 = 33,43 \text{ J.kg}^{-1}.\text{K}^{-1}$ $N = 1,7815$ $K = -0,3719$	0,960389

FENOMENOLOGIA DA APLICAÇÃO DE ULTRASSOM DE POTÊNCIA EM SUSPENSÕES DE CASCAS DE AMENDOIM EM PÓ PELO MÉTODO CALORIMÉTRICO

Tiago Carregari Polachini*, Javier Telis-Romero*

*UNESP - Universidade Estadual Paulista, Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos, São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil. E-mail: tiagopolachini@terra.com.br

1.INTRODUÇÃO

O ultrassom (US) é considerado como uma tecnologia emergente na indústria de processamento de alimentos. Esta tem duas aplicações, a primeira é o uso do som como uma ferramenta de diagnóstico, por exemplo, na avaliação não-destrutiva, e a segunda é o uso de som como uma fonte de energia, por exemplo, em sono-química. Essas aplicações envolvem diferentes gamas de frequência de ultrassom que são fonte ativa de pesquisa e desenvolvimento (DA-WEN, 2005).

A utilização de ondas ultrassônicas na degradação do material celulósico em meios aquosos é considerada um método poderoso, porque as características de sua propagação estão diretamente relacionadas com as propriedades do material. É sabido que antes da deformação do material ocorre geralmente uma deformação plástica por algum tipo de comportamento mecânico não-linear. Quando uma onda ultrassônica propaga-se através do material, nesta fase, fortes efeitos não lineares serão gerados devido às propriedades elásticas não lineares do material. Portanto, pode-se esperar que o grau de degradação do material pode ser avaliado através da medição da linearidade da onda de ultrassom propagado através do material alvo. Fatores de atenuação, velocidade do som, não-linearidade e absorção são fundamentais para pesquisar se os parâmetros de ultrassônicos tem alguma correlação com a degradação (SCHLAFER et al., 2002; KYUNG-YOUNG, 2000).

A quantidade de calor gerado é proporcional à intensidade do campo acústico, podendo-se estimar a partir do aumento da temperatura (MARGULIS; MAXIMENKO, 1991). De forma geral, este tipo de método apresenta uma elevada precisão que pode oscilar em torno de 7%, enquanto que a repetibilidade supõe desvios inferiores ao 5% (BERLAN; MASON, 1996). A técnica consiste essencialmente em medir o incremento da temperatura por unidade de tempo no meio onde são aplicados os ultrassons.

Dessa forma, por meio deste trabalho, buscou-se analisar a fenomenologia da transferência de energia das ondas ultrassônicas em meios aquosos como água (controle) e

nas suspensões de material lignocelulósico de casca de amendoim que posteriormente possam ser degradadas em açúcares fermentáveis para produção de etanol de segunda geração.

2.MATERIAIS E MÉTODOS

Cascas de amendoim (*Arachis hypogaea*, cultivar RUNNER IAC 886) foram adquiridas da empresa COPLANA (Jaboticabal, São Paulo, Brasil) e mantido a temperatura ambiente para posterior uso. As cascas secas foram moídas usando um moinho de facas (modelo MA380 - Marconi, Piracicaba, Brasil) para obter um pó com tamanho média de partícula de 950 μm , o qual foi determinado utilizando uma combinação de malhas de peneiras da série Tyler.

Feito isso, procedeu-se a preparação da suspensão aquosa de pH neutro (7,0) e concentração de sólidos de 8% ou 0,08 g/mL. Para correta mistura das suspensões, todas as concentrações foram realizadas tomando como base 1000 gramas de água destilada e 80 gramas de casca em pó, através de uma balança analítica com precisão de 0.0001 g (modelo AUX220, Shimadzu, Japão).

Água destilada (controle) e as suspensões foram submetidas à aplicação de ondas ultrassônicas promovidas por um ultrassom UP400S (Hielscher, Teltow, Alemanha) operando a uma frequência de 24 kHz e potências de 100W, 200W, 300W e 400W (Figura 1).

Um sistema de aquisição de dados através de um módulo NOVUS Fielder Logger (Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil) e software Novus FieldChart (Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil) permitiu analisar a variação de temperatura com intervalos de 10 segundos ao longo de 10 minutos de aplicação.

A potência transmitida foi calculada pelo método calorimétrico descrito pela equação 1 a seguir:

$$Po = mC_p \frac{dT}{dt} \quad (1)$$

Onde m = massa (1,080 kg para suspensão e 1 kg para água destilada), C_p = calor específico da suspensão (J/kg°C) e dT/dt a variação da temperatura em função do tempo, dada pela inclinação de um gráfico de temperatura versus tempo.

O calor específico da suspensão, determinado em um calorímetro diferencial de varredura (DSC) pode ser expresso pela equação 2:

$$C_p = 4149,59 - 4956,2x + 0,000194T^{1,7815} + 33,43pH^{-0,3719} \quad (2)$$

Onde C_p é dado em J/kgK (igual à J/kg °C); x a concentração de sólidos (g/mL), T é a temperatura absoluta (Kelvin) e pH o próprio pH da suspensão.

Para o calor específico da água destilada, foi utilizado uma correlação de Choi e Okos (1986) dada por:

$$C_p = 4176,2 - 0,090864T + 5,4731 \cdot 10^{-3} T^2 \quad (3)$$

Onde C_p é dado em J/kgK (igual à J/kg °C) e T é a temperatura (°C).

Calculadas as potências absorvidas pelo sistema, foi possível calcular a eficiência do ultrassom através de uma relação (equação 3) entre a potência emitida e a potência absorvida pela suspensão:

$$\varepsilon = \frac{\text{Potência absorvida}}{\text{Potência emitida}} \times 100 \quad (4)$$

3.RESULTADOS E DISCUSSÕES

Gráficos foram montados da temperatura da água destilada (Figura 1) e da suspensão (Figura 2) em função do tempo de aplicação do ultrassom, pelos quais foi possível obter os parâmetros de uma regressão linear: coeficiente angular (dT/dt) e o coeficiente linear (temperatura inicial da suspensão).

Substituindo a equação (2) e (3) na equação (1), aplicado à temperatura média, pode-se determinar a potência absorvida pela suspensão ou pela água calculada pela variação calorimétrica e posteriormente a eficiência do processo dada pela equação (4). Tais dados encontram-se dispostos na Tabela 1.

Notou-se pela Figura 3 que as variações de temperatura ao longo do tempo (dT/dt) seguem um padrão linear ($R^2 > 0,92$) com o aumento da potência, e pela Figura 4 na medida em que se aumentam as potências ultrassônicas, menores são as eficiências energéticas, tendendo a se estabilizar em valores próximos à 21,5% para água destilada e 25,5% para as suspensões.

4.CONCLUSÕES

Concluiu-se pelo trabalho realizado que quanto maiores são as potências aplicadas às suspensões, menores são as eficiências com relação ao método calorimétrico. Resultado o qual pode ser explicado devido a grande parte da potência aplicada ser dispersada na forma de energia sonora.

É possível observar que a presença de sólidos na suspensão faz com que a eficiência seja ligeiramente beneficiada, provavelmente pelo fato dos sólidos absorverem as ondas ultrassônicas, impedindo que atravessem o líquido e se dispersem novamente como ocorre com o controle (água destilada).

Verificou-se também que a variação de temperatura com relação ao tempo de aplicação é maior para maiores potências, assim como esperado.

5.BIBLIOGRAFIA

Berlan, J.; Mason, T. J. Dosimetry for power ultrasound and sonochemistry. In Mason, T. J. (Ed.) *Advances in Sonochemistry*. 4 ed. London: JAI Press Inc., cap. 1, p. 1-73, 1996.

Choi, Y.; Okos, M. R. Effects of temperature and composition on the thermal properties of foods. In: Lemauguer, M.; Jelen, M. *Food engineering and process applications: transport phenomena*. London: Elsevier Applied Science. v. 1, p. 93-101, 1986.

Da-Wen , S. *Emerging technologies for food processing*. 1 ed. San Diego, Elsevier Academic Press. 325-350 p., 2005.

Kyung-Young, J. Applications of nonlinear ultrasonics to the NDE of material degradation. *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control*, London, v. 47, p. 540-549, 2000.

Margulis, M. A.; Maximenko, N. A. The influence of ultrasound on oscillating reactions. Appendix: Measurement of ultrasound absorbed power (Calorimetric method). In MASON, T. J. (Ed.) *Advances in Sonochemistry*. 2 ed. London: JAI Press Inc. p. 1-328, 1991.

Schlafer, O.; Onyeche, T.; Borman, H.; Schroder, C.; Sievers, M. Ultrasound stimulation of micro-organism for enhanced biodegradation. *Ultrasonics*, Ithaca, v. 40, p. 25-29, 2002.

6.AGRADECIMENTOS

Agradecimento ao apoio financeiro prestado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo para o desenvolvimento da pesquisa (FAPESP – Processo nº 2013/09344-4).

7.TABELAS E FIGURAS



Figura 1. Ultrassom UP400S (Hielscher, Teltow, Alemanha) utilizado nos experimentos.

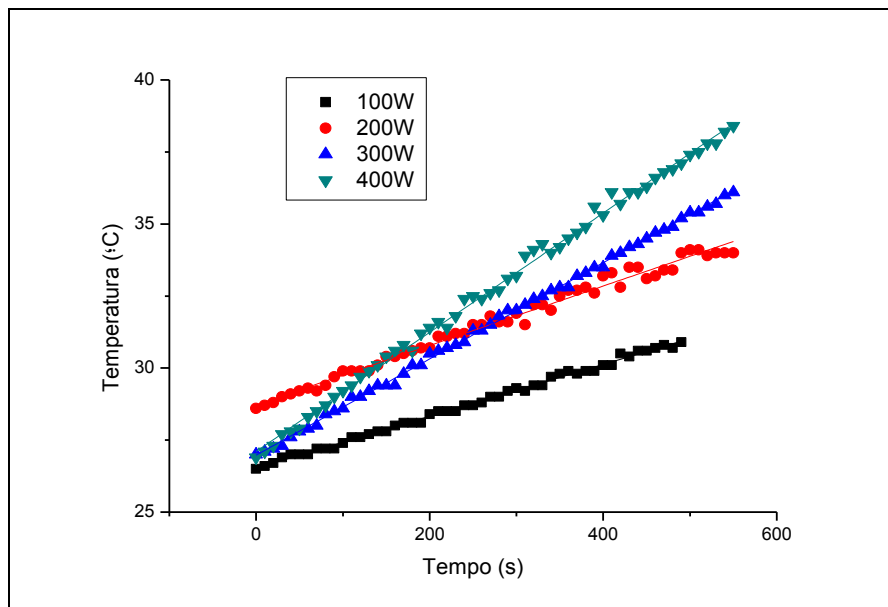


Figura 1. Variação da temperatura (°C) em função do tempo (segundos) em diferentes potências ultrassônicas para água destilada.

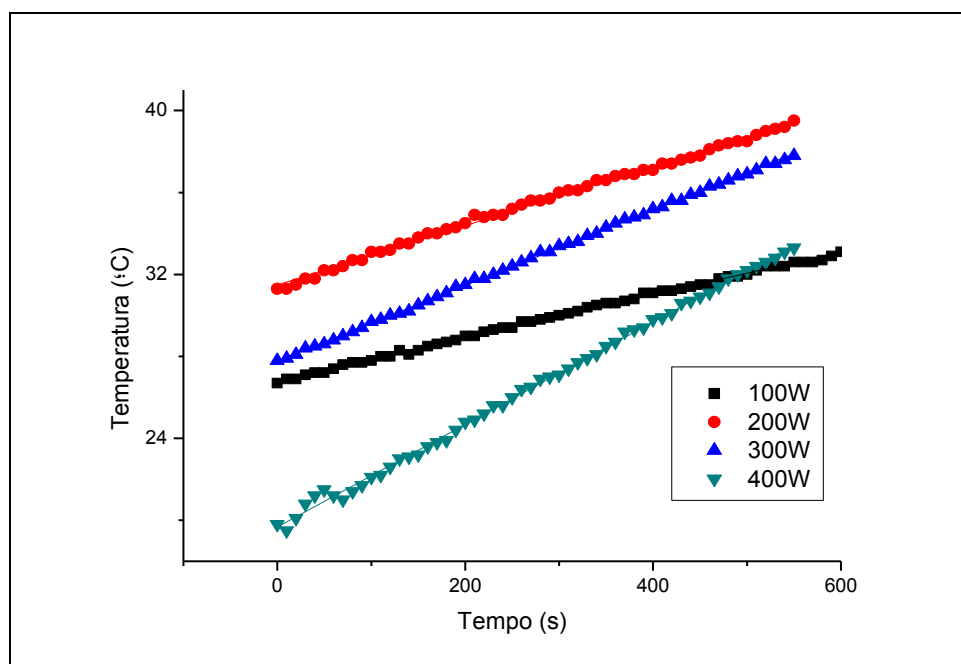


Figura 2. Variação da temperatura (°C) em função do tempo (segundos) em diferentes potências ultrassônicas para suspensões de 8% de casca de amendoim em pó.

Tabela 1. Parâmetros extraídos das regressões lineares dos Gráficos 1 e 2.

	Água				Suspensões			
	100W	200W	300W	400W	100W	200W	300W	400W
dT/dt	0,009	0,01032	0,0167	0,02068	0,01049	0,01446	0,0184	0,02502
T_{inicial} (°C)	26,5	28,7	26,9	27,1	26,8	31,5	27,8	19,7
R²	0,9961	0,9869	0,9988	0,9969	0,9980	0,9965	0,9994	0,9979
P_{absorvida} (W)	37,60	43,13	69,79	86,43	42,76	58,95	75,01	101,99
Eficiência (%)	37,60	21,56	23,26	21,61	42,76	29,47	25,00	25,50

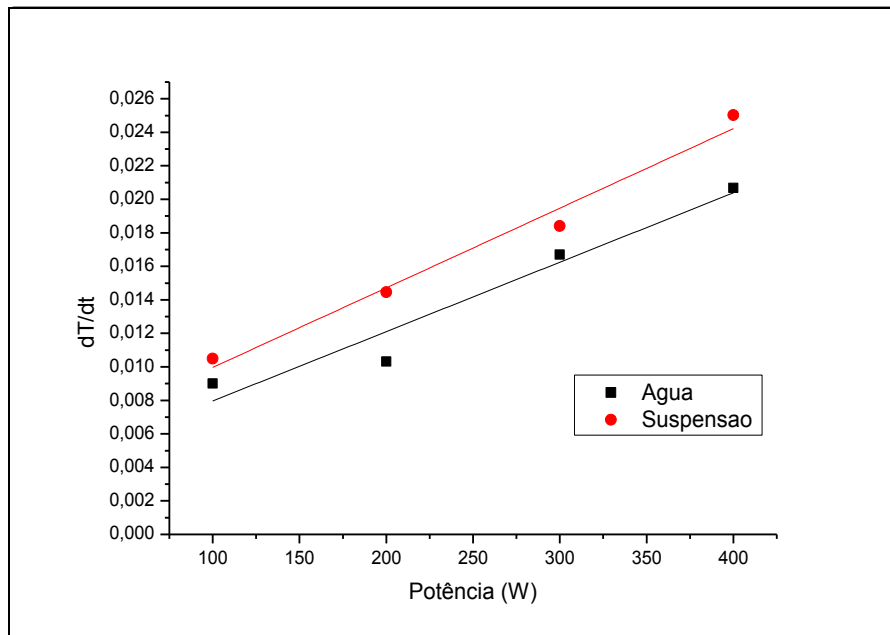


Figura 3. Variação de dT/dt com o aumento da potência ultrassônica aplicada.

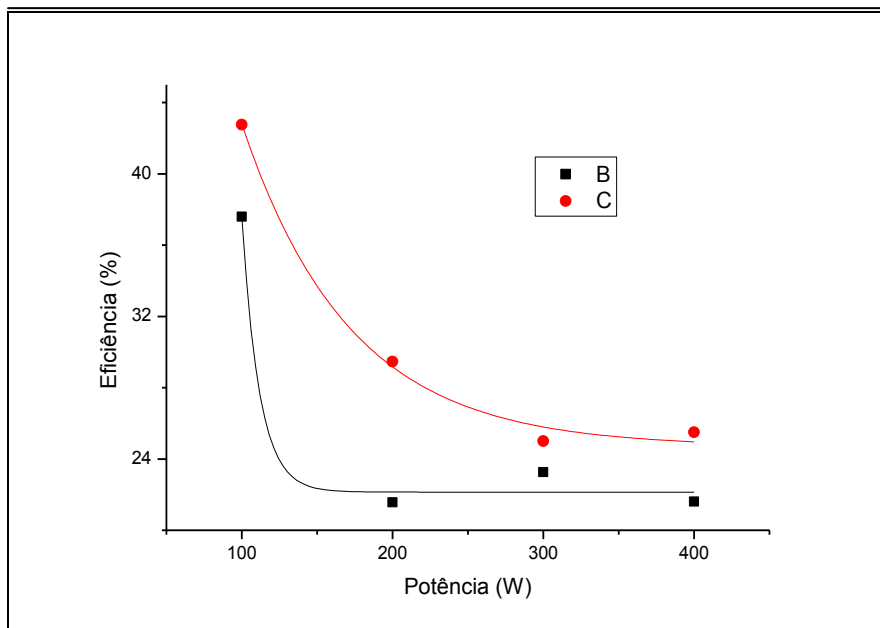


Figura 4. Avaliação da eficiência da transferência de energia em relação a potência ultrassônica aplicada.

INFLUÊNCIA DA POTÊNCIA ULTRASSÔNICA NA HIDRÓLISE DE BIOMASSA EM SUSPENSÃO PROVENIENTE DE RESÍDUOS DE AMENDOIM

Tiago Carregari Polachini*, Javier Telis-Romero*

*UNESP - Universidade Estadual Paulista, Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos, São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil. E-mail: tiagopolachini@terra.com.br

1.INTRODUÇÃO

De acordo com Hon (1996), os resíduos agroindustriais, compostos principalmente de material lignocelulósico ou biomassa, são atualmente umas das principais fontes energéticas renováveis de século XXI, amplamente exploradas e pesquisadas em função da crise energética de 1973. Numerosas aplicações podem ser realizadas, dando um valor agregado ao material, onde a reciclagem, preparação e pré-tratamento devem ser eficientes para garantir uma correta relação custo-benefício no processamento da biomassa (ARVANITTOYANNIS, 2008; HON, 1996).

O beneficiamento de amendoim é exemplo claro de produção de biomassa, já que segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) em 2012, o Brasil chegou a uma média de 328 mil toneladas de amendoim em casca, com uma variação prevista para 2013 de mais de 5% do total (IBGE, 2013). Isso inclui o amendoim como a quarta maior cultura do agronegócio brasileiro, além de ser muito utilizado como cultura rotativa e complementar em relação à cana-de-açúcar. Atualmente, o Brasil exporta uma fatia de 25% de todo amendoim consumido no mundo e, somente o estado de São Paulo, concentra 80% de toda a produção nacional (ABICAB, 2013).

A utilização de ondas ultrassônicas destaca-se na degradação de material e aceleração de processos, uma vez que as características de sua propagação estão diretamente relacionadas com as propriedades do material. Esta degradação pode ser aplicada aos materiais lignocelulósicos (polímeros de glicose) com o intuito de produzir açúcares fermentáveis para a posterior produção do etanol de segunda geração.

Esses efeitos do ultrassom de potência são atribuídos devido à cavitação acústica: quando um líquido é submetido a ondas ultrassônicas, são formadas micro-bolhas, que crescem e oscilam extremamente rápido e, eventualmente, colapsam poderosamente devido à alta pressão acústica no meio. Esses colapsos ocorrem perto de superfícies sólidas, gerando micro-jatos e ondas de choque que resultam na limpeza, erosão e fragmentação da superfície do material.

Uma forma eficaz de avaliar o grau de hidrólise de material lignocelulósico, pela aplicação de ultrassom de potência, é através da medição de açúcares totais e redutores formados ao longo da hidrólise física. Esta resposta, e objetivo deste trabalho, pode traduzir a influência que parâmetros como a potência ultrassônica têm sobre a degradação da biomassa.

2.MATERIAIS E MÉTODOS

As amostras de casca de amendoim foram obtidas já limpas e secas pela empresa Cooperativa Agroindustrial – COPLANA (Jaboticabal, São Paulo, Brasil) e armazenadas a temperatura ambiente até posterior uso.

Utilizando-se de um moinho de facas modelo MA380 (Marconi, Piracicaba, Brasil) obteve-se uma amostra de casca de amendoim em pó com tamanho médio de partícula em torno de 950 μm .

As suspensões foram preparadas utilizando água destilada e casca em pó a fim de se obter concentração de 0,08 g/mL ou 8% (m/m). Feito isso, submeteu-se as suspensões à aplicação de diferentes potências ultrassônicas durante 60 minutos, sendo elas: 300W, 600W, 900W, 1200W e 1500W.

Os ensaios foram realizados utilizando um ultrassom de potência VCX 1500HV (Sonics & Material Inc., Newtown, USA) que trabalha em uma frequência de 24 kHz e potência nominal e 1500W (Figura 1). A câmara de sonificação também conta com uma camisa para controlar a temperatura por meio de água resfriada fornecida por um banho controlado à aproximadamente 15°C.

Terminado cada ensaio, a amostra hidrolisada foi recolhida em tubos de ependorf e centrifugadas a 4000 rpm por 15 minutos em uma centrífuga modelo Z306 (HERMLE Labortechnik, Wehinger, Alemanha) para separar a biomassa do xarope.

Para determinação do teor de açúcar redutor, foi empregado o método espectrofotométrico DNS (ácido 3,5 – dinitrosalicílico) descrito por Miller (1959) e para a determinação dos açúcares totais foi usada a técnica de fenol-sulfúrico de Dubois et al. (1956) pela aplicação em microplacas. Para os cálculos em triplicata de ambos os métodos foram utilizadas soluções de glicose para as construções de curvas padrão lidas em diferentes comprimentos de onda.

3.RESULTADOS E DISCUSSÕES

Ao final dos ensaios e das respectivas análises, foram obtidos os dados exibidos na Tabela 1 para açúcares totais e açúcares redutores produzidos pela hidrólise física.

É possível observar pelos gráficos da Figura 1 que a produção de açúcares redutores e totais seguiu um perfil polinomial, apresentando maiores teores para maiores potências como esperado, porém altos valores também foram obtidos para baixas potências.

Tais variações podem ser justificadas pela:

- aderência dos açúcares nas fibras das cascas do sedimentado;
- degradação dos açúcares produzidos em compostos como hidroximetilfurfural (HMF) e furfural;
- interação de outros compostos produzidos na hidrólise e os açúcares do hidrolisado;

Valores similares foram verificados entre este trabalho e por Werle et al. (2013), onde obteve-se 0,12 gramas açúcares fermentáveis por grama de folha de palmeira comparado a 0,18 gramas de açúcares fermentáveis por grama de casca de amendoim em pó obtido por este trabalho.

4.CONCLUSÕES

As quantidades de açúcares totais variaram de 3,12 à 5 mg/mL de hidrolisado e de açúcares redutores de 1,37 à 2,22 mg/mL. Apesar das variações não-lineares de grau de hidrólise representado pela produção de ambos açúcares, maiores potências indicam maior grau de hidrólise.

5.BIBLIOGRAFIA

ABICAB. Cultivo de Amendoim. 2012. Associação Brasileira das Indústrias de Chocolates, Cacau, Amendoim, Balas e Derivados. Disponível em: <<http://www.abicab.org.br/amendoim/cultivo-de-amendoim>>. Acesso em: 02/04/2013.

Arvanitoyannis, I. S. Waste management for the food industries. 1 ed. Boston: Academic Press, 2008. 400-750 p.

Hon, D. N.-S. Chemical modification of lignocellulosic materials. 1 ed. New York: Marcel Dekker, 1996. 3-50 p.

IBGE. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2013. 86 p.

Dubois, M.; Gilles, K.A.; Hamilton, J.K.; Rebers, P.A. & Smith, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Anal. Chem. v. 28, p.350-356, 1956.

Miller, G.L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.* 31, 426–428. 1959.

Werle, L. B.; Garcia, J. C.; Kuhn, R. C.; Schwaab, M.; Foletto, E. L.; Cancelier, A.; Jahn, S. L.; Mazutti, M. A. Ultrasound-assisted acid hydrolysis of palm leaves (*Roystonea oleracea*) for production of fermentable sugars. *Industrial Crops and Products.* 45, 128-132. 2013.

6.AGRADECIMENTOS

Agradecimento ao apoio financeiro prestado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo para o desenvolvimento da pesquisa (FAPESP – Processo nº 2013/09344-4).

7.FIGURAS E TABELAS



Figura 1. Ultrassom de potência VCX 1500 HV utilizado nos ensaios ultrassônicos de hidrólise física.

Tabela 1. Resultados obtidos das hidrólises utilizando ultrassom de potência.

Ensaio	Potência (W)	Açúcares Redutores (mg/mL)	Açúcares Totais (mg/mL)
1	300	1,37	3,63 ± 1,05
2	600	2,12	5,00 ± 0,12
3	900	2,12	3,77 ± 0,89
4	1200	1,71	3,12 ± 0,75
5	1500	2,22	4,31 ± 0,12

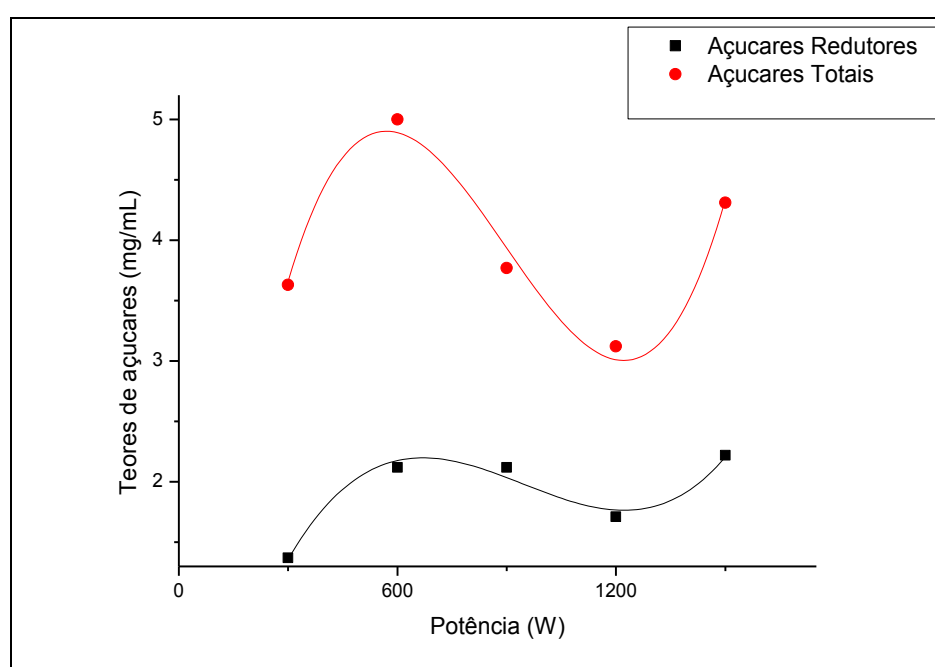


Figura 1. Gráfico da produção de açúcares redutores (preto) e açúcares totais (vermelho) em função da potência ultrassônica.

APLICACIÓN DE LA MATRIZ DE CALIDAD EN EL DESARROLLO DE UNA MIEL CREMOSA CON MACADAMIA (*Macadamia Integrifolia*)

¹Leidy Marcela Montoya Devia, Mónica Patricia Osorio Tangarife ^{1,2}Nelson Rodriguez Arias; Guillermo Salamanca Grosso

¹Grupo de Investigaciones Mellitopalínológicas y Propiedades Físicoquímicas de Alimentos. Departamento de Química.

^{1,2}Departamento de Matemáticas y Estadística. -Facultad de Ciencias. Universidad del Tolima

A 546 Ibagué-Tolima-Colombia. **Email:** salamancagrosso@gmail.com

RESUMEN

La aparición de mieles cremosas ha posibilitado su uso como matriz para el desarrollo de nuevos productos. El análisis del modelo de despliegue de la función de calidad (QFD), es un método para el diseño de productos y servicios que permite convertir las necesidades del cliente en requerimientos técnicos, permitiendo reflejar los gustos de los clientes más que las características tecnológicas o ingenieriles del diseño. En este trabajo se ha implementado y optimizado el desarrollo de un producto untable de consumo humano, mediante incorporación de nueces de macadamia molturada usando miel cristalizada bajo proceso Dice, con homogenización a 26°C y 76% HR, logrando la nucleación a 12°C en 14 días. En la preparación de las mezclas se utilizó el paquete estadístico Minitab16™, considerando un diseño de dos componentes (Simplex Lattice), con rangos establecidos en fracción: 0.15-0.30 (Macadamia) y 0.70-0.85 (Miel), para un total de 5 formulaciones: 1(15:30); 2(30:70); 3(22.5: 77.5); 4(18.7:81.3); 5(26.3:73.7). Estas mezclas se envasaron y dispusieron en frascos de vidrio de 250 g en borosilicato y tapa Twiss off. Análisis físicoquímicos, microbiológicos y sensoriales, fueron realizados en el proceso de caracterización. El producto optimizado se evaluó siguiendo criterios de la función de calidad, indicando que es competitivo en el mercado de alimentos untables por sus componentes innovadores en los ingredientes y por la gran aceptación de sus características organolépticas. Los valores óptimos de la mezcla fueron 24.8 en nuez y 75.2% de miel. El producto es estable almacenado a 10° C durante 22 semanas, requiriendo de refrigeración para evitar su enranciamiento.

Palabras clave: Alimentos. Calidad. Miel. Macadamia. Nuevos productos

INTRODUCCIÓN

La miel es un alimento producido por las abejas (*Apis mellifera L*), a partir del néctar de las flores y otras materias azucaradas que recogen de las plantas, transforman, enriquecen y las depositan en paneles de cera, corresponde a una mezcla de distintos azúcares (FAO, 2000; Salamanca, 2001). Miel con alto contenido de glucosa (30% o más) presentan una mayor tendencia a la cristalización, ya que este monosacárido pierde agua y se convierte en glucosa monohidratada, formando una red de cristales y creando un estado semisólido en la miel sobresaturada (Bogdanov, Jurendic, Sieber y Gallmann, 2008) La cristalización de la miel es usualmente indeseada, a causa de la producción de núcleos grandes de consistencia áspera. Cuando se induce la cristalización ésta permite la generación de cremas cuyos componentes granulares son finos y de consistencia suave. Se han estudiado distintas técnicas de cristalización inducida: por agitación o por mezcla de dos mieles (Fernández, 2001; Piana, 2002). Usualmente una miel líquida se mezcla con una fracción porcentual de miel cristalizada, bajo condiciones térmicas específicas. Este tipo de productos permite la incorporación de nuevos componentes para la generación de alimentos energéticos y funcionales.

El desarrollo de nuevos productos alimenticios, conlleva a la necesidad de implementar estrategias para el mejoramiento de la calidad de los productos antes de su ingreso al mercado. El modelo de despliegue de la función de calidad (QFD) brinda atención especial a los elementos cualitativos que permiten conocer mejor al consumidor y contribuir al mejoramiento continuo de productos y servicios (Sohn, So Young & Hyoung Ki So (2002), Vanegas, L. V. y A. W. Labib (2001), Martins, Aliksiei, & Elaine M. Aspinwall (2001), Tan, K. C. & X. X. Shen (2000) La tecnología de procesos y la implementación del método Dyce en relación a las mieles cristalizadas y cremosas, se han establecido nuevas posibilidades para la incorporación de productos funcionales y el aporte de factores nutricionales. El objetivo de este trabajo ha sido el aprovechamiento de miel y nueces de Macadamia (*Macadamia integrifolia*), en el desarrollo de nuevos productos alimentarios, donde coexisten factores intrínsecos propios de los componentes miel y nuez a través del diseño de mezclas y su análisis a través del núcleo central del QFD (Casa de la calidad).

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia prima. En el estudio fueron consideradas nueces de Macadamia (*Macadamia integrifolia*) proveniente de cultivos comerciales del corredor Palmira-Pradera

(Valle) y comercializado en mercados de abasto en Pereira (Colombia). La miel usada en el trabajo se benefició en apiarios del sector de Villanueva (Casanare).

Elaboración miel cremada. Muestras de miel fueron inducidas a cristalización a 12°C. La homogenización y generación de la base cremada se realizó siguiendo la metodología descrita en el modelo Dice citada por Piana (2002). En el proceso se usó una batidora OsterTM de 10 velocidades, dispuesta con dos motores (80-245 wattios). La temperatura de homogenización fue de 26°C y humedad relativa de 76%. La mezcla se dispuso en recipiente de 1Kg, posteriormente se mantuvo en baño térmico a 14°C por 12 días.

Trituración nueces. Las nueces se extrajeron a través de técnicas mecánicas, procediendo a la reducción del tamaño de partícula mediante molturación. El producto se empacó usando una empacadora y selladora al vacío marca OsterTM; se mantuvo en congelador a 4°C hasta el momento de su incorporación en cada una de las mezclas evaluadas.

Diseño mezclas. La incorporación de las nueces molturadas se hizo sobre las muestras de miel cremada, retiradas del baño frigorífico, este material se incorporó a la mezcladora. En la preparación de las mezclas se utilizó el paquete estadístico Minitab15TM. El diseño considerado se hizo sobre dos componentes (Simplex Lattice), los rangos establecidos en fracción fueron: 0.15-0.30 (Macadamia) y 0.70-0.85 (Miel), para un total de 5 formulaciones: 1(15/30); 2(30/70); 3(22.5/77.5); 4(18.7/81.3); 5(26.3/73.7). Estas mezclas se envasaron y dispusieron en frascos de vidrio de 250g en borosilicato y tapa Twiss off.

Análisis fisicoquímico. Las determinaciones analíticas para el pH, ° Brix, conductividad y sólidos iónicos solubles totales de cada una de las mezclas de miel crema y Macadamia se realizaron usando agua destilada y deionizada; 5 g de cada una de las mezclas se diluyeron en 20 ml de agua destilada y se procedió a la evaluación de cada una de las determinaciones; se realizaron correcciones para la conductividad y sólidos iónicos. Se abordaron las metodologías AOAC (2003). Las caracterizaciones para el color se evaluaron conforme al sistema CIELab (León, Pedrechi y León, 2006).

Evaluación sensorial. Las muestras fueron sometidas a evaluaciones sensoriales por parte de 16 jueces entrenados, utilizando una escala hedónica de 0 a 9, determinando en cada caso los parámetros de aspecto visual (homogeneidad y dispersión de la mezcla), sabor a macadamia, aroma a miel, textura bucal (criterio de homogeneidad), dulzor, untabilidad (facilidad con que el panelista puede untar el producto con la ayuda de una paleta) y sensación global. El estudio se realizó a través de análisis descriptivo cuantitativo QDATM.

Función de Despliegue de la Calidad: Esta herramienta representa gráficamente la relación entre los requerimientos del consumidor (RC) y las características técnicas del proceso (CT) necesarias para satisfacerlas. La metodología utilizada para realizar la casa de la calidad corresponde a la descrita por Akao y Yoji (1988) e implementada por autores como Park, Hee y Seung (2002), Selen, Willem y Jos (2001) y Yacuzzi, Enrique y Martín (2002). Previamente se entrevistó a los consumidores para obtener la voz del consumidor (necesidades del cliente) y agrupar estas necesidades mediante un diagrama de afinidad, obteniendo de esta manera los RC. Se utilizó el software QFD capture profesional Edition. Los RC se encuentran en la parte vertical de la matriz, mientras que los CT en la parte horizontal superior. En la parte derecha de los RC se ubica la prioridad asignada a cada RC, que se obtuvo por consenso entre el personal técnico del laboratorio y un grupo de consumidores. Los cruces entre las filas y columnas de la matriz representan la intensidad del vínculo entre cada RC con los CT correspondientes. Además de ello, dentro de la matriz existe una columna con la prioridad que los clientes asignan a cada RC, varias columnas que comparan los RC del producto desarrollado con los de la competencia y un panel triangular que indica la correlación existente entre las distintas CT.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Materia prima: La miel proviene de la flor de Eucalipto (monofloral), presenta 17% de humedad, fructosa (38.7%), glucosa (31.4%), sacarosa aparente (1.50%), la acidez total es de 26.4 (meq/Kg) y pH de 3.82 (Salamanca, 2005). El sabor hostigante se atribuye al elevado contenido de miel en el producto, debido a la presencia de altas concentraciones de azúcares. Ahora bien, el origen biogeográfico de la miel influye intensamente en la presencia del sabor hostigante y el sabor residual desagradable. La miel de Eucalipto brinda buenas características al producto, sin embargo, el uso de mieles con sabores más suaves y notas florales, podría generar cambios favorables en el producto final. El análisis proximal sobre la nuez de macadamia revela una fracción lipídica total de 71%; la proporción de proteína 7.62%, carbohidratos 7.20% y cenizas 1.52%. La nuez aporta calcio (670 mg/Kg); magnesio (1020mg/Kg) y potasio (3490mg/Kg). El valor nutricional en términos de aporte energético alcanza las 613 calorías/100g. La composición media de ácidos grasos es como sigue: mirístico (1.20%), palmítico (15,5%), palmitoléico (22,5%), esteárico (3,50%), oléico (53.1%), linoléico (2,95%) y araquídico (2,85%). Esta relación se define en términos de 19.8% de ácidos grasos saturados y 80.0% de insaturados a favor del ácido palmitoleico y

oleico respectivamente (Garg, et al., 2007; Monaghan, 2008; Siwaporn, Juthamas y Kanitha, 2008). Es evidente que el valor funcional del producto está siendo aportado no solo por los componentes naturales de la miel (azúcares), sino también por la composición nutricional de la macadamia. El uso de grandes concentraciones de este componente puede generar aparición de sabores residuales desagradables debido al alto contenido de ácidos grasos.

Análisis de mezclas: Dado que la miel es un producto de carácter ácido, en las mezclas esta característica se mantiene, pero se ve influenciada por la incorporación de la nuez de una parte y de la residualidad de aire ocluido durante el proceso de homogenización de otra; estas condiciones permiten la disminución de la acidez con aumento de pH desde 5.60 a 5.90; este comportamiento se ajusta a un modelo cuadrático ($P_v < 0.0397$; $r^2 = 96.6$), con una pequeña contribución de la interacción macadamia/miel; el pH óptimo se logra con una mezcla 25.1% macadamia y 74.9% miel, alcanzando el valor 5.90. Las muestras a su vez presentan un contenido de humedad entre 12.7 y 14.9%. La actividad de agua es del orden de 0.56, condición que restringe la proliferación de mohos y levaduras. Los valores de conductividad presentan rangos estrechos que van de 0.95 a 1.02 ms. En la tabla 1 se relacionan los parámetros fisicoquímicos en 5 formulaciones. Los sólidos solubles de la miel corresponden a un modelo lineal ($P_v = 0.0049$; $r^2 = 88.9$), aportan principalmente fructosa y glucosa, componentes energéticos de fácil asimilación. La formulación con mayor aporte es la de 75°Brix, con 273 calorías/100g.

El parámetro luminancia (L) no presenta diferencias importantes en las formulaciones evaluadas; la cromaticidad (b^*) amarillo-azul, presenta un comportamiento cuadrático ($P_v = 0.05$; $r^2 = 88.9$), está en función de las proporciones de los componentes, alcanzándose un valor óptimo de 36.3 cuando las proporciones son 15-85 (macadamia-miel), por otra parte los parámetros sensoriales que se ajustan a modelos lineales, corresponden a la textura bucal ($P_v = 0.0194$; $r^2 = 87.5$), y la percepción del sabor a macadamia ($P_v = 0.0006$; $r^2 = 98.7$), alcanzando óptimos sensoriales superiores a 8.3 y 8.7 respectivamente, para una mezcla de componentes en la proporción 30-70; en la textura bucal el comportamiento de estos componentes y sus características palatables dependen en mayor medida de la dispersión de la macadamia en miel; asimismo, el sabor a nuez generado a partir del producto molturado, es percibido por los jueces en la medida en que se incrementa este componente, vale indicar que la miel contribuye de manera importante potencializando los matices propios de esta nuez.

Valoraciones sensoriales: La sensación global del producto se encuentra en función de la forma de preparación de las muestras, de la mezcla íntima de los componentes y de la ausencia de defectos. Las percepciones por parte de los jueces se ajustan a un modelo

cuadrático (P_v 0.05; $r^2=91.9$); los óptimos se perciben cuando la mezcla es de 24-76% macadamia-miel, relación puntuada con valores medios de 8,7. Una optimización similar de los componentes y el mismo modelo se aplican al aspecto visual ($P_v=0.0457$; $r^2=94,5$), con valor óptimo mayor a 6.62, dependiente de las proporciones de nuez, de miel cremada y de la mezcla final.

Función de Despliegue de la Calidad: Refleja las características (necesidades del consumidor) más importantes que debe tener el producto y los componentes técnicos con mayor peso, sobre los que se debe ejercer control, logrando el mejoramiento de la calidad. En la miel cremosa con macadamia, el porcentaje de importancia de las características de calidad varía entre 7.7 y 18.5%. Las características (RC) de mayor peso corresponden al sabor residual agradable, ausencia de sabor hostigante, presencia de componentes funcionales y ausencia de colorantes, saborizantes y conservantes en el producto (Figura 1). El porcentaje de importancia de los CT se encuentra entre 3.5 y 21.9, siendo mayores la concentración de miel, origen biogeográfico de la miel, grados brix del producto, acidez del producto y concentración de macadamia. Se observó que la materia prima utilizada en la elaboración del producto, influyó de manera significativa sobre los parámetros de calidad de la miel cremosa con macadamia.

CONCLUSIONES

El producto desarrollado a base de miel de abejas cremada y macadamia permite diversificar el consumo de miel y aprovechar el alto contenido de grasa monoinsaturada de la nuez. De acuerdo a la respuesta sensorial optimizada la relación de los componentes en la mezcla corresponden a 24.8% (macadamia) y 75.2% (miel). La característica de calidad de mayor importancia corresponde al sabor residual agradable (18.5%), mientras que la característica técnica del proceso de mayor relevancia es la concentración de miel (21.9%).

BIBLIOGRAFÍA

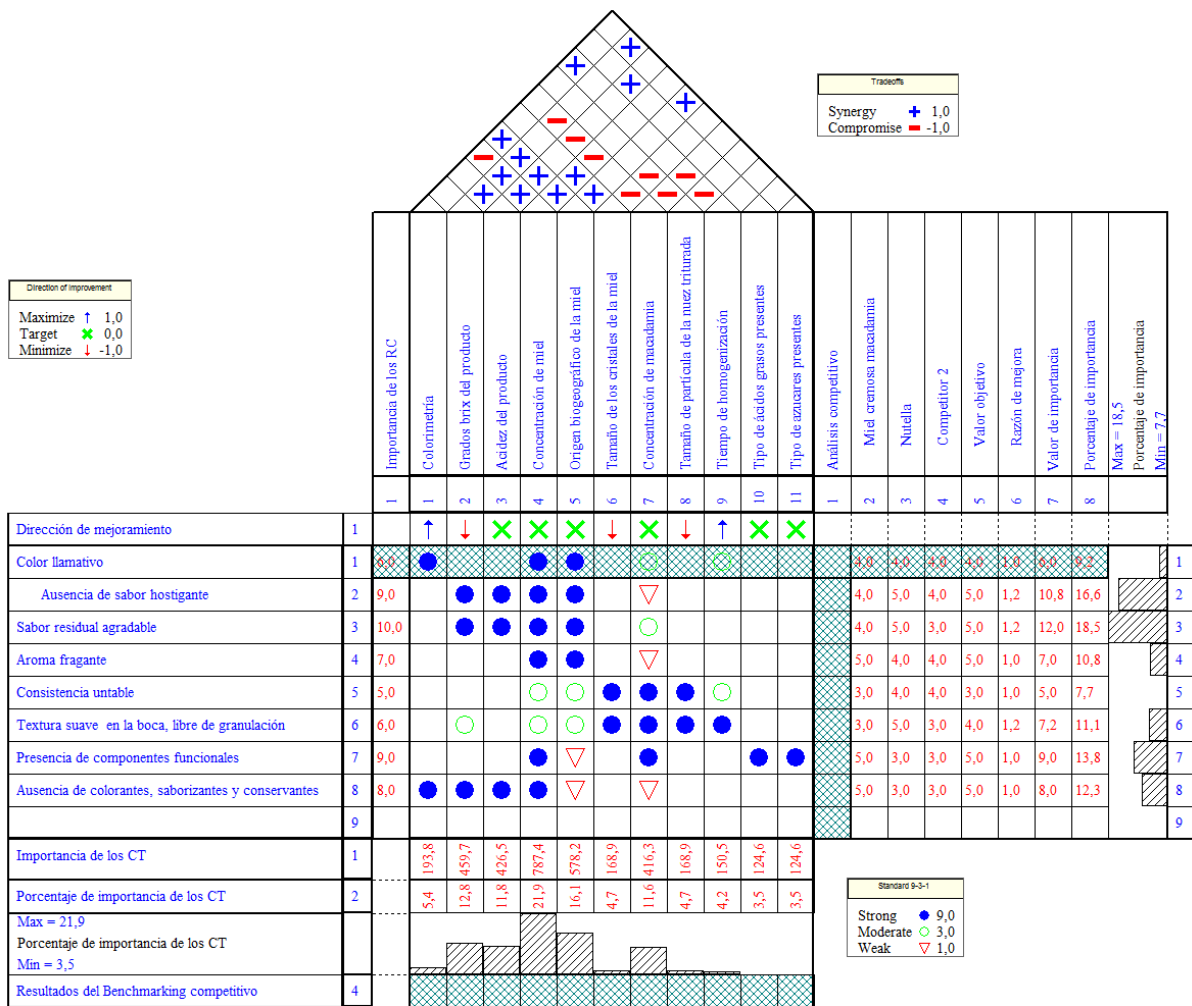
- Akao, Yoji (Ed.) (1988). Quality Function Deployment: Integrating Customer Requirements into Product Design. Productivity Press, Portland, OR.
- AOAC. (2003). Official Methods of Analysis, 17th edition. Association of official Analytical Chemists, Washington, D.C.
- Bogdanov, S.; Jurendic, T.; Sieber, R.; Gallmann, P. (2008). Honey for nutrition and health: a review. J. Am. Coll. Nutr. 27 (6) 677-689.

- Fernández, T. (2001). Elaboración de miel crema mediante dos métodos alternativos. Tesis para optar al título de Ingeniero en Alimentos. Valdivia. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias agrarias. 128p.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations / Health World Organization (FAO/WHO). (2000). Codex Alimentarius. Roma, Italia. 459p.
- Garg, M.L., Blake, R.J., Wills, R.B. y Clayton, E.H. (2007). Macadamia nut consumption modulates favourably risk factors for coronary artery disease in hypercholesterolemic subjects. *Lipids*, 42:583-587.
- León, K. Mery, D.; Pedrechi, F.; León, J. (2006). Color measurement in La*b* units from RGB digital images. *Food Research Internaciotal*. 39(10) 1084-1091.
- Martins, Alieksiei, & Elaine M. Aspinwall (2001). "Quality function deployment: an empirical study in the UK", *Total Quality Management*, Vol. 12, No. 5, pp. 575-588.
- Monaghan, E.K. (2008). Chemical composition and protein antigenicity almond (*Prunus dulcis*) and macadamia nut (*Macadamia integrifolia*) seeds. A Department of Nutrition, Food. Doctoral Tesis doctoral. Florida State University.180Pp.
- Park, Hee-Sok & Seung J. Noh (2002). "Enhancement of web design quality through the QFD approach", *Total Quality Management*, Vol. 13, No. 3, pp. 393-401.
- Piana L. (2002). Cristalización dirigida de mieles: Ventajas y modos de realización. Memorias XVI seminario americano de Apicultura Tuxtla Gutiérrez. Chiapas. México. Pp 52-56.
- Piana, L. (2002). La correcta conservación de las mieles. Control de la fermentación y el envejecimiento. Control de Calidad. XVI Seminario Americano de Apicultura, Memorias. Tuxtla Gutiérrez. México. Pp 52- 60.
- Salamanca, G.G. (2001). Estudio analítico de las propiedades fisicoquímicas de mieles de Boyacá. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Valencia.
- Salamanca G.G. (2005). Características y propiedades de las mieles de Villanueva (Casanare). Documento técnico. Facultad de Ciencias Universidad del Tolima.
- Selen, Willem J. & Jos Schepeers (2001). "Design of quality service systems in the public sector: use of quality function deployment in police services", *Total Quality Management*, Vol. 12, No. 5, pp. 677-687.
- Siwaporn Jitngarmkusol, Juthamas Hongsuwankul y Kanitha Tananuwong. (2008). Chemical compositions, functional properties, and microstructure of defatted macadamia flours. *Food Chemistry*. 30(1).Pp.23-30
- Sohn, So Young & Hyoung Ki So (2002). "Quality improvement of barrack life in the Republic of Korea army", *Total Quality Management*, Vol. 13, No. 3, pp. 323-334.
- Tan, K. C. & X. X. Shen (2000). "Integrating Kano's model in the planning matrix of quality function deployment", *Total Quality Management*, Vol. 11, No. 8, pp. 1141-1151.
- Vanegas, L. V. y A. W. Labib (2001). "A Fuzzy Quality Function Deployment (FQFD) model for deriving optimum targets", *International Journal of Production Research*, Vol. 39, No. 1, pp. 99-120.
- Yacuzzi, Enrique y Fernando Martín (2002). "Aplicación del método de Kano en el diseño de un producto farmacéutico", *Serie Documento de Trabajo* No. 224, Universidad del CEMA, septiembre.

Tabla 1. Parámetros fisicoquímicos asociados a mezclas de miel cremosa con macadamia

Parámetro	Formulaciones				
	1	2	3	4	5
°Brix	75.0	62.0	68.0	69.0	65.0
Grasa (%)	1.14	2.29	1.71	1.40	2.00
Humedad (%)	14.9	12.7	13.8	14.4	13.3
Cenizas (%)	0.65	0.81	0.73	0.70	0.77
Conduct.	0.98	1.02	0.98	0.95	0.98
pH (25 °C)	5.60	5.84	5.86	5.80	5.90
L	62.4	63.7	63.9	62.	61.8
a*	-1.62	0.10	-0.46	1.57	-1.84
b*	37.0	32.9	28.7	27.8	27.9
C	37.0	32.9	28.8	28.0	27.9
H	87.5	89.8	89.1	86.8	86.2
Glucosa	26.7	22.0	24.3	25.5	23.2
Fructosa	32.9	27.1	30.0	31.4	28.5
Sacarosa	1.28	1.05	1.16	1.22	1.11
Calorías (Cal/100g)	273	238	253	255	246

Figura 1. Representación de la función de despliegue de la Calidad en el desarrollo de una miel cremosa a base de macadamia



EFFECTO DE LA HOMOGENEIZACIÓN A ULTRA ALTA PRESIÓN (UHPH) EN LA ESTABILIDAD FÍSICA DE EMULSIONES SUBMICRÓN DE ACEITE DE SOJA EN AGUA

C. Fernández-Ávila, J. Sánchez, B. Juan, A.J. Trujillo.

Centre Especial de Recerca Planta de Tecnologia dels Aliments (CERPTA), XaRTA, TECNIO, MALTA-Consolider, Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193-Bellaterra (Cerdanyola del Vallès), Barcelona, Spain.

1. INTRODUCCIÓN

Las emulsiones son mezclas de dos líquidos inmiscibles, uno de ellos disperso en forma de gotas en el otro líquido que forma la fase continua. Cuando el tamaño de las gotas está comprendido por debajo de 1 μm , suelen denominarse emulsiones submicrónicas. Se han propuesto diversos métodos para preparar nano-emulsiones, entre los que se encuentra la homogeneización a ultra alta presión (UHPH) (Cortés-Muñoz, Chevalier-Lucia et al. 2009; Dumay, Chevalier-Lucia et al. 2013).

Los aislados proteicos de soja contienen aproximadamente 90% de proteínas, constituidas mayoritariamente por las globulinas de reserva 7S (β -conglucina) y 11S (glicina). La capacidad de los aislados de soja nativa (SPI) y desnaturalizada para formar y estabilizar emulsiones aceite de soja en agua (o/w) ha sido objeto de diferentes estudios (Yin, Deng et al. 2012; Tang, Liu et al. 2013; Floury, Desrumaux et al. 2002; Tran, Rousseau et al. 2013). Sin embargo, no hay estudios sobre el efecto del tratamiento de UHPH en este tipo de emulsiones, en comparación a otros tratamientos, como el de homogeneización convencional (HC).

El objetivo del estudio fue evaluar los cambios físicos de emulsiones de aceite de soja en agua producidas por la UHPH en comparación a la homogeneización convencional (HC).

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Formulación y elaboración de las emulsiones

Se elaboraron emulsiones con el mismo contenido de aislado proteico de soja (4%) y con diferentes contenidos de aceite de soja (10 y 20%). En primer lugar, se solubilizó el aislado proteico de soja mediante agitación de la dispersión con un agitador mecánico (Laboratory stirrer type BS, Velp Científica, Usmate, Italia) durante una hora. Después se

adicionó el aceite y se realizaron las pre-emulsiones con un sistema rotor-estator (Diach 900, Heidolph, Kehlheim, Alemania) a 1500 rpm durante 4 min a 20°C. El tratamiento de UHPH se llevó a cabo con un homogeneizador de alta presión (Stansted Benchtop Homogenizer nG12500, Stansted Fluid Power Ltd., Essex, Reino Unido), con una velocidad de flujo de 8 L/h, y provisto de una válvula con aguja cerámica de alta presión en las condiciones siguientes: 100, 200 y 300 MPa (etapa simple) con temperatura de entrada (T_e) = 20°C. Las temperaturas de entrada y de salida de la emulsión se controlaron con dos intercambiadores de calor (Garvía, Barcelona, España) situados antes de la entrada del homogeneizador y a la salida de la válvula de alta presión, respectivamente. El tratamiento de HC se realizó a una presión de 15 MPa y también se preparó una emulsión tratada por HC donde se desnaturalizó la dispersión proteica (95°C, 15 min) previa al proceso de homogeneización. Los tratamientos enumerados se llevaron a cabo por duplicado.

2.2. Análisis de las emulsiones

El tamaño de partícula se analizó por difracción láser (LS 13 320 series Beckam Coulter, Fullerton, CA, USA). Se determinó la media del tamaño de la distribución de partículas en superficie $d(3,2)$ y el índice de dispersión o Span definido como $[d(90) - d(10)]/d(50)$ donde " $d[x]$ " es el diámetro para el cual el $x\%$ de los glóbulos de grasa son más pequeños que " d ". Todas las medidas se hicieron por duplicado para cada producción.

El comportamiento reológico se analizó con un reómetro (Haake Rheo Stress 1, Thermo Electron Corporation, Karlsruhe, Germany) en rotación con una sonda cilíndrica Z34DIN, aplicando un ensayo de curva de flujo a 21°C. Las curvas de flujo se ajustaron al modelo reológico Ostwald de Waele: $\tau = K \dot{\gamma}^n$ y se obtuvieron los índices de consistencia K ($\text{mPa} \times \text{s}$) y de comportamiento de flujo n . Todas las medidas se hicieron por duplicado para cada producción.

Se analizó la estabilidad física de las emulsiones en refrigeración (4°C) hasta 1 mes de almacenamiento con un equipo Turbiscan MA 2000 (Formulation, Toulouse, France). El equipo está equipado con un diodo NIR y un sistema de escaneo longitudinal con detectores laterales (Back Scattering, BS). Se realizaron rastreos de la superficie de la muestra cada 3-4 días durante 1 mes. Los resultados de BS están referidos a la muestra inicial de manera que se pueden observar más claramente los cambios. A partir de los cambios de BS se realizó un estudio de la evolución del espesor en la zona de más variación, en la base (0-10 mm) y la parte superior (35-40 mm) del tubo. La velocidad de migración de las partículas ($\text{mm}/\text{día}$) de

las emulsiones se calculó mediante la pendiente de la parte lineal de las curvas resultantes del Δ BS debido al cremado.

2.3. Tratamiento estadístico

Se calculó la media y la desviación estándar para las variables de este estudio. Para evaluar la estabilidad física de las emulsiones entre el tipo de emulsión (CH o UHPH) y la concentración volumétrica de aceite (10 y 20%), se empleó un Modelo Lineal General de medidas repetidas. El análisis estadístico se realizó mediante el programa SPSS® v17.0, utilizando un nivel de significación del 5% ($P < 0,05$) y el ajuste Tukey para comparaciones múltiples entre medias.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se monitorizaron las temperaturas de entrada (T_e) de las emulsiones al equipo de homogeneización y de las emulsiones procesadas después de la salida de la válvula de homogeneización (T_1) observando que éstas aumentaron linealmente con el incremento de la presión de homogeneización (Tabla 1). La temperatura de salida del producto no fue superior a 25°C.

En general, la disminución de la concentración de aceite de las emulsiones y el incremento de la presión de homogeneización aplicada resultó en la disminución de la media del tamaño de partícula o $d(3,2)$. Las emulsiones con la dispersión proteica previamente desnaturalizada presentaron un comportamiento reológico Newtoniano (Tabla 2). Se observó un incremento en el comportamiento pseudoplástico en las emulsiones UHPH al aumentar el contenido de aceite al 20%, siendo las emulsiones tratadas a 100 y 200 MPa las que presentaron mayor índice de consistencia. Este efecto fue debido al mayor número de gotas y el consecuente aumento de las interacciones entre partículas. Por otra parte, no se observaron cambios significativos en los parámetros reológicos de la emulsión con un 20% de aceite tratada a 300 MPa. Estos resultados, se explican por la desnaturalización proteica del SPI producida por el aumento de temperatura ($\sim 103^\circ\text{C}$) en la emulsión a la salida de la válvula (Tabla 1), provocando la formación de agregados proteicos y el aumento significativo de la dispersión del tamaño de partícula o Span. Además, estos resultados también se confirmaron entre las emulsiones HC producidas con la dispersión proteica nativa y desnaturalizada, siendo las elaboradas con la dispersión SPI desnaturalizada las que presentaron un comportamiento Newtoniano y menor tamaño de partícula (Tabla 2).

Las emulsiones con un contenido en 10% de aceite de soja mostraron mejor estabilidad frente al cremado a medida que incrementó la presión de homogeneización (Figura 1) presentando velocidades de migración de partícula de 0,13; 0,18; 0,10; 0,02 y 0,06 mm/día para los tratamientos de HC a 15 MPa con SPI nativo y desnaturalizado y por UHPH a 100, 200 y 300 MPa, respectivamente. Las emulsiones con un contenido en 20% de aceite fueron más estables a nivel físico, en comparación a las que se formularon con un 10% de aceite de soja (Figuras 1 y 2). Concretamente, las emulsiones UHPH con un 20% de aceite tratadas a 100 y 200 MPa no presentaron ningún fenómeno de desestabilización física. Sin embargo, a 300 MPa se observó una velocidad de migración de partícula de 0,01 mm/día. Por otra parte, no se obtuvo una velocidad de cremado con tendencia lineal para las emulsiones HC con un 20% de aceite, debido a fenómenos reversibles de cremado.

4. CONCLUSIONES

La tecnología UHPH es capaz de producir emulsiones submicrón de aceite de soja en agua con una gran estabilidad física en comparación a las emulsiones obtenidas por HC. Concretamente, las emulsiones tratadas por UHPH a 100 y 200 MPa con 20% de aceite de soja fueron las más estables a nivel físico debido a la combinación de su comportamiento pseudoplástico, el mayor número de gotas y la poca dispersión del tamaño de partícula.

5. BIBLIOGRAFÍA

- Cortés-Muñoz, M., Chevalier-Lucia, D., Dumay, E., 2009. Characteristics of submicron emulsions prepared by ultra-high pressure homogenisation: Effect of chilled or frozen storage. *Food Hydrocolloids*, 23(3), pp. 640-654.
- Dumay, E., Chevalier-Lucia, D., Picart-Palmade, L., Benzaria, A., Gràcia-Julià, A., Blayo, C., 2013. Technological aspects and potential applications of (ultra) high-pressure homogenisation. *Trends in Food Science & Technology*, 31(1), pp. 13-26.
- Floury, J., Desrumaux, A., Legrand, J., 2002. Effect of Ultra-high-pressure Homogenization on Structure and on Rheological Properties of Soy Protein-stabilized Emulsions. *Journal of Food Science*, 67(9), pp. 3388-3395.
- Tang, C., Liu, F., 2013. Cold, gel-like soy protein emulsions by microfluidization: Emulsion characteristics, rheological and microstructural properties, and gelling mechanism. *Food Hydrocolloids*, 30(1), pp. 61-72.
- Tran, T., Rousseau, D., 2013. Stabilization of acidic soy protein-based dispersions and emulsions by soy soluble polysaccharides. *Food Hydrocolloids*, 30(1), pp. 382-392.
- Yin, B., Deng, W., Xu, K., Huang, L., Yao, P., 2012. Stable nano-sized emulsions produced from soy protein and soy polysaccharide complexes. *Journal of Colloid and Interface Science*, 380(1), pp. 51-59.

TABLAS Y FIGURAS

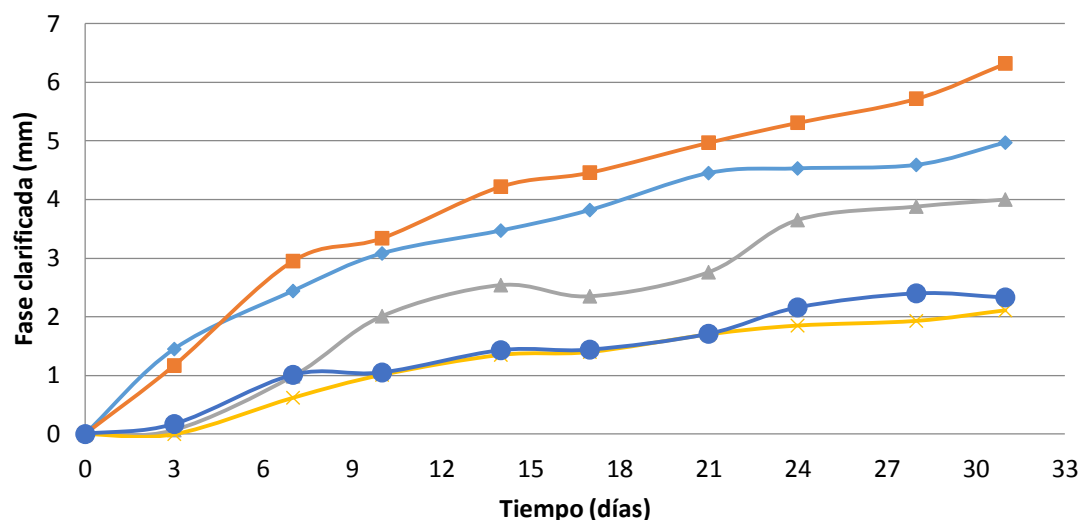


Figura 1. Cremado de las emulsiones medido a través de la zona de clarificación en la base del tubo (0-10 mm) en tiempos diferentes, para las emulsiones con un contenido en 10% de aceite de soja producidas por HC a 15 MPa con SPI nativo (◆) y desnaturalizado (■) y por UHPH a 100 (▲), 200 (×) y 300 MPa (●) almacenadas en refrigeración (4°C). Altura del tubo = 40 mm.

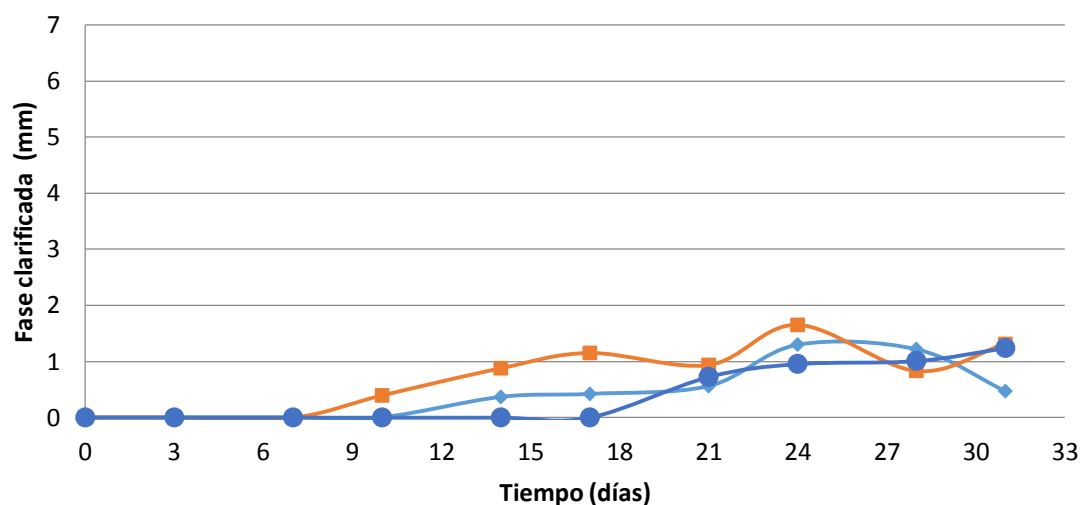


Figura 2. Cremado de las emulsiones medido a través de la zona de clarificación en la base del tubo (0-10 mm) en tiempos diferentes, para las emulsiones con un contenido en 20% de aceite de soja producidas por HC a 15 MPa con SPI nativo (◆) y desnaturalizado (■) y por UHPH a 300 MPa (●) almacenadas en refrigeración (4°C). Altura del tubo = 40 mm.

Tabla 1. Media \pm DS de las temperaturas de las emulsiones a la salida de la válvula de homogeneización (T_1) con diferente contenido en aceite de soja (10 y 20%) producidas por HC a 15 MPa con SPI nativo y desnaturalizado, y por UHPH a 100, 200 y 300 MPa.

Tratamiento		
MPa	Aceite (%)	T_1 (°C)
15		32,00 \pm 1,41
15.D*		31,50 \pm 3,54
100	10	51,50 \pm 2,12
200		72,50 \pm 2,12
300		100,0 \pm 0,00
15		31,50 \pm 3,54
15.D		31,50 \pm 3,54
100	20	54,00 \pm 1,41
200		76,50 \pm 0,71
300		103,5 \pm 2,12

* Emulsión de aceite de soja con la dispersión proteica SPI desnaturalizada a 95°C durante 15 min (D).

Tabla 2. Tamaño de partícula y reología de las emulsiones con diferente contenido en aceite de soja (10 y 20%) producidas por HC a 15 MPa con SPI nativo y desnaturalizado y por UHPH a 100, 200 y 300 MPa.

Tratamiento		Tamaño de partícula		Comportamiento reológico	
MPa	Aceite (%)	d(3,2)	Span	K (mPa \times s)	n
15		0,514 \pm 0,013 ^{bc}	3,485 \pm 0,173 ^{cd}	0,013 \pm 0,001 ^d	0,845 \pm 0,062
15.D*		0,495 \pm 0,022 ^c	3,465 \pm 0,386 ^{cd}	0,008 \pm 0,001 ^e	0,905 \pm 0,017
100	10	0,282 \pm 0,002 ^{ef}	3,730 \pm 0,048 ^{cd}	0,013 \pm 0,001 ^d	0,858 \pm 0,052
200		0,234 \pm 0,005 ^f	2,305 \pm 0,873 ^d	0,013 \pm 0,002 ^d	0,860 \pm 0,022
300		0,226 \pm 0,014 ^f	8,298 \pm 2,875 ^b	0,010 \pm 0,001 ^{de}	0,893 \pm 0,015
15		0,599 \pm 0,052 ^a	3,290 \pm 0,214 ^{cd}	0,049 \pm 0,004 ^b	0,885 \pm 0,021
15.D		0,556 \pm 0,014 ^{ab}	2,945 \pm 0,154 ^{cd}	0,024 \pm 0,002 ^c	0,934 \pm 0,013
100	20	0,373 \pm 0,017 ^d	4,830 \pm 0,362 ^c	0,082 \pm 0,028 ^a	0,810 \pm 0,029
200		0,316 \pm 0,039 ^{de}	4,810 \pm 0,305 ^c	0,060 \pm 0,007 ^{ab}	0,830 \pm 0,002
300		0,302 \pm 0,013 ^e	26,23 \pm 15,04 ^a	0,030 \pm 0,003 ^c	0,874 \pm 0,007

* Emulsión de aceite de soja con la dispersión proteica SPI desnaturalizada a 95°C durante 15 min (D).

^{a-f} Las letras diferentes en una misma columna indican diferencias significativas ($P < 0.05$) entre tratamientos.

MONITORIZACIÓN DEL SALADO EN PILA DE *LONGISSIMUS DORSI* MEDIANTE ULTRASONIDOS DE SEÑAL

M. de Prados¹, J.V. García-Pérez¹, E. Fulladosa², A. Mulet¹, J. Benedito¹

¹ Grupo ASPA. Departamento de Tecnología de Alimentos. Universitat Politècnica de València. Camino de Vera s/n, E46022, Valencia, Spain

² IRTA. XaRTA. Food Technology. Finca Camps i Armet, E17121 Monells, Spain

INTRODUCCIÓN

Los productos cárnicos crudo-curados, tales como el jamón y el lomo, son productos tradicionales muy apreciados por el consumidor. Las características finales de calidad de estos productos se ven influenciadas tanto por la materia prima empleada como por las condiciones de procesado a las que se ven sometidos. Así, junto con la fase de curado, una de las etapas que más influencia tiene sobre la calidad del producto final es el salado del producto cárnico (Santos-Garcel et al. 2012). El método de salado convencional, conocido como salado en seco o en pila, consiste en la adición de sal común sobre la superficie del producto cárnico. Generalmente, las piezas se apilan entre capas de sal y la duración del salado varía en función del peso de la pieza, empleándose en la actualidad 0.7 días por kg carne. De este modo, y una vez finalizado el proceso de salado, se alcanza una alta concentración de sal en la superficie de la pieza cárnica, que difunde hacia el interior en las fases de postsalado, secado y curado (Costa-Corredor et al. 2009). Sin embargo, existe una gran variabilidad en el contenido final en sal que se alcanza en un lote de piezas, debido principalmente a la heterogeneidad de la materia prima, entre otros factores influyen el tamaño de la pieza y su composición. Así, por ejemplo, el contenido en grasa afecta en gran medida a la difusión de la sal por el efecto barrera que ejerce. Así pues, existe un especial interés en el sector industrial cárnico en la búsqueda de nuevas tecnologías para realizar un seguimiento preciso de la etapa de salado, que permita mejorar la calidad de los productos, al alcanzar el nivel de sal deseado en todas las piezas y una reducción de costes, al no alargar el proceso más tiempo del necesario.

Tradicionalmente, la determinación del contenido de sal se ha basado en métodos de análisis destructivos. Sin embargo, estas técnicas conllevan la destrucción de la muestra y requieren un tiempo de análisis prolongado, por lo que su automatización para la realización de medidas on-line es muy compleja. Recientemente se han utilizado técnicas no destructivas para la medida del contenido en sal como son la Tomografía Axial Computarizada “TAC”

(Santos-Garcés et al. 2010; Santos-Garcés et al. 2012 & Fulladosa et al. 2010), la resonancia magnética (Bertram et al. 2005), la electroscopía de infrarrojo (Huang et al. 2002) y la imagen hiperespectral (HSI) (Dan Liu et al. 2013). No obstante, la implementación de estas técnicas en las líneas de producción resulta costosa y compleja debido a que los equipos actuales no son portátiles. Este inconveniente, restringe su aplicación en la monitorización del proceso de salado de productos cárnicos, ya que las medidas deberían realizarse dentro de las cámaras de salado.

Los ultrasonidos de señal constituyen una alternativa interesante para la monitorización del proceso de salado, debido a que es una técnica sencilla, no invasiva, de bajo coste, precisa y que se disponen de equipos portátiles de fácil incorporación en las líneas de producción. En el sector cárnico, los ultrasonidos de señal ya han sido utilizados para determinar el espesor de grasa en músculos (Kock et al. 2011), piezas enteras (Niñoles et al. 2010) y canales (Smith et al. 1992, Greiner et al. 2003 & Ayuso et al. 2013). Sin embargo, hasta el momento no se han utilizado para monitorizar el proceso de salado de carne de cerdo. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo es determinar la capacidad de los ultrasonidos de señal para monitorizar el proceso de salado en pila del *Longissimus dorsi*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia prima

Las piezas de *Longissimus dorsi* (LD) provenientes de cerdos de la raza *Large White* se adquirieron en un mercado local. Se utilizaron 12 piezas que presentaron unas dimensiones medias de 20x11x4 cm y un peso de 981.2±50.2 g.

Salado en pila

El músculo se colocó en un recipiente de plástico y se cubrió por todas sus caras con 6 kg de sal gruesa (NaCl) (Figura 1). La sal fue previamente humectada al 10 % (p/p), tal y como se realiza a nivel industrial. El salado se realizó a 2 °C colocando las muestras en una cámara de temperatura controlada y se estudiaron 4 tiempos de salado diferentes (6, 12, 24 y 36 h), utilizándose 3 piezas de LD para cada tiempo.

Medida de la velocidad ultrasónica

La velocidad ultrasónica (V_{us}) fue el parámetro seleccionado para monitorizar el proceso de salado, ya que el resto de parámetros ultrasónicos no aportaron información

relevante. La medida de la V_{us} se realizó determinando el espesor de la muestra y midiendo el tiempo que tarda la onda ultrasónica en atravesarla.

El montaje experimental para la medida de V_{us} consistió en dos transductores de 1 MHz, un generador-receptor, un osciloscopio digital y un calibre digital para medir la distancia entre los transductores (espesor de la muestra) (Figura 1). Tal y como se muestra en la Figura 1, los transductores se colocaron en íntimo contacto con el músculo y totalmente rodeados de sal. Debido a la contracción de la muestra, y para evitar que se perdiera el contacto transductor/músculo, la distancia entre los transductores se ajustó tras 1 y 6 h de salado. Durante el salado, se midió la V_{us} cada 5 min, para ello se utilizó una aplicación desarrollada en Visual BasicTM.

Análisis químico

Finalizado cada tiempo de salado, se eliminó el exceso de sal superficial del músculo y se dividió en tres fracciones: izquierda (I), central (C) y derecha (D). Tal y como se muestra en la Figura 2, la medida de velocidad se realizó en la fracción central, que a su vez se dividió en 5 secciones, correspondiendo la sección 1 y 5 a los extremos, la 2 y 4 a la zona intermedia y la 3 a la zona central, que corresponde exactamente con la zona de medida de la V_{us} (Figura 2).

El contenido de humedad (X_w) y sal (X_s) se midió por triplicado de acuerdo a procedimientos estándar de la AOAC en las 5 secciones de la fracción central (Figura 2). De igual modo, en el músculo fresco se determinó el contenido de agua (X_w), sal (X_s) y grasa (X_f), y se midió su pH.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Evolución de la velocidad ultrasónica durante el proceso de salado

La evolución de la velocidad ultrasónica durante el salado del músculo LD durante 12 horas se muestra en la Figura 3. Como se aprecia en dicha figura, la V_{us} aumentó con el tiempo de salado para todas las muestras, observándose en las primeras 12 horas de salado una tendencia prácticamente lineal. Sin embargo, la V_{us} inicial medida en las muestras frescas mostró una gran variabilidad, oscilando los valores entre aproximadamente 1540 y 1560 m/s. Como se observa en la Figura 4, esta variabilidad no parece estar relacionada con el contenido en grasa ni con el pH de la muestra fresca. Así, la variabilidad experimental de la

V_{us} inicial podría verse influenciada por múltiples factores de la materia prima, tales como su dureza inicial o la presencia de tejido conectivo. Teniendo en cuenta la variabilidad de la materia prima que afecta a la V_{us} inicial, se consideró que la variable más adecuada para monitorizar el proceso de salado era la variación de la velocidad de los ultrasonidos (ΔV_{us}). Así, en la Figura 5 se representa, a modo de ejemplo, la evolución de ΔV_{us} para las muestras saladas durante 24 h. Tal y como se observa en dicha figura, la pendiente de la relación ΔV_{us} y el tiempo de salado, que podría estar relacionada con la velocidad de salado, es muy diferente para las tres muestras saladas durante 24 h, oscilando entre 0.72 y 1.38 m/s/h. Este hecho puede explicarse considerando que la velocidad de salado puede ser diferente para varias muestras como consecuencia de la propia heterogeneidad de la materia prima y del proceso de salado. De hecho en las piezas saladas durante 24 h, la concentración de sal varió entre 2.5 y 3.4 (% b.h.). Así, la técnica ultrasónica, debido a su sensibilidad ante los cambios composicionales, permitiría identificar el comportamiento individual de cada muestra durante su salado.

Influencia del contenido en sal sobre la variación de velocidad de los ultrasonidos

La Tabla 1 muestra la media de la variación de la velocidad de los ultrasonidos (ΔV_{us}) a diferentes tiempos de salado (6, 12, 24 y 36 horas), así como también los valores medios del contenido en humedad (X_w) y sal (X_s) y sus variaciones (ΔX_w y ΔX_s). Tal y como se observa, durante el salado de LD, se produce un aumento de la ΔV_{us} como consecuencia del aumento de sal y pérdida de agua en la muestra. La ΔV_{us} aumenta gradualmente hasta 36.1 m/s para 36 horas de salado, lo que conlleva un incremento de sal y pérdida de agua de 3.1 y 4.4 (% b.h.), respectivamente.

En la Figura 6, se muestra la influencia de la variación de concentración de sal en la variación de velocidad de los ultrasonidos para las 12 piezas de LD estudiadas. Tal y como se observa en dicha figura, existe una relación lineal significativa ($p < 0.05$) entre ΔV_{us} y ΔX_s . La pendiente de dicha relación sugiere que un cambio del 1 (% b.h.) en el contenido de sal se traduce en un incremento de 13.77 m/s en la velocidad ultrasónica. La Figura 6 también muestra la ecuación experimental de Kinsler, que representa la influencia del contenido en sal sobre la velocidad de los ultrasonidos en una disolución salina (Kinsler, 1982). Como se observa, pese a la diferente estructura de la carne y la disolución acuosa, las pendientes de las relaciones lineales son similares. Este hecho permite plantear la hipótesis de que sin importar

el tipo de muestra analizada, un mismo incremento en el contenido en sal, conlleva un aumento similar de la velocidad de los ultrasonidos.

CONCLUSIONES

Este trabajo pone de manifiesto la viabilidad de los ultrasonidos de señal, como técnica no destructiva, para monitorizar el proceso de salado en pila del músculo de cerdo *Longissimus dorsi*. Así, a partir de la variación de velocidad ultrasónica durante el salado, se puede predecir el contenido de sal en el músculo. El desarrollo futuro de esta tecnología pasa por abordar el estudio de piezas más complejas, como el jamón, y el desarrollo de una instrumentación adecuada para realizar las medidas a nivel industrial.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al INIA la financiación recibida para la realización de este trabajo a través del proyecto RTA2010-00029-CO4-01. Marta de Prados agradece a la Universitat Politècnica de València la Beca FPI concedida.

BIBLIOGRAFÍA

- AOAC. (1995) Official methods of analysis of AOAC International. Association of Official Analytical Chemists (AOAC International), Gaithersburg, MD.
- Ayuso, D.; González, A.; Hernández, F.; Corral, J. M. & Izquierdo, M. (2013) Prediction of carcass composition, ham and foreleg weights, and lean meat yields of Iberian pigs using ultrasound measurements in live animals *Journal Animal Science*. 91:1884-1892.
- Bertram, H.C.; Holdsworth, S.J.; Whittaker, A.K. & Andersen, H.J. (2005) Salt diffusion and distribution in meat studied by ^{23}Na nuclear magnetic resonance imaging and relaxometry. *Journal Agriculture Food Chemistry*. 53(20):7814-8.
- Costa-Corredor, A., Serra, X.; Arnau, J. & Gou, P. (2010) Reduction of NaCl content in restructured dry-cured hams: Post-resting temperature and drying level effects on physicochemical and sensory parameters. *Meat Science*. 83:390- 397.
- Fulladosa, E.; Santos-Garcés, E.; Picouet, P. & Gou, P. (2010) Prediction of salt and water content in dry-cured hams by computed tomography. *Journal Food Engineering*. 96: 80-85.
- Greiner, S. P.; Rouse, G. H.; Wilson, D. E.; Cundiff, L. V. & Wheeler, T. L. (2003) The relationship between ultrasound measurements and carcass fat thickness and longissimus muscle area in beef cattle. *Journal of Animal Science*. 81:676-682.

Huang, Y.; Cavinato, A.G.; Mayes, D.M.; Bledsoe, G.E. & Rasco, A. (2002) Nondestructive Prediction of Moisture and Sodium Chloride in Cold Smoked Atlantic Salmon (*Salmo salar*). *Journal of Food Science*. 67: 7.

Kinsler, L.E.; Frey, A.R.; Coppens, A.B.; Sanders, J.V. (1982) *Fundamentals of Acoustics*. John Wiley and Sons. New York.

Koch, T.; Lakshmananb, S.; Brandc, S.; Wicke, M.; Raumb, K. & Mörleina, D. (2011) Ultrasound velocity and attenuation of porcine soft tissues with respect to structure and composition: I. Muscle. *Meat Science*. 88: 51-58.

Liu, D.; Qu, J.; Sun, D.; Pu, H. & Zeng, X. (2013) Non-destructive prediction of salt contents and water activity of porcine meat slices by hyperspectral imaging in a salting process. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*.

Niñoles, L.; Mulet, A.; Ventanas, S. & Bedito, J. (2010) Ultrasonic assessment of the melting behaviour in fat from Iberian dry-cured hams. *Meat Science*. 85: 26-32.

Santos-Garcés, E.; Gou, P.; Garcia-Gil, N.; Arnau, J. & Fulladosa, E. (2010) Non-destructive analysis of aw, salt and water in dry-cured hams during drying process by means of computed tomography. *Journal of Food Engineering*. 101:187-192.

Santos-Garces, E.; Muñoz, I.; Gou, P.; Sala, X. & Fulladosa, E. (2012) Tools for Studying Dry-Cured Ham Processing by Using Computed Tomography. *J. Agriculture Food Chemistry*. 60: 241-249.

Smith, M. T.; Oltjen, J. W.; Dolezal, H. G.; Gill, D. R. & Behrens, B. D. (1992) Evaluation of ultrasound for prediction of carcass fat thick-ness and longissimus muscle area in feedlot steers. *Journal Animal Science*. 70:29-37.

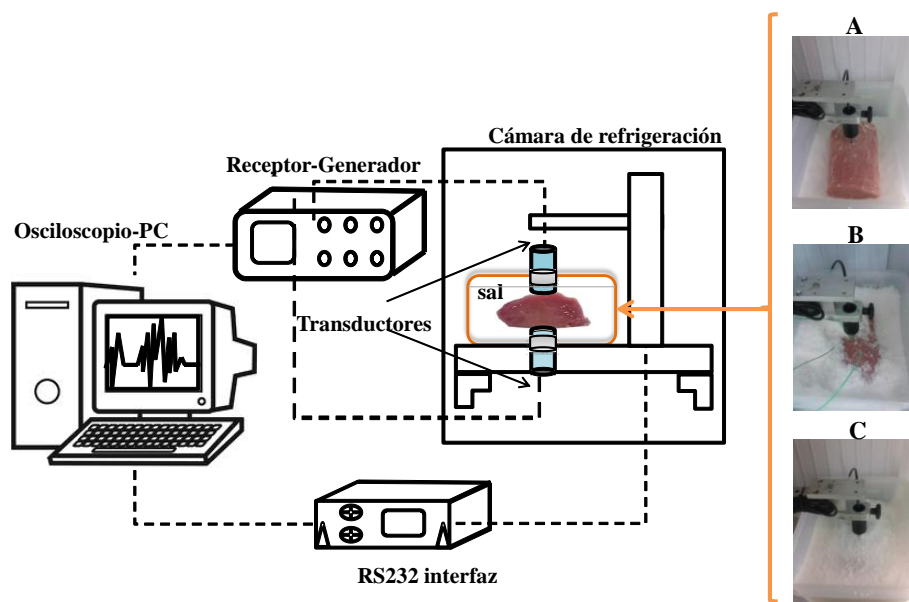


Figura 1. Montaje experimental para realizar las medidas de velocidad ultrasónica (V_{us}) durante el salado en pila de LD. A, B y C muestran la colocación de la muestra y los transductores al inicio del salado.

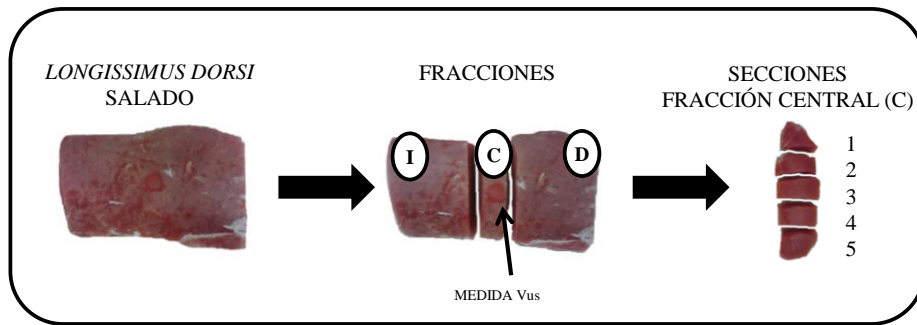


Figura 2. Preparación de la muestra para el análisis químico.

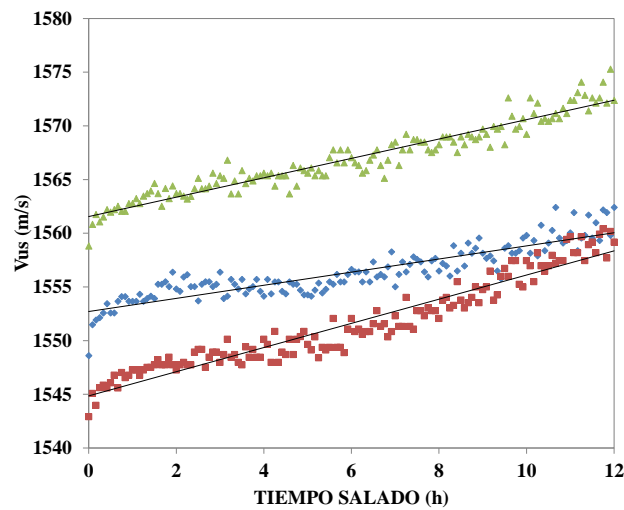


Figura 3. Evolución de la velocidad ultrasónica (V_{us}) en el salado del músculo LD durante 12 h. Cada serie corresponde con cada una de las tres repeticiones para ese tiempo.

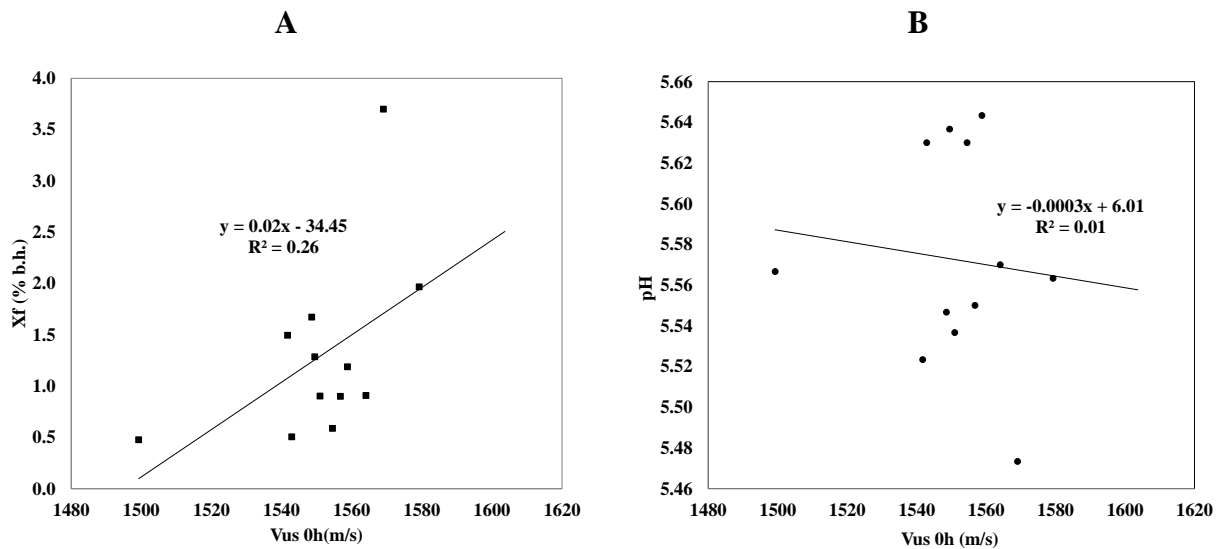


Figura 4. Relación de la velocidad ultrasónica inicial ($V_{us\ 0h}$) con el contenido en grasa (X_f) (A) y el pH (B) del músculo fresco LD.

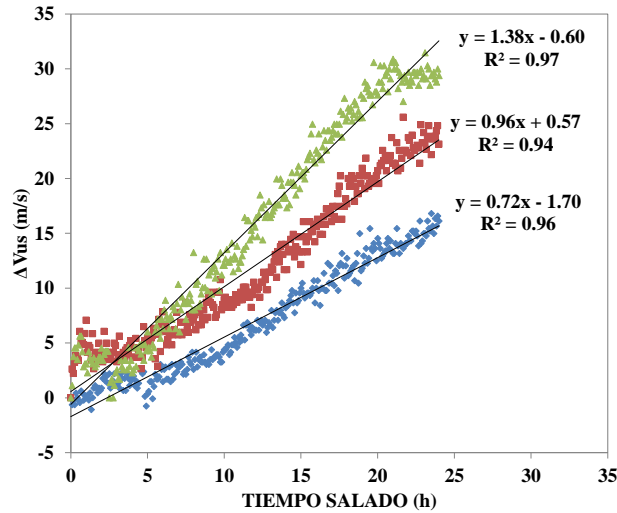


Figura 5. Evolución de la variación de velocidad ultrasónica (ΔV_{us}) en el salado del músculo LD durante 24 h para las tres replicas realizadas.

Tabla 1. Valores medios y desviaciones estándar de contenido en sal (X_s) y humedad (X_w) y variación media de sal (ΔX_s), humedad (ΔX_w) y velocidad (ΔV_{us}) a cada tiempo de salado (6, 12, 24 y 36 h) de la sección 3 de la fracción central del músculo LD.

Tiempo salado (h)	ΔV_{US} (m/s)	X_s (% b.h.)	X_w (% b.h.)	ΔX_s (% b.h.)	ΔX_w (% b.h.)
0	-	0.2±0.0	73.9±0.9	-	-
6	7.6±1.0	1.6±0.2	72.6±0.6	1.4±0.1	-1.3±1.4
12	14.5±1.5	1.8±0.3	70.1±0.6	1.7±0.4	-3.2±0.8
24	23.1±6.9	2.9±0.4	69.0±1.3	2.7±0.4	-5.05±2.2
36	36.1±2.6	3.3±0.1	69.2±1.1	3.1±0.0	-4.4±1.0

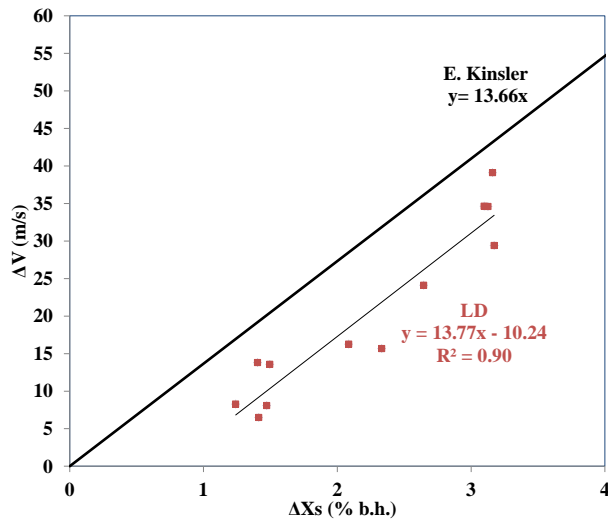


Figura 6. Relación experimental entre la variación de velocidad ultrasónica (ΔV_{us}) y la variación de sal (ΔX_s) del músculo LD y calculada a partir de la ecuación de Kinsler.

CINÉTICAS DE SECADO ASISTIDO POR ULTRASONIDOS DE ALTA INTENSIDAD DE PIÑA (*Ananas comosus* (L.) Merr) PRETRATADA OSMÓSTICAMENTE

J.L.G. Corrêa^{1*}, M.C. Rasia², J.V. Garcia-Perez³, A. Mulet³, J.A. Cárcel³

¹Departamento de Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, Brasil

²Facultad de Ciencias de la Alimentación, Universidad Nacional de Entre Ríos, Concordia, Argentina

³Grupo de Análisis y Simulación de Procesos Agroalimentarios (ASPA), Dept. de Tecnología de Alimentos, Universitat Politècnica de València, Valencia, España

*e-mail: jcarcel@tal.upv.es

1. INTRODUCCIÓN

Las frutas presentan unas características muy interesantes que justifican su inclusión en la dieta, tanto por sus propiedades organolépticas, muy apreciadas por los consumidores, como por ser una fuente importante de azúcar, vitaminas y otros nutrientes (Bel, 2013). La piña es una de las frutas tropicales más consumidas a nivel mundial. Presenta elevadas concentraciones de azúcar y nutrientes como sales minerales (calcio, fósforo, magnesio, potasio, sodio, cobre y yodo), vitaminas (A, B1, B2, C, niacina) y fibra (NEPA, 2011; Ramallo & Mascheroni, 2012; Santos & Silva, 2009). Su consumo se da tanto en fresco como a partir de producto deshidratado formando parte de snacks o productos de desayuno. Es por ello que el proceso de secado de la piña ha sido estudiado previamente por diferentes autores (Corrêa et al., 2011 and 2012, Ramallo & Mascheroni, 2012; Santos & Silva, 2009)

Entre las diferentes técnicas de deshidratación, el secado con aire caliente destaca por ser una de las más utilizadas. Tiene como principales ventajas la facilidad de aplicación y control del proceso. Sin embargo, se trata una exposición de los alimentos a altas temperaturas durante tiempos prolongados que puede producir efectos negativos en la calidad del producto final. Por lo tanto, resulta de gran interés encontrar metodologías de intensificación de este proceso que reduzcan los efectos no deseados. En este sentido, el uso de pretratamientos, como la deshidratación osmótica (Corrêa et al., 2010; Fante et al., 2011; Giovanelli et al., 2012), podría contribuir a incrementar la difusividad de agua durante el secado (Fernandes et al., 2006), lo que reduciría el consumo de energía y aumentaría la calidad final del producto. Otra alternativa para intensificar el secado convectivo puede ser mediante la aplicación de ultrasonidos de alta intensidad (Cárcel et al., 2012; Frias et al,

2010; García-Pérez et al., 2011; Ozuna et al., 2011; Soria & Villamiel, 2010). Los efectos que generan los ultrasonidos pueden afectar tanto a la resistencia interna (creación de microcanales, efecto esponja,...) como a la externa (microcorrientes en las interfases sólido-gas,...) a la transferencia de materia (Carcel, et al., 2012).

Por todo esto, el principal objetivo de este trabajo fue el estudio de la influencia del pretratamiento con deshidratación osmótica y de la aplicación de ultrasonidos en la cinética de secado de piña.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Materia prima y obtención de las muestras.

En este trabajo se utilizó una variedad de piña híbrida (ref. 73-144) conocida como Golden Pineapple o MD2, producida en Costa Rica y adquirida en un mercado local de Valencia, España. La fruta se seleccionó en función de su madurez con el objetivo de obtener lotes homogéneos y minimizar así la variabilidad natural. Así, todas las frutas utilizadas presentaron una concentración de sólidos solubles en el rango de 12-14 °Brix, un contenido de humedad inicial de 5.49 ± 0.59 kg de agua/kg de piña y un color de la piel entre verde y amarillo.

Cada piña se dividió en tres partes mediante cortes transversales. Las secciones superior e inferior se desecharon y solamente se consideró la parte central. Esto se hizo para reducir la gran variabilidad de contenido de azúcar entre los extremos de la piña que se da de manera natural (Ramallo & Masscheroni, 2012). El corazón de la sección central también se desechó ya que tiene una estructura diferente de la pulpa. De dicha pulpa se obtuvieron muestras en forma de discos de 2.0 cm de diámetro y 0.5 de espesor con ayuda de un sacabocados y de cuchillos afilados.

2.2 Pretratamiento de deshidratación osmótica.

Nada más obtener las muestras de piña, se dividieron en 3 lotes. Uno de ellos no sufrió ningún pretratamiento (NP). Los otros dos fueron sometidos a un pretratamiento en una disolución de sacarosa del 40 % de concentración (p/p), uno de ellos durante 20 min (OD20min) y el otro durante 40 min (OD40min). Todos los pretratamientos se realizaron a 25 ± 1 °C en un baño termostatado. La relación fruta/disolución fue de 1/300 (p/p) lo que aseguró que durante el tratamiento no se produjeron cambios significativos en la disolución osmótica.

2.3 Experiencias de secado.

Las experiencias de secado se realizaron en un secadero piloto (Figura 1), previamente descrito en la literatura (Cárcel et al., 2011; García-Pérez et al., 2011), que realiza un control de la temperatura y velocidad del aire de secado mediante un algoritmo PID. La cámara de secado está constituida por un cilindro vibrante que es excitado por un transductor ultrasónico. De esta manera se puede generar un campo de ultrasonidos de alta potencia (21.8 kHz; 154.3 dB en condiciones estáticas de aire) en su interior que permite la aplicación de ultrasonidos durante el secado. Los diferentes parámetros eléctricos del sistema son medidos mediante un vatímetro digital (WT210; Yokogawa, Japan) y almacenados mediante una aplicación desarrollada en LabVIEWTM (National Instruments, Austin, TX, USA). Por otra parte, el sistema dispone de un sistema automático de pesada que registra el peso de la muestra a intervalos preestablecidos.

Las experiencias de secado de las muestras de piña, pretratada con deshidratación osmótica durante 20 min (OD20min), 40 min (OD40min) o no pretratada (NP), fueron realizadas a una temperatura de 40 ± 0.5 °C y una velocidad del aire de 1.0 m/s con (US; 75 W) y sin (SUS) la aplicación de ultrasonidos. En cada experiencia se secaron un total de 40 muestras que fueron colocadas en un sistema portamuestras que asegura el flujo libre de aire alrededor de todas ellas. Dicho sistema portamuestras fue introducido posteriormente en la cámara de secado vibrante. Todas las experiencias de secado finalizaron cuando la muestra perdió el 80 % de su peso inicial. Se realizaron al menos 3 réplicas de cada condición ensayada.

2.4 Modelización de las cinéticas de secado.

Para describir las cinéticas de secado de los discos de piña, se utilizó un modelo difusivo basado en la 2ª ley de Fick (ecuación 1). Para la resolución del modelo se consideró constante la difusividad efectiva, que las muestras fueron homogéneas y simétricas, que el flujo de transferencia de materia fue unidireccional, que no hubo fenómenos de contracción y que la resistencia externa a la transferencia de agua fue despreciable frente a la resistencia interna. Teniendo en cuenta estas consideraciones, la solución analítica, expresada en términos de contenido en humedad adimensional ($\psi(t)$), se muestra en la ecuación 1 (Simal et al. 2005).

$$\psi(t) = \frac{W(t) - W_e}{W_0 - W_e} = \left[\sum_{n=0}^{\infty} \frac{8}{(2n+1)^2 \pi^2} e^{\left(-\frac{D_w (2n+1)^2 \pi^2 t}{4L^2} \right)} \right] \quad (1)$$

donde $W(t)$ es el contenido de humedad media (kg w/kg m s.) a tiempo t , W_0 la del estado inicial, W_e la del equilibrio, L es el semiespesor de la lámina (m) y D_w la difusividad efectiva (m^2/s). La humedad de equilibrio se determinó experimentalmente realizando el secado durante un tiempo prolongado hasta que la muestras alcanzaron un peso constante.

La identificación paramétrica de la D_w se realizó a partir del planteamiento de un problema de optimización. En él, se buscó el valor de D_w que minimizó el promedio de las diferencias cuadráticas entre los valores experimentales del contenido de humedad media y los calculados con el modelo. La resolución del problema de optimización se realizó aplicando el método del Gradiente Reducido Generalizado (GRG).

La bondad de los ajustes se determinó a partir del cálculo del porcentaje de la varianza explicada (% VAR, ecuación 2) (Berthouex y Brown, 1994).

$$\%VAR = \left[1 - \frac{S_{xy}^2}{S_y^2} \right] \cdot 100 \quad (2)$$

dónde: S_{xy} = desviación estándar de la estimación; S_y = desviación estándar de la muestra.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La evolución experimental de la humedad durante los secados de las muestras no pretratadas (NP) y las pretratadas osmóticamente (DO20min y DO40min) resultó muy similar. Por lo tanto, los pretratamientos ensayados no afectaron significativamente a la cinética de secado. Sin embargo, la aplicación de ultrasonidos durante el secado sí que afecto a la velocidad de pérdida de agua. Como se puede observar en la figura 2, la disminución de humedad de las muestras secadas con ultrasonidos resultó mucho más rápida que la de las muestras secadas de manera convencional, independientemente del pretratamiento recibido. Así, por ejemplo, el tiempo necesario para alcanzar el 80 % del peso inicial de la muestra fue un 50 % inferior cuando se aplicaron ultrasonidos.

Para cuantificar la influencia del pretratamiento y de la aplicación de ultrasonidos en la cinética de secado, se utilizó el modelo difusivo propuesto. Los resultados de la modelización se muestran en la Tabla 1. Como se puede observar, el porcentaje de varianza

explicada fue en todos los casos relativamente bajo ($< 96\%$). Esto indica un ajuste pobre del modelo a los datos experimentales. Este hecho también se puede observar en que las tendencias de los datos experimentales y los predichos por el modelo aunque son parecidas no son iguales (figura 2). Esto hace que el bajo valor del porcentaje de varianza explicada no pueda atribuirse exclusivamente a la variación natural de las muestras o al error experimental. El modelo utilizado asume como despreciable la resistencia externa a la transferencia de materia. Dado el bajo valor de la velocidad de aire utilizado, esta suposición, podría no ajustarse a la realidad (Bon et al, 2007). Es decir, para conseguir un mejor ajuste del modelo habría que considerar la resistencia externa en el modelo.

Sin embargo, aunque el ajuste no fue excesivamente bueno, la difusividad efectiva identificada es una medida global de la cinética del proceso y englobaría la influencia de cualquier variable de proceso en la misma. Por ello puede resultar un parámetro adecuado para evaluar la influencia del pretratamiento y de la aplicación de ultrasonidos en la cinética de secado.

La difusividad efectiva identificada en los secados SUS para las muestras NP, DO20min y DO40min no presentó diferencias significativas (Tabla 1). En el caso de los secados US, la difusividad efectiva identificada para las muestras NP resultó significativamente superior que la identificada en las muestras pretratadas (DO20min y DO40min). Entre éstas últimas, no hubo diferencias significativas. Estos resultados indicarían que el pretratamiento en este caso no solo no aceleraría el proceso de secado si no que lo ralentizaría ligeramente. En la literatura se pueden encontrar trabajos en los que se encontró un incremento de la difusividad efectiva cuando las muestras se pretrataron en disoluciones osmóticas (García et al., 2007; Shi et al., 1998). Sin embargo, la estructura fibrosa de la piña, dificulta el intercambio de materia que se produce en los pretratamientos osmóticos (Botha et al., 2012) lo que podría explicar la no influencia del pretratamiento en la cinética de secado posterior.

En cuanto a la aplicación de ultrasonidos, las difusividad identificadas en las muestras secadas con asistencia de ultrasonidos resultaron significativamente ($p < 0.05$) superiores que la secadas convencionalmente. La aplicación de ultrasonidos incrementó de media la difusividad efectiva en un 100%. Similares resultados se han encontrado en el secado asistido por ultrasonidos de diferentes frutas y vegetales. Así, Ozuna et al. (2011) obtuvieron un

incremento de la difusividad del 60 % al aplicar ultrasonidos durante el secado de patata y Cárcel et al. (2007) publicaron un incremento de 30 % en el caso del secado de caqui.

Por lo tanto, la aplicación de ultrasonidos durante el secado de piña es una tecnología interesante para intensificar el proceso de secado, ya que acelera el proceso reduciendo la duración del mismo. En cuanto a los pretratamientos osmóticos ensayados, no tuvieron influencia en la cinética de secado. Serían necesarios más estudios para determinar si ambas técnicas, pretratamientos osmóticos y secado asistido por ultrasonidos, influyeron en la calidad final de los productos obtenidos

4. CONCLUSIONES

La aplicación de pretratamientos osmóticos en disoluciones azucaradas, no afectó a la velocidad de secado de piña. Sin embargo, la aplicación de ultrasonidos durante el secado sí que aceleró significativamente el proceso. El modelo difusivo propuesto, aunque no ajustó muy bien, sirvió para cuantificar la influencia de los ultrasonidos en el proceso. Probablemente el ajuste mejoraría si la resistencia externa fuera considerada.

AGRADECIMENTOS

Este estudio ha sido realizado gracias a la financiación recibida de parte del Ministerio de Economía y Competitividad de España y de los fondos FEDER a través del proyecto DPI2012-37466-C03-03, y de CAPES y FAPEMIG, de Brasil.

REFERENCES

- Bel, A. (2013). The influence of dried fruits enrichment on sensory properties of bitter and milk chocolates and bioactive content of their extracts affected by different solvents. *LWT - Food Science and Technology*, 53, 360–369.
- Berthouex, P.M., Brown, L.C. (1994). *Statistics for environmental engineers*. Lewis Publishers Inc., New York, USA.
- Bon, J., Rosselló, C., Femenia, A., Eim, V., & Simal, S. (2007). Mathematical Modeling of Drying Kinetics for Apricots: Influence of the External Resistance to Mass Transfer. *Drying Technology*, 25(11), 1829–1835.
- Botha, G.E., Oliveira, J.C., & Ahrné, L. (2012). Quality optimisation of combined osmotic dehydration and microwave assisted air drying of pineapple using constant power emission. *Food and Bioproducts Processing*, 90(2), 171–179.
- Cárcel, J.A., Benedito, J., & Mulet, A. (2012). Food process innovation through new technologies : Use of ultrasound. *Journal of Food Engineering*, 110, 200–207.

- Cárcel, J.A., García-Pérez, J.V., Riera, E., & Mulet, A. (2011). Improvement of convective drying of carrot by applying power ultrasound—Influence of mass load density. *Drying Technology*, 29(2), 174–182.
- Cárcel, J.A., García-Pérez, J.V., Riera, E., & Mulet, A. (2007). Influence of high-intensity ultrasound on drying kinetics of persimmon. *Drying Technology*, 25 (1), 185–193.
- Corrêa, J.L.G., Dev, S.R.S., Garipey, Y., & Raghavan, G.S.V. (2011). Drying of pineapple by microwave-vacuum with osmotic pretreatment. *Drying Technology*, 29(13), 1556–1561.
- Corrêa, J. L. G. , Pereira, L. M. ., Vieira, G. ., & Hubinger, M. D. (2010). Mass transfer kinetics of pulsed vacuum osmotic dehydration of guavas. *Journal of Food Engineering*, 96(4), 498–504.
- Fante, C., Corrêa, J., Natividade, M., Lima, J., & Lima, L. (2011). Drying of plums (*Prunus* sp, c.v Gulflaze) treated with KCl in the field and subjected to pulsed vacuum osmotic dehydration. *International Journal of Food Science & Technology*, 46(5), 1080–1085.
- Fernandes, F. A. N., Rodrigues, S., Gaspareto, O. C. P., & Oliveira, E. L. (2006). Optimization of osmotic dehydration of papaya followed by air-drying. *Food Research International*, 39(4), 492–498. d
- Frias, J., Peñas, E., Ullate, M., & Vidal-Valverde, C. (2010). Influence of drying by convective air dryer or power ultrasound on the vitamin C and β -carotene content of carrots. *Journal of agricultural and food chemistry*, 58(19), 10539–44.
- García, C. C., Mauro, M. A., & Kimura, M. (2007). Kinetics of osmotic dehydration and air-drying of pumpkins (*Cucurbita moschata*). *Journal of Food Engineering*, 82, 284–291.
- García-Pérez, J. V., Ozuna, C., Ortuño, C., Cárcel, J. a., & Mulet, A. (2011). Modeling Ultrasonically Assisted Convective Drying of Eggplant. *Drying Technology*, 29(13), 1499–1509.
- Giovanelli, G., Brambilla, a., Rizzolo, a., & Sinelli, N. (2012). Effects of blanching pre-treatment and sugar composition of the osmotic solution on physico-chemical, morphological and antioxidant characteristics of osmodehydrated blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.). *Food Research International*, 49(1), 263–271.
- NEPA. (2011). *Tabela Brasileira de Composição de Alimentos*. (NEPA, Ed.) (4th ed., p. 161). Campinas: UNICAMP.
- Ozuna, C., Cárcel, J. a, García-Pérez, J. V, & Mulet, A. (2011). Improvement of water transport mechanisms during potato drying by applying ultrasound. *Journal of the science of food and agriculture*, 91(14), 2511–7.
- Ramallo, L. a., & Mascheroni, R. H. (2012). Quality evaluation of pineapple fruit during drying process. *Food and Bioproducts Processing*, 90(2), 275–283.
- Santos, P. H. S., & Silva, M. a. (2009). Kinetics of L -Ascorbic Acid Degradation in Pineapple Drying under Ethanolic Atmosphere. *Drying Technology*, 27(9), 947–954.
- Shi, J. X., Maguer, L., Wang, L., & Liptay, A. (1998). Application of osmotic treatment in tomato processing: Effect of skin treatments on mass transfer in osmotic dehydration of tomatoes. *Food Research International*, 30(9), 669–674.
- Soria, A. C., & Villamiel, M. (2010). Effect of ultrasound on the technological properties and bioactivity of food: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 21(7), 323–331.

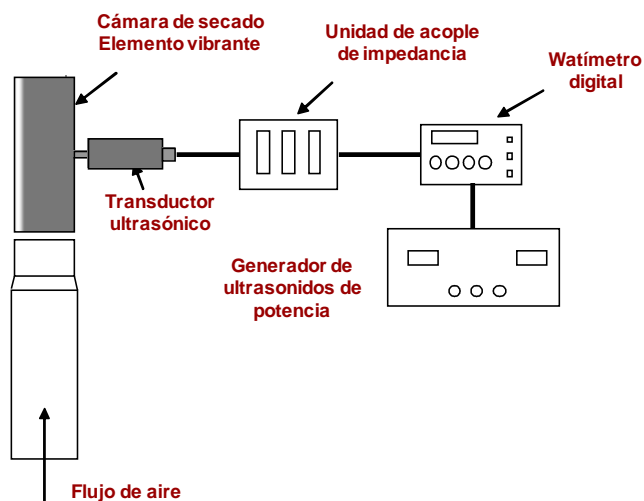


Figure 1. Esquema del secadero con aplicación de ultrasonidos

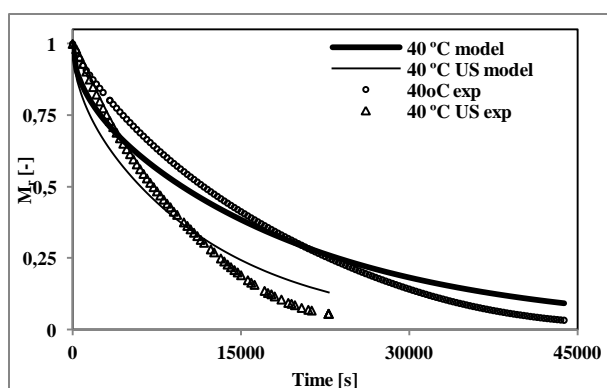


Figura 2 – Evolución de la humedad adimensional, experimental y calculada por el modelo difusivo, durante el secado de piña a 40 °C (1 m/s) con y sin aplicación de ultrasonidos

Tabla 1 – Difusividad efectiva de agua identificada mediante el modelo difusivo para el secado (40 °C; 1 m/s) de muestras de piña *

Tratamiento	Difusividad $\times 10^{10} [m^2 s^{-1}]$	Varianza explicada [%]
40 °C, SUS, NP	1.26±0.11	96.01
40 °C, SUS, OD 20min	1.34±0.22	95.98
40 °C, SUS, OD 40min	1.23±0,15	93.90
40 °C US, NP	2.98±0.11	95.40
40 °C US, OD 20min	2.50±0.29	91.43
40 °C US, OD 40min	2.22±0,15	95.90

*Media de, al menos, 3 réplicas

MODELIZACIÓN DE LA DIFUSIÓN DEL NITRITO DE SODIO EN CARNE DE CERDO

Gómez, J., Clemente, G., Sanjuán, N., Bon, J., Mulet, A.

Grupo de Análisis y Simulación de Procesos Agroalimentarios (ASPA). Departamento de Tecnología de Alimentos.

Universitat Politècnica de València, Camino de Vera s/n, 46022 Valencia, España.

INTRODUCCIÓN

Los nitritos se añaden a los productos cárnicos con distintas finalidades, por ejemplo, inhibición de microorganismos potencialmente patógenos, estabilización del color rojizo-rosáceo característico del curado, actuación como antioxidantes, y desarrollo del aroma y sabor típicos de estos productos (Flores y Toldrá, 1993). Uno de los factores influyentes en la velocidad de penetración de estas sales en carne y en su posterior distribución en el interior del producto es el contenido de agua de la misma (Costa-Corredor, et al. 2010), ya que debido a su alta solubilidad se movilizan en la fase acuosa de la carne (Honike, 2008). En la bibliografía existen evidencias de la interacción entre el contenido de agua y de sal en la carne durante el proceso de salado (Pinotti et al. 2002; Gou et al. 2003; Graiver et al. 2006; Costa-Corredor et al. 2010).

Para un mejor conocimiento del proceso de curado de carne, es importante conocer los factores que gobiernan la penetración de las sales de curado en la misma. De ahí el interés que presenta realizar la modelización del proceso considerando la interacción entre el contenido de agua y de la sal en la carne. El objetivo del presente trabajo fue modelizar la difusión de nitrito sódico (NaNO_2) en el músculo *Semimembranosus* de la pierna del cerdo considerando la interacción entre dicha sal y el agua.

MATERIALES Y METODOS

Preparación de la muestras

Se seleccionaron 8 piernas de cerdo con un pH de 5.9 ± 0.1 mantenidas a una temperatura entre 3 y 4°C, de las cuales se extrajeron 8 músculos *Semimembranosus*. El pH fue medido con un pH-metro Matthäus modelo pH-STAR CPU (Pötmes, Alemania). De cada músculo se obtuvieron 12 muestras de geometría cilíndrica (8.4 cm de longitud y 2.4 cm de diámetro). Diez

cilindros se utilizaron para la experiencia de curado, uno para determinar la concentración de equilibrio y otro para determinar las condiciones iniciales.

Experiencia de curado

Los cilindros fueron inmersos en bandejas que contenían una salmuera saturada de nitrito de sodio (NaNO_2). Los cilindros introducidos en la salmuera se colocaron en cámaras a temperatura controlada de 0, 4, 8 y 12°C (11 cilindros por cámara) y humedad relativa del 95%. Durante 5 días se mantuvo el tratamiento de curado y cada cierto tiempo se retiraba un cilindro de la salmuera para determinar su contenido en nitritos. Los cuatro experimentos realizados a distintas temperaturas se llevaron a cabo por duplicado para examinar la variabilidad de los datos obtenidos.

Tras retirar un cilindro de la salmuera, se extrajo su centro con un sacabocado de 1.2 cm de diámetro, y se obtuvo de esta manera dos secciones, interna y externa, a las que se determinó el contenido en humedad y en nitritos (Figura 1).

Determinación del contenido de humedad

El contenido de humedad de las muestras se determinó por triplicado de acuerdo con el método oficial de la AOAC 950.46 (AOAC, 1997).

Contenido de nitritos

La sección correspondiente (interna o externa) fue triturada en una picadora (Minimixer 300W - BP4530). Se introdujeron unos 5 g de muestra picada en un matraz de 300 ml y se añadió 200 ml de agua PA-ACS. El matraz con la mezcla se introdujo en un baño a 100°C durante 10 minutos y posteriormente se homogeneizó con un ultraturrax modelo T25 (IKA Labortechnik, Janke & Kunkel GMBH & Co, Staufen, Alemania) con un vástago modelo S25N- 18G girando a una velocidad de 9.500 r.p.m durante 10 minutos. Tras obtener los homogenizados, estos se diluyeron en agua y se filtraron, obteniendo así los extractos. La cuantificación de los nitritos (NO_2^-) de los extractos obtenidos se realizó al menos por triplicado siguiendo el método oficial de la AOAC (2000).

Modelización

Se utilizó un modelo difusivo obtenido a partir del balance microscópico de materia considerando una geometría de cilindro infinito. En este modelo se consideró la interacción entre el contenido en nitrito y agua en la matriz cárnica durante el proceso de curado. Se consideró que

en el instante inicial el contenido en nitrito y agua era uniforme, y que en la superficie del cilindro se alcanzaba inmediatamente la concentración de equilibrio (tanto para el nitrito como para el agua). Además, se consideró que en el centro del cilindro había la máxima concentración de agua y la mínima concentración de nitrito. Las ecuaciones (1) y (2) son las ecuaciones de gobierno del modelo.

$$0 = \frac{\partial}{\partial r} \left(-D_{we} r \frac{\partial X}{\partial r} \right) + r \frac{\partial X}{\partial t} \quad (1)$$

$$0 = \frac{\partial}{\partial r} \left(-D_{Ne} r \frac{\partial (C_s X)}{\partial r} \right) + r \frac{\partial (C_s X)}{\partial t} \quad (2)$$

Donde X es el contenido en humedad (kg agua/kg ms), C_s es la concentración de nitrito en la fase acuosa de la muestra (kg NO_2^- /kg agua), r es la dimensión radial (m), t es el tiempo (s), D_{we} es el coeficiente de difusión del agua (m^2/s) y D_{Ne} es el coeficiente de difusión del nitrito (m^2/s).

A partir del estudio bibliográfico (Graiver et al., 2006) se consideró que la difusividad de las sales de curado dependía linealmente de la concentración puntual de sal (ecuación 3).

$$D_{Ne} = \left[a + b \left(\frac{C_s}{1 + C_s} \right)^{-c} \right] * 10^{-12} \quad (3)$$

A partir del modelo difusivo se calculó la concentración de propiedad en cualquier punto del sólido a cualquier tiempo. Con el fin de estimar la humedad media y la concentración media de propiedad en la sección interior y exterior del cilindro a partir del modelo, se obtuvieron las ecuaciones correspondientes integrando para cada volumen de sección.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto de la temperatura

En la figura 2 se representa la variación del contenido de agua en la sección interna y en la sección externa de los cilindros en función de la temperatura y del tiempo de curado. El contenido de agua en las muestras disminuyó al aumentar el tiempo de inmersión en la salmuera.

Así, en las dos secciones cilíndricas se evidencia una marcada disminución en el contenido de agua durante el primer y el segundo día de salado. Posteriormente, el contenido de agua se mantuvo constante. Durante este mismo período, en ambas partes, tanto interna como externa, se observa la influencia de la temperatura, de manera que cuanto mayor es la temperatura de curado mayor es la pérdida de humedad inicial. Esto es atribuible a la mayor deshidratación de la muestra al aumentar la temperatura.

A partir de los datos experimentales se representó la variación del contenido de nitritos en la sección interna y en la sección externa de los cilindros a diferentes temperaturas (Figura 3). En ambas secciones se observa que a medida que aumentaba el tiempo de salado el contenido de nitritos en las muestras aumentaba.

En la Figura 3, se observa una mayor influencia de la temperatura en la concentración de nitritos en la sección externa que en la sección interna. Ésta aumenta conforme se incrementa la temperatura de tratamiento. No obstante, cabe señalar que la influencia de la temperatura fue más evidente en ambas secciones a partir del segundo día de salado. Así, el incremento del contenido en nitritos en las muestras durante los primeros dos días de salado podría ser debido al elevado contenido de humedad en las muestras. Dado que los nitritos difunden en fase acuosa, el mayor contenido de agua en los cilindros facilitó la difusión del ion, haciendo que este efecto fuera el predominante. A partir del segundo día, cuando el contenido en agua de las muestras es menor, el efecto de la temperatura en la difusión de los nitritos es más acusado.,

Modelización de la interacción nitrito-agua

La modelización de los resultados experimentales se realizó a partir de los valores medios de concentración de agua y nitrito, calculados como media entre los valores correspondientes a la sección interna y externa. Los valores de los parámetros cinéticos de la ecuación que relaciona la difusividad del nitrito con el contenido de sal junto con el coeficiente de difusión del agua obtenido a partir del ajuste de los datos experimentales al modelo se muestran en la Tabla 1. Cabe destacar que el porcentaje de varianza explicada en todos los ajustes fue superior al 95%, lo que sería un indicador de la validez del modelo considerado.

Se puede observar que los valores del coeficiente de difusión del agua y de los parámetros cinéticos a, b y c, obtenidos a partir del modelo, incrementaron con la temperatura. Los valores del coeficiente de difusión del agua son similares a los obtenidos por otros autores tales como Ruiz-Cabrea et al. (2004) para el secado del músculo *Semimembranosus* en carne de cerdo (entre

$3.45 \cdot 10^{-11}$ y $2.45 \cdot 10^{-9}$ m²/s) y Boudhrioua et al. (2009) para el salado de filetes de sardina con NaCl (entre $2.43 \cdot 10^{-10}$ y $1.9 \cdot 10^{-8}$ m²/s).

Respecto al coeficiente de difusión del nitrito, en la Figura 4 se muestra la variación de éste con la concentración de nitrito para las cuatro temperaturas estudiadas. En esta figura se observa un aumento del coeficiente de difusión del nitrito al aumentar la temperatura de curado.

Los valores del coeficiente de difusión del nitrito obtenidos se encuentran en un rango entre $8.26 \cdot 10^{-12}$ y $10.51 \cdot 10^{-12}$ m²/s. Estos valores son 10 veces menores que los obtenidos por otros autores que han descrito el proceso de salado a partir de modelos difusivos simples, sin considerar la interacción entre el contenido de agua y el contenido de sal (Pinotti et al. 2002; Graiver et al. 2006). Es por ello que se considera importante profundizar en el estudio de la interacción del nitrito con el agua de cara a la modelización y comprensión del proceso.

CONCLUSIONES

El contenido de agua en las muestras de carne disminuyó rápidamente en los primeros dos días de salado y posteriormente fue constante. El contenido de nitritos aumentó con el tiempo de inmersión de las muestras en la salmuera. La temperatura afectó el contenido de agua y de nitritos, así un aumento de la temperatura incrementó la pérdida de agua en las muestras y la ganancia de nitritos.

Los resultados obtenidos a partir de la modelización indican que al modelizar el proceso de curado es necesario tener en cuenta la interacción entre la sal y el agua en la materia cárnica y la difusión simultánea de ambas sustancias.

BIBLIOGRAFÍA

AOAC. Official methods of analysis. Association of official analytical chemists, 16th ed, Gaithersburg USA; 1997.

AOAC. Official methods of analysis. Association of official analytical chemists. Nitrites in cured meat, colorimetric method. In: Horwitz, W. (Ed.), 17th ed. AOAC International, USA; 2000.

Boudhrioua, N., Djendoubi, N., Bellagha, S., y Kechaou, N. (2009). Study of moisture and salt transfers during salting of sardine fillets. *Journal of Food Engineering*, 94(1), 83-89.

Costa-Corredor, A., Pakowski, Z., Lenczewski, T., y Gou, P. (2010). Simulation of simultaneous water and salt diffusion in dry fermented sausages by the Stefan-Maxwell equation. *Journal of Food Engineering*, 97(3), 311-318

Flores J, Toldrá F. Curing. In: R. Macrae, R. K.; Robinson, and M. J. Sadler (Eds.) Encyclopaedia of Food Science, Food Technology and Nutrition 1993, Pp. 1277-1282. Academic Press Inc.

Graiver N, Pinotti A, Califano A, Zaritzky N. Diffusion of sodium chloride in pork tissue. Journal of Food Engineering 2006, 77: 910-918.

Gou, P., Comaposada, J., y Arnau, J. (2003). NaCl content and temperature effects on moisture diffusivity in the Gluteus medius muscle of pork ham. Meat Science, 63(1), 29-34.

Honike, K.O (2008). The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. Meat Science, 78(1-2), 68-76.

Pinotti, A., Graiver, N., Califano, A., y Zaritzky, N. (2002). Diffusion of nitrite and nitrate salts in pork tissue in the presence of sodium chloride. Journal of Food Science, 67(6), 2165-2171.

Ruiz-Cabrera, M. A., Gou, P., Foucat, L., Renou, J. P., y Daudin, J. D. (2004). Water transfer analysis in pork meat supported by NMR imaging. Meat Science, 67(1), 169-178.

FIGURAS

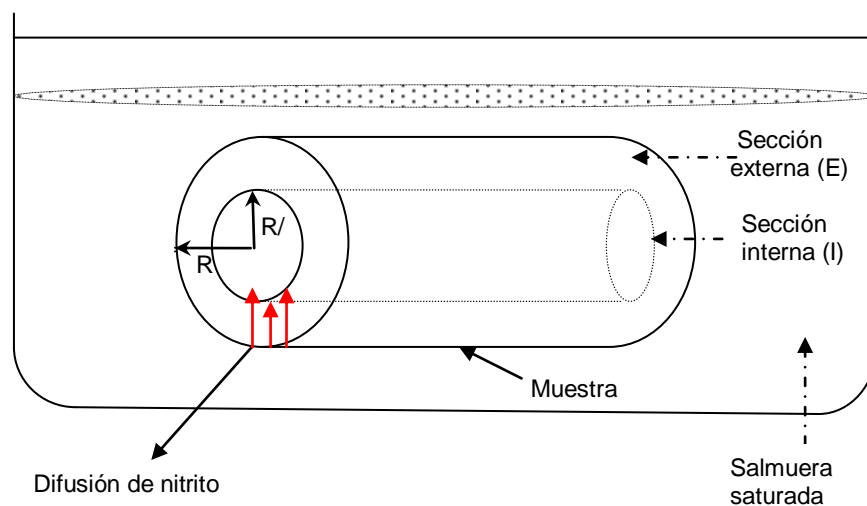


Figura 1. Esquema de las partes en las que se dividieron los cilindros para analizar su contenido de nitritos y agua.

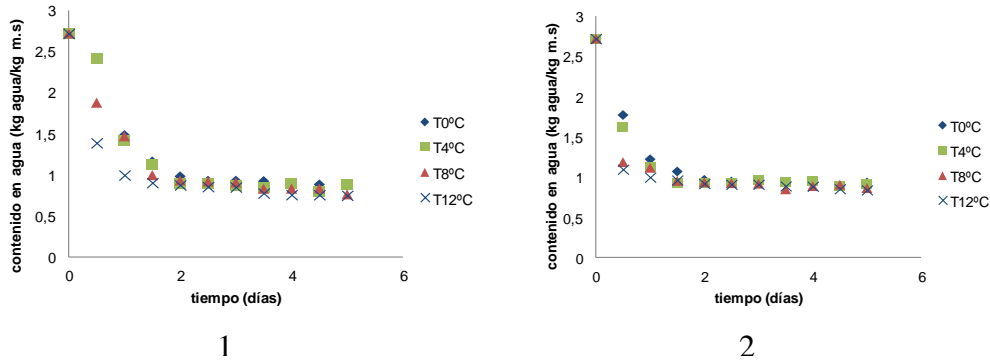


Figura 2. Contenido de agua en la sección interna (1) y en la sección externa (2) de los cilindros, a diferentes temperaturas (0, 4, 8 y 12°C) y durante el tiempo de salado.

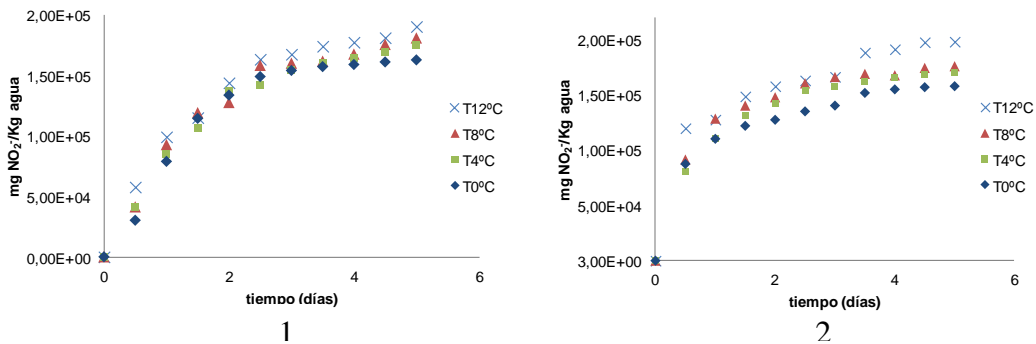


Figura 3. Contenido de nitritos (NO₂⁻) en la sección interna (1) y en la sección externa (2) de los cilindros, a diferentes temperaturas (0, 4, 8 y 12°C) y durante el tiempo de salado.

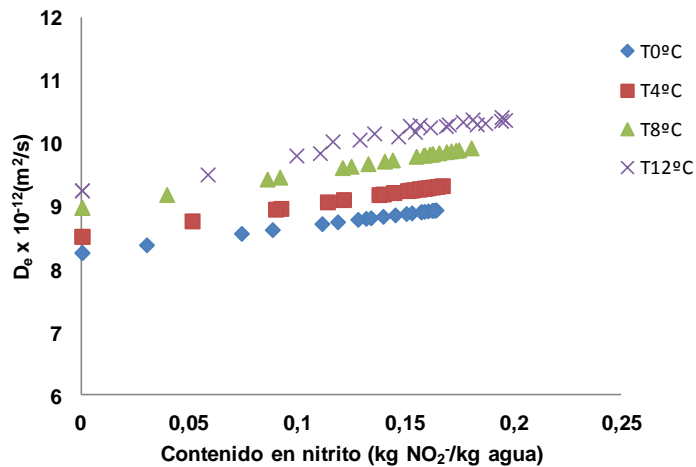


Figura 4. Variación del coeficiente de difusión de nitrito con la concentración de nitrito presente en el cilindro de carne.

TABLAS

Tabla 1. Valores de la difusividad efectiva del agua y de los parámetros para estimar la difusividad efectiva del nitrito, obtenidos a partir de la resolución del modelo.

Temperatura °C	$D_{we} (m^2/s) \times 10^{10}$	% var	parámetros para la estimación del coeficiente de difusión de nitrito		
			a	b	c
0	1,65	0,95	8,26	11,00	1,67
4	2,20	0,99	8,52	10,01	1,42
8	2,76	0,97	8,97	9,13	1,24
12	3,10	0,95	9,25	9,06	1,03

INFLUENCIA DE LA APLICACIÓN DE ULTRASONIDOS EN LA CINÉTICA DE SECADO A BAJA TEMPERATURA DE BACALAO DESALADO

M. E. Guerrero¹, J. V. García-Pérez¹, A. Mulet¹, C. Roselló², J. A. Cárcel¹

¹Grupo ASPA. Departamento de Tecnología de Alimentos. Universidad Politécnica de Valencia. Camino de Vera s/n, E46022. Valencia. España

²Grupo de Ingeniería de Alimentos. Departamento de Química. Universitat de les Illes Balears. Ctra. Valldemosa, km 7.5, E07122. Palma de Mallorca. España

1. INTRODUCCIÓN

El bacalao salado es un producto altamente apreciado en países del sur de Europa, como España o Portugal (Oliveira et al., 2012), tanto por su alto valor nutricional como por sus propiedades sensoriales. El bacalao salado sufre un proceso de desalado previo a su consumo para reducir su contenido de sal que, por otro lado reduce su capacidad de conservación. Un método para prolongar la vida útil del bacalao desalado podría ser la deshidratación.

El secado por aire es un método tradicional de conservación de alimentos (García-Pérez et al., 2009). Dicho proceso resulta más rápido a temperaturas elevadas. Sin embargo, éstas pueden provocar cambios importantes en las propiedades organolépticas y nutricionales de los productos. Así, en el caso del bacalao, una temperatura de secado demasiado elevada produce el amarilleamiento del producto. El secado a baja temperatura evitaría estos efectos y permitiría obtener productos que conserven sus propiedades nutricionales. Sin embargo, esto implica un aumento muy importante del tiempo de proceso y, por tanto, el encarecimiento del mismo. Por ello, resultaría interesante la intensificación del proceso de secado a baja temperatura, por ejemplo mediante la aplicación de ultrasonidos (US) de alta intensidad (Cárcel et al. 2007).

Los US producen una serie de efectos que pueden afectar al transporte de materia durante el secado. Por un lado, generan turbulencias en las interfases sólido-gas (Bantle, M. & Eikevik, T. M. 2010) que reducen el espesor de la capa límite de difusión y disminuyen la resistencia externa al transporte (García-Pérez et al. 2012, Cárcel et al. 2007). Además, en el interior de los sólidos, se producen una serie de compresiones y descompresiones sucesivas, lo que se conoce como efecto esponja (De la fuente et al. 2006 y Gallego Juárez et al. 2007), que también puede favorecer la aparición de microrroturas en la estructura interna. Todo ello facilita la difusión interna del agua (Cárcel et al. 2012). Además, la aparición de cavitación en el líquido que hay en

el interior de la muestra puede favorecer la extracción del agua fuertemente ligada (García-Pérez et al., 2006b, Bantle & M., Eikevik, T. M. 2010)

La extensión de los efectos de los ultrasonidos es mayor cuanto más baja es la temperatura de proceso (García-Pérez et al. 2006b) acelerando de manera importante procesos de secado incluso a temperaturas por debajo del punto de congelación (García-Pérez et al. 2012).

El objetivo de este trabajo fue evaluar la influencia de los US en la cinética de secado a baja temperatura de bacalao desalado.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Materia Prima

El bacalao salado (*Gadus morhua*) fue proporcionado por una empresa local (CARMEN CAMBRA S.L.) lo que aseguró la homogeneidad de la materia prima. Las muestras, en forma laminar (5 x 3 x 0.5 cm), se obtuvieron de la zona del lomo mediante cuchillos afilados, se envolvieron en film plástico impermeable y se almacenaron en una cámara de refrigeración (4 ± 0.5 ° C). Previamente al secado, las muestras fueron desaladas (10 láminas/L de agua) a (4 ± 0.5 °C) durante 24 h.

El contenido de humedad de las muestras se determinó por diferencia de peso colocando la muestra triturada en estufa (105 ± 1 ° C) hasta alcanzar un peso constante (método nº 950.46, AOAC, 1997).

El contenido de NaCl se determinó a partir de 0.2-0.5 g de muestra triturada a la que se le añadieron 100 mL de agua destilada. La mezcla se homogenizó en ultraturrax (T25, IKA Labortechnik, Alemania) a 9500 r.p.m. durante 5 minutos y se filtró. En el filtrado se determinó la concentración de iones cloruro mediante un analizador de cloruros (926 L, Ciba Corning, Reino Unido).

2.3. Secadero convectivo asistido por ultrasonidos.

Todas las experiencias de secado a baja temperatura se realizaron en un secadero convectivo con recirculación de aire (Figura 1), ya descrito anteriormente (García-Pérez et al., 2012) que dispone de un sistema para el control de la velocidad y de la temperatura del aire. La humedad relativa del aire de secado se mantiene en niveles muy bajos mediante una serie de bandejas que contienen sílica gel a través de las cuales se hace pasar el flujo de aire.

Además, el secadero dispone de un sistema de aplicación de ultrasonidos de alta potencia (García-Pérez et al., 2012). La cámara de secado es un cilindro (diámetro interno 100 mm, altura 310 mm y 10 mm de espesor) vibrante de aluminio, el cual permite generar un campo de ultrasonidos de alta frecuencia (21.7 kHz) en el medio de secado (aire). El sistema suministra un nivel de presión sonora media en el interior de la cámara de secado de 155 dB.

El aire circula por el interior del cilindro vibrante donde están colocadas las muestras. Para determinar las cinéticas de secado, las muestras se pesan a tiempos preestablecidos usando un módulo de pesaje industrial conectado a un sistema FieldPoint por una interfaz RS-422. La secuencia de pesado está programada en el FieldPoint.

2.4. Experiencias de secado

Los secados se realizaron a 3 temperaturas diferentes (-10, 0 y 10°C) con (CUS; 50 W, 21.7 kHz) y sin la aplicación de ultrasonidos (SUS). En todos los casos se utilizó una velocidad de aire de 2 m/s y la humedad relativa del aire se mantuvo por debajo del 15%. Las experiencias se prolongaron hasta que las muestras registraron una pérdida de peso del $65 \pm 5 \%$. Se realizaron al menos 3 réplicas de cada una de las condiciones de secado planteadas.

Para las experiencias de secados, las muestras se colocaron en un portamuestras que facilita la circulación de aire y la aplicación homogénea de ultrasonidos a las muestras. En el caso de las experiencias a -10° C las muestras fueron congeladas previamente en el mismo sistema portamuestras a $-17 \pm 0.5^\circ \text{C}$ durante 72 h.

2.5. Modelización

Para describir las cinéticas de secado de las láminas de bacalao, se utilizó un modelo difusivo basado en la 2ª ley de Fick. Para ello se consideró constante la difusividad efectiva, la homogeneidad y la simetría de la muestra, el flujo de transferencia de materia como unidireccional y se despreció la contracción de las muestras y la resistencia externa a la transferencia de agua frente a la resistencia interna. Teniendo en cuenta estas consideraciones, la solución analítica, expresada en términos de contenido en humedad adimensional ($\psi(t)$), se muestra en la ecuación 1 (Simal et al. 2005).

$$\psi(t) = \frac{W(t) - W_e}{W_o - W_e} = \left[\sum_{n=0}^{\infty} \frac{8}{(2n+1)^2 \pi^2} e^{\left(-\frac{D_w (2n+1)^2 \pi^2 t}{4L^2} \right)} \right] \quad (1)$$

donde $W(t)$ es el contenido de humedad media (kg w/kg m s.) a tiempo t , W_0 la del estado inicial, W_e la del equilibrio, L es el semiespesor de la lámina (m) y D_w la difusividad efectiva (m^2/s).

La identificación paramétrica de la D_w se realizó a partir de un problema de optimización en el que se buscó el valor que minimizó el promedio de las diferencias cuadráticas entre los valores experimentales del contenido de humedad media y los calculados con el modelo. La resolución del problema de optimización se realizó aplicando el método del Gradiente Reducido Generalizado (GRG).

La bondad de los ajustes se determinó a partir del cálculo del porcentaje de la varianza explicada (% VAR. Ec.2) (Berthouex y Brown, 1994).

$$\% \text{VAR} = \left[1 - \frac{S_{xy}^2}{S_y^2} \right] \cdot 100 \quad (2)$$

dónde: S_{xy} es la desviación estándar de la estimación y S_y la de la muestra.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Cinéticas experimentales

El contenido inicial de humedad y sal de la materia prima fue respectivamente de 0.53 kg agua/kg bacalao y 0.185 kg sal/kg bacalao. Después del desalado, las muestras presentaron un contenido de humedad de 0.79 kg agua/kg bacalao desalado y un contenido de sal de 0.023 kg sal/kg bacalao desalado.

Como cabría esperar, la temperatura del aire influyó claramente en la evolución del contenido de humedad durante el secado siendo mayor la velocidad de transferencia de materia cuanto mayor fue la temperatura (figura 2). Por ejemplo, en las experiencias SUS realizadas a la temperatura de 10° C, el tiempo de secado (18 horas) fue un 69 % inferior que el observado a la temperatura de -10° C (58 horas). La influencia de la temperatura en la velocidad de secado ha sido previamente observada a temperaturas más elevadas (García-Pérez et al., 2006b).

Por otro lado, se observó que, para cada temperatura, las experiencias realizadas con aplicación de ultrasonidos (CUS) fueron más rápidas que las secadas convencionalmente (SUS) (figura 2), aunque dicha influencia dependió de la temperatura de secado. Así, en la figura 2 se puede observar que la diferencia entre las experiencias CUS y SUS fue mayor a -10° C que a

10° C. De hecho, a -10 °C, los ultrasonidos redujeron el tiempo de secado en un 59.89 % y a 10 °C en sólo un 28.61 %. Así pues, el efecto de la aplicación de ultrasonidos es mayor cuanto menor es la temperatura. García-Pérez et al. (2012) aplicando ultrasonidos durante el secado a baja temperatura (-14° C y 2 m/s) de zanahoria, manzana y berenjena, obtuvieron disminuciones del tiempo de secado del 65 al 70%. Hay que destacar los resultados obtenidos en las experiencias realizadas a 0° C. En este caso, la aplicación de los US tuvo una menor influencia sobre el proceso alcanzando solo un 19% de disminución del tiempo de secado. Dado el bajo contenido en sal, a esa temperatura, la muestra está próxima al punto de congelación. Es posible que parte de la energía que aportan los US se utilice en impedir el cambio de fase en lugar de en favorecer el transporte del agua.

3.2. Modelización

Las cinéticas experimentales de secado se modelizaron con el objetivo de cuantificar la influencia de las variables del proceso estudiadas, temperatura y aplicación de ultrasonidos.

El ajuste del modelo difusivo resultó bastante bueno para las temperaturas de 0° y 10° C (figura 2) obteniéndose valores de varianza explicada por encima del 99 % (tabla 1). Esto indica que las condiciones asumidas en el modelo están próximas a las condiciones experimentales. Sin embargo, en el caso de las experiencias realizadas a -10° C el ajuste no fue tan bueno obteniéndose un % var de 94,4 % para las experiencias CUS y del 98,5 % para las experiencias SUS. A -10° C, la muestra se encuentra congelada lo que hace que las condiciones experimentales sean diferentes de las consideradas en un modelo plenamente difusivo. Sin embargo, la modelización sí que sirvió para obtener una difusividad efectiva de referencia y cuantificar la velocidad del proceso.

El efecto de la temperatura en la velocidad de secado se reflejó en los valores de difusividad efectiva identificados, más elevados cuanto mayor fue la temperatura de secado (tabla 1). Así, en las experiencias SUS, la difusividad efectiva identificada a 10 °C fue un 258 % superior que la identificada a -10 °C. En el caso de las experiencias CUS, la diferencia entre 10 y -10 °C se redujo a un 117%.

En cuanto a la aplicación de ultrasonidos, para cada temperatura de las ensayadas, la difusividad identificada en las experiencias CUS fue significativamente superior ($p < 0.05$) que la identificada en las experiencias SUS (Tabla 1). Sin embargo, el aumento de difusividad por aplicación de ultrasonidos fue diferente a cada temperatura. Así, el mayor incremento de la

difusividad al aplicar ultrasonidos se observó a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ (123.5 %). En estudios anteriores de secado de productos vegetales a baja temperatura (-14°C) se obtuvieron incrementos de la difusividad al aplicar ultrasonidos superiores al 180% (García-Pérez et al., 2012). En cuanto a las experiencias realizadas a 0 y $10\text{ }^{\circ}\text{C}$, la aplicación de ultrasonidos produjo incrementos de la difusividad del 17.4% y 35.4 % respectivamente.

Estas diferencias en la influencia de los ultrasonidos se podrían atribuir tanto a las diferencias de estructura de la materia prima, congelada o no, como a los mecanismos de deshidratación, sublimación o evaporación. A la temperatura de -10°C , la muestra se encuentra congelada y el secado se produce por sublimación. Básicamente se trata de un proceso de liofilización a presión atmosférica. En la muestra se pueden distinguir 2 partes, una capa exterior muy porosa ya deshidratada y un centro congelado que se va encogiendo conforme avanza la deshidratación (García Pérez et al 2012). Los ultrasonidos, que también podrían favorecer la sublimación del agua, actúan sobre la difusión de la molécula de agua en estado gas a través del sólido mediante el estrés producido por las sucesivas compresiones y descompresiones (efecto esponja) así como la posible apertura de microcanales. Esto facilita el transporte al disminuir la resistencia interna a la transferencia de materia. Además, la generación de microcorrientes en la interfase sólido-gas puede disminuir la capa límite de difusión y reducir también la resistencia externa. El hecho de que el modelo puramente difusivo no se ajustó demasiado bien a esta temperatura, sobre todo en las experiencias CUS, podría indicar que, en estas condiciones, hay otros efectos, no despreciables, que no son de carácter difusivo.

En las muestras 10°C el proceso de secado es un proceso convencional por evaporación. En este caso, aunque los efectos de los ultrasonidos también podrían afectar tanto a la resistencia interna como a la externa, el buen ajuste del modelo difusivo indicaría que el proceso está controlado por la resistencia interna y sería sobre ésta dónde se encontraría la influencia significativa de la aplicación de ultrasonidos. El bacalao presenta una estructura fibrosa que podría asimilarse a un producto de baja porosidad. Así, el incremento de difusividad producido por los ultrasonidos fue similar al encontrado en otros productos vegetales de baja porosidad como es el caso de la patata (Ozuna et al, 2011) o la zanahoria (García-Pérez et al., 2009).

Por último, es de destacar el caso de la temperatura de $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ en que la influencia de los ultrasonidos es anormalmente baja (17.4 % de aumento de la difusividad). Esto podría ser debido a que a esa temperatura el bacalao se encuentra cerca de su punto de congelación. En esas

condiciones, la energía aportada por los ultrasonidos podría estar parcialmente evitando la congelación de la muestra y, por lo tanto, estaría parcialmente disponible para influir sobre el proceso de transporte de agua.

Así pues, se puede concluir que el efecto de los US sobre la cinética de secado a baja temperatura podría verse influido tanto por el mecanismo de evacuación del agua, evaporación o sublimación, como por la estructura de la materia, muy diferente cuando está congelada a cuando no lo está. Sería necesario realizar más estudios para profundizar en este aspecto.

4.- CONCLUSIONES

La temperatura del aire afectó a la velocidad de secado, siendo la cinética de secado más rápida a mayor temperatura. La aplicación de ultrasonidos aceleró el proceso de secado, aunque la intensidad de este efecto fue diferente en las temperaturas ensayadas. La estructura de la materia (congelada o no) podría afectar a los efectos de los ultrasonidos.

5. AGRADECIMIENTOS

Este estudio ha sido realizado gracias a la financiación recibida de parte del Ministerio de Economía y Competitividad y de los fondos FEDER a través del proyecto DPI2012-37466-C03-03.

6. REFERENCIAS

- A.O.A.C. (1997) Official method of analysis of the Association of Official Analytical Chemists international. 16th edition, 3rd revision, March.
- Bantle, M., Eikevik, T. M. (2010). Mass transfer in ultrasonic assisted atmospheric freeze drying.
- Berthouex, P.M., Brown, L.C. (1994). Statistics for environmental engineers. Lewis Publishers Inc., New York, USA.
- Cárcel, J. A., Garcia-Perez, J. V., Riera, E., Mulet, A. (2007). Influence of high-intensity ultrasound on drying kinetics of persimmon. *Drying Technology*, 25(1), 185-193.
- Cárcel, J. A., García-Pérez, J. V., Benedito, J., Mulet, A. (2012). Food process innovation through new technologies: Use of ultrasound. *Journal of Food Engineering*, 110(2), 200-207.
- De la Fuente, S., Riera, E., Acosta, V.M., Blanco, A., Gallego-Juárez, J.A. (2006). Food drying process by power ultrasound. *Ultrasonics*, 44, e523–e527.

Gallego-Juárez, J. A., Riera, E., De la Fuente Blanco, S., Rodríguez-Corral, G., Acosta-Aparicio, V. M., Blanco, A. (2007). Application of high-power ultrasound for dehydration of vegetables: processes and devices. *Drying Technology*, 25(11), 1893-1901.

García-Pérez, J.V., Rosselló, C., Cárcel, J.A., De la Fuente, S., Mulet, A., (2006b). Effect of air temperature on convective drying assisted by high power ultrasound. *Defect and Diffusion Forum*, 258-260, 563-574

Garcia-Perez, J. V., Cárcel, J. A., Riera, E., Mulet, A. (2009). Influence of the applied acoustic energy on the drying of carrots and lemon peel. *Drying Technology*, 27(2), 281-287.

Garcia-Perez, J. V., Carcel, J. A., Riera, E., Rosselló, C., Mulet, A. (2012). Intensification of low-temperature drying by using ultrasound. *Drying Technology*, 30(11-12), 1199-1208.

Oliveira ,H, Pedro S., Nunes, ML., Costa, R., Vaz-Pires, P. (2012) Processing of salted cod (*Gadus spp.*): A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 11, 546-564.

Ozuna, C., Cárcel, J.A., García-Pérez, J.V. Mulet, A. (2011). Improvement of water transport mechanisms during potato drying by applying ultrasound. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 91, 2511–2517

Simal, S., Femenia, A., Garau, M. C., Rosselló, C. (2005). Use of exponential, Page's and diffusional models to simulate the drying kinetics of kiwi fruit. *Journal of food Engineering*, 66(3), 323-328.

7. TABLAS

Tabla 1.- Difusividad identificada a partir de la modelización de los datos experimental. %AD_w incremento de la difusividad al aplicar US respecto al secado convencional

T (° C)	CUS		SUS		% ΔD _w
	D _w (10 ⁻¹¹ m ² /s)	% var	D _w (10 ⁻¹¹ m ² /s)	% var	
10	10,51 ± 0,33	99,12	7,77 ± 0,62	99,70	35,4
0	6,63 ± 0,09	99,24	5,65 ± 0,35	99,26	17,4
-10	4,84 ± 0,60	94,36	2,17 ± 0,20	98,52	123,5

FIGURAS

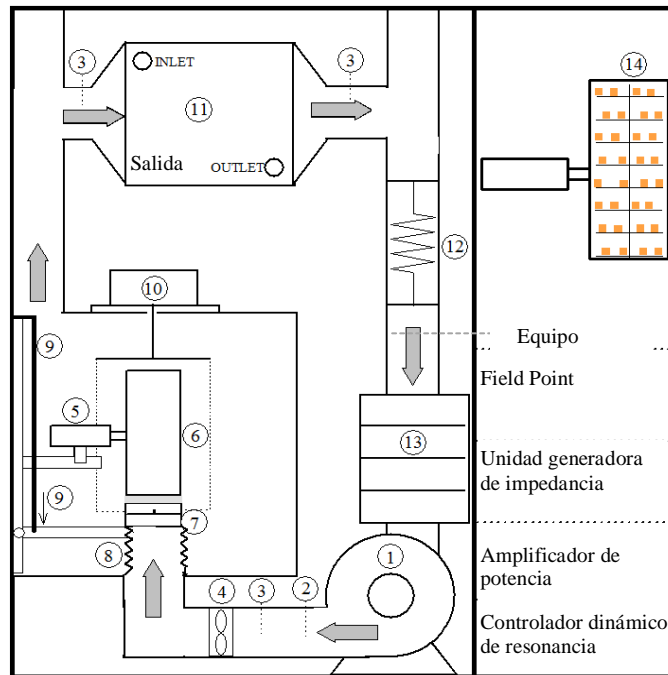


Figura 1. Esquema del secadero convectivo asistido con ultrasonidos (García-Pérez et al., 2012): 1. Soplante; 2. Sensor de temperatura Pt-100; 3. Sensor de temperatura y humedad relativa; 4. Anemómetro; 5. Transductor ultrasónico; 6. Cilindro vibrante; 7. Dispositivo para cargar muestra; 8. Tubo retráctil; 9. Mecanismo de desplazamiento vertical; 10. Módulo de pesada; 11. Intercambiador de calor; 12. Resistencia eléctrica; 13. Cámara de bandejas desecantes; 14. Detalle de colocación de muestras en árbol portamuestras.

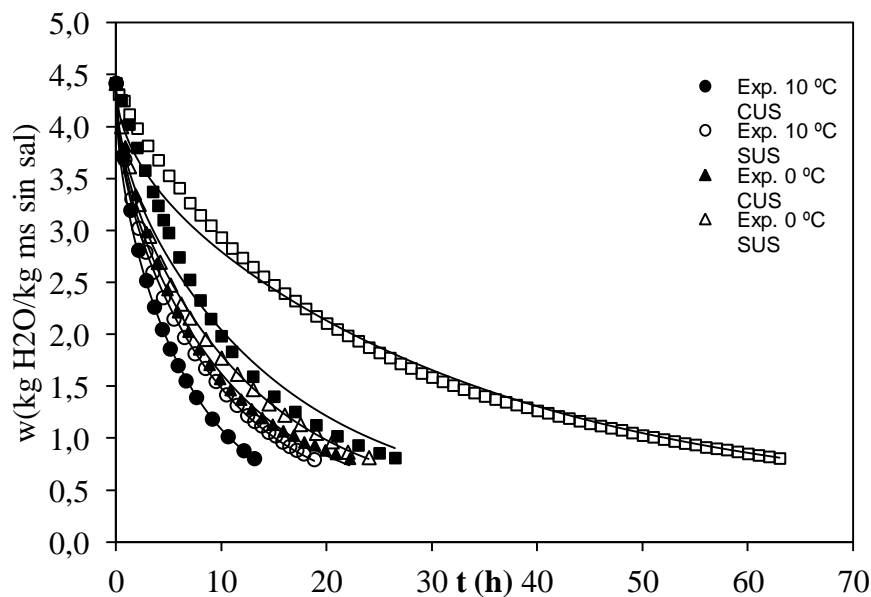


Figura 2.- Cinéticas y modelización de las experiencias de secado.



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA

EDITORIAL