

9 CIBIA

Congreso Iberoamericano
de Ingeniería de Alimentos

Valencia (España)

13 - 16 enero 2014

Libro de Actas

Vol. 3

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. 3

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
--------------------	---

Comunicaciones

216 INFLUENCIA DE TRATAMIENTOS DE ALTA PRESIÓN APLICADOS ANTES Y DESPUÉS DE LA SALMUERA SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS DE TEXTURA DE QUESO DE CABRA DE CUAJADA ENZIMÁTICA PARA LA MEJORA DE SUS PROPIEDADES COMERCIALES.....	17
Nicolau, N., Guamis, B., Zamora, A., Codina, I., Buffa, M.	
218 CINÉTICA DE DESHIDRATACIÓN OSMÓTICA DE RODAJAS DE NARANJA UTILIZANDO EDULCORANTES SALUDABLES	25
Rubio, S., <u>Castelló, M.L.</u> , Ortolá, M.D.	
219 EFECTO DE LA ULTRA ALTA PRESIÓN HOMOGENIZACIÓN SOBRE LA MICROBIOLOGIA Y ESTABILIDAD DE LA NATA.....	33
Bibiana Juan, Montserrat Marcos, Anna Zamora, <u>Idoia Codina</u> , Antonio-José Trujillo.	
223 FORTIFICACIÓN DE CÁSCARA DE NARANJA (<i>C. SINENSIS</i> VAR <i>VALENCIA</i>) POR IMPREGNACIÓN CON MIEL	41
Verónica López Hernández, Alma Vázquez Luna, Rafael Díaz Sobac y <u>Ebner Azuara Nieto</u>	
224 ESTUDIO DE LA ESTABILIDAD DE ZUMO DE CAPULÍN (<i>ARDISSIA COMPRESA</i>) ENRIQUECIDO CON MALTODEXTRINA.	49
<u>Maríe Azuara Mora</u> , Maribel Jiménez Fernández, César Ignacio Beristain Guevara, Albert Ibarz Ribas y Ebner Azuara Nieto	
225 CAPACIDAD ANTIMICROBIANA DE SUBPRODUCTOS CÍTRICOS DE LIMÓN, NARANJA Y MANDARINA FRENTE A <i>SALMONELLA TYPHIMURIUM</i>	56
Maria Sanz-Puig, Esteban Picón-Foronda, María Consuelo Pina-Pérez, <u>Clara Miracle Belda-Galbis</u> , Dolores Rodrigo, Antonio Martínez-López	
226 EFECTO DE LA CEPA BIOPRESERVANTE <i>LACTOBACILLUS SAKEI</i> -B2, SOBRE PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DE UN PRODUCTO CÁRNICO COCIDO A 8 °C	64
<u>Rodríguez Agudelo Natalia</u> , Sotelo Díaz Luz Indira, Cueto María Clementina, González María Isabel	

- 227 ANÁLISIS DE ENERGÍA EMITIDA Y POTENCIA DISIPADA EN UN SISTEMA DE ULTRASONIDO POR SONDA EN UNA MATRIZ LÁCTEA 71
Angélica María Lombana Lopera, Sebastián Camilo Ramos López, Johanna Andrea Serna Jiménez, Luz Indira Sotelo Díaz
- 229 APLICACIÓN DE ULTRASONIDO DE ALTA INTENSIDAD PARA PROCESAMIENTO DE CÁRNICOS CRUDOS..... 78
 Catalina Aguilar, Johanna Serna, Víctor Valencia, Oscar Ochoa, Claudia Garzón e Indira Sotelo
- 230 CONSERVACIÓN DE LA TILAPIA ROJA (*OREOCHROMIS SP.*) EN ATMÓSFERA MODIFICADA. 85
Durango V., Alba Manuela, De Paula, Cláudia Denise., González LL., JOSÉ E., Leon S., Carmen C.
- 231 EVALUACIÓN SENSORIAL DE UNA BEBIDA DESLACTOSADA Y FERMENTADA A PARTIR DE LACTOSUERO ADICIONADA CON PULPA DE MARACUYÁ. 93
De Paula, C. D. , Martinez, A. P. , Nunes, M. De V.
- 234 MICROPARTÍCULAS LIPÍDICAS SÓLIDAS CONTENDO ÁCIDO ASCÓRBICO: PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO 101
 Tanara Sartori, Miriam Dupas Hubinger e Florencia Cecilia Menegalli
- 235 HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DO FARELO DA CASCA DE BANANA PARA PRODUÇÃO DE NANOFIBRAS DE CELULOSE 110
 Tibolla, H., Pelissari, F. M., Menegalli, F. C. Heloisa Tibolla, Franciele Maria Pelissari, Florencia Cecilia Menegalli
- 236 PRODUÇÃO DE NANOFIBRAS DE CELULOSE A PARTIR DA CASCA DE BANANA POR HIDRÓLISE QUÍMICA E ENZIMÁTICA..... 118
 Heloisa Tibolla, Franciele Maria Pelissari, Florencia Cecilia Menegalli
- 238 EFECTO DE LA IMPREGNACIÓN A VACÍO Y LA TEMPERATURA DE SECADO SOBRE LOS COMPONENTES FUNCIONALES Y LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE UN SNACK OBTENIDO CON ZUMO DE ARÁNDANOS..... 126
Castagnini J.M., Betoret N., Fito P.
- 239 UTILIZACIÓN DE ZUMO DE ARÁNDANO COMO INGREDIENTE EN EL DESARROLLO DE UN SNACK PROBIÓTICO 139
Castagnini, J.M., Cerrudo, V., Betoret, N., Barrera, C. and Fito, P.
- 240 CONCENTRAÇÃO DE POLISSACARÍDEOS DO FUNGO *AGARICUS SUBRUFESCENS* ATRAVÉS DA NANOFILTRAÇÃO 146
 Camelini, C.M., Rezzadori, K., Benedetti, S., Proner, M.C., Fogaça, L., Azambuja, A., Giachini, A. J., Rossi, M., Petrus, J.C.C.

- 244 AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE QUELANTE DE FERRO DE PEPTÍDEOS DE SORO DE LEITE OBTIDOS COM DIFERENTES ENZIMAS 153
Caetano-Silva, M. E., Pacheco, M. T. B., Netto, F. M.
- 245 ALMIDON DE PLATANO (*MUSA PARADISIACA* L.) ESTERIFICADO CON ACIDO CITRICO: CARACTERIZACION FISICOQUIMICA. 161
Sánchez-Rivera, M.M., Wang, Y.-J., Jinn, J.-R., Osorio-Díaz, P., Bello-Pérez, L.A.
- 246 UTILIZACION DE CÁSCARA DE PIÑA EN EL DESARROLLO DE UNA BEBIDA TIPO CHICHA. 170
Liz Pérez, Elevina Pérez, Davdmary Cueto, Mariana Bastidas
- 248 VALIDACIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO PARA LA DETERMINACIÓN DE GLUCÓSIDOS MINORITARIOS PRESENTES EN LAS HOJAS DE *STEVIA REBAUDIANA* BERTONI CULTIVADAS EN EL SURESTE DE MÉXICO 178
Irma Aranda-González, Yolanda Moguel-Ordoñez, Diana Cabrera-Amaro, David Betancur-Ancona
- 249 EVALUACIÓN DE LOS CAMBIOS COMPOSICIONALES Y LA FORMACIÓN DE ACRILAMIDA DURANTE LA FRITURA DE PATATAS POR MICROONDAS..... 186
Mariola Sansano, María del Sol Juan-Borrás, Isabel Escriche, Ana Heredia, Ana Andrés
- 251 CLASIFICACIÓN MULTIVARIABLE DE COMPUESTOS FENÓLICOS, VÓLATILES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN CULTIVARES DE JAMAICA 195
Camelo-Méndez GA, Vanegas-Espinoza PE, Torres EF, Heredia FJ, Del Villar-Martínez AA.
- 253 EFECTO DE LA ADICIÓN DE BIOPOLÍMEROS SOBRE LA ESTABILIDAD DE JUGO DE MARACUYÁ (*PASSIFLORA EDULIS* FLAVICARPA) 201
Jiménez J.I., Beristain C.I., Azuara E. y Acosta N., Jiménez M.
- 254 ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE JUGO DE ZARZAMORA (*RUBUS SP.*) EN POLVO 207
Romero H., Peredo A., Beristaín C. I., Azuara E., Jiménez M.
- 256 SENSORES ÓPTICOS PARA LA MONITORIZACIÓN EN LÍNEA DE PROCESOS EN LA INDUSTRIA QUESERA 215
O. Arango, H. Taterka, A. Abdel-Gawad, J. Gallardo, M. Castillo
- 259 VALORACIÓN DEL CONTENIDO DE VITAMINA C Y B-CAROTENO EN GUAYABA AGRIA Y FEIJOA EN DIFERENTES ESTADÍOS DE MADUREZ 223
Lina María García Rivera, Andrea Milena Sánchez Riaño, Henry Alexander Váquiro Herrera, José Fernando Solanilla Duque

- 260 EFECTO DE LAS ALTAS PRESIONES HIDROSTÁTICAS (APH) EN LA INACTIVACIÓN DE *ESCHERICHIA COLI* K12 Y PECTINMETILESTERASA (PME) EN ZUMO DE NARANJA..... 230
Torres, E.F., González, G. , Klotz, B., Pina-Pérez, M.C. & Martínez, A.
- 261 INACTIVACIÓN DE *Rhodotorula glutinis* Y *Penicillium aurantiogriseum* POR ALTAS PRESIONES HIDROSTÁTICAS (APH) EN QUESO FRESCO 238
Torres, E.F., González, G. , Klotz, B. & Martínez, A.
- 262 INACTIVACIÓN DE *Escherichia coli* O157:H7 y ascosporas de *Zygosaccharomyces rouxii* EN ZUMO DE NARANJA MEDIANTE PULSOS ELÉCTRICOS DE ALTA INTENSIDAD. 246
Torres E. F., Boullosa, V., González, G. , Klotz, B. & Martínez, A.
- 265 COMPORTAMIENTO REOLÓGICO DE JUGO DE TUNA, PIÑA Y SUS MEZCLAS 254
Esperilla-Ramírez J., Mujica-Paz H., Martín- Belloso, O., Welti-Chanes J, Valdez-Fragoso A.
- 266 ESTUDIO DE LA APTITUD DE DISTINTOS CULTIVARES DE TRIGO SARRACENO EN LA ELABORACIÓN DE BIZCOCHOS SIN GLUTEN..... 260
 Miriam Alvarez, Margarita Barrachina, Benito Fernández, Eva García-Méndez, Susana Gutierrez, Carmen Siliuto, Pedro Caballero.
- 267 MODELAMIENTO ESTADÍSTICO PARA LA PREDICCIÓN DE LA ACIDEZ, HUMEDAD, PH Y SOLIDOS SOLUBLES, A PARTIR DE LA RESISTENCIA ELÉCTRICA DEL MANGO (*MANGÍFERA INDICA L.*) VARIEDAD HADEN EN DIFERENTES ESTADOS DE MADUREZ..... 268
Julio César Rojas Naccha. Hubert Luzdemio Arteaga Miñano. Jhony Lenin Takanga Rodríguez
- 269 APLICACIÓN DE INDICADORES NATIVOS DE FLUORESCENCIA PARA LA QUANTIFICACIÓN RÁPIDA DE DAÑO TÉRMICO DURANTE EL PROCESADO DE LA LECHE..... 276
Joan-Josep Gallardo-Chacón, Heather Taterka, Anna Zamora, Adriana Valeria Rocha Humboldt, Jinfang Liu, Jordi Saldo, Manuel Castillo
- 270 EFECTO DE LA REFRIGERACIÓN SOBRE LA COAGULACIÓN DE LA LECHE DE CABRAS LECHERAS SUPLEMENTADAS CON ACEITE DE SOJA EN CONDICIONES DE ESTRÉS TÉRMICO 283
 Abdel-Gawad, A.R., O. Arango, S. Hamzaoui, A.A.K. Salama, G.Caja, M. Castillo
- 271 INACTIVACION DE PECTINMETILESTERASA Y PEROXIDASA EN TRITURADO DE NARANJA MEDIANTE PULSOS ELÉCTRICOS DE ALTA INTENSIDAD DE CAMPO 290
 González-Maldonado A. J., Mújica-Paz H., Welti-Chanes J., Valdez-Fragoso A.

- 274 DESNATURALIZACIÓN DE LAS PROTEÍNAS DEL SUERO EN LECHE DESNATADA RECONSTITUIDA: DISPERSIÓN DE LUZ Y TAMAÑO DE LA MICELA DE CASEÍNA EN FUNCIÓN DEL PH Y LA TEMPERATURA DE TRATAMIENTO 296
Taterka, H., Castillo, M.
- 275 INFLUENCIA DE LA ACIDEZ DE LA LECHE DE BUFALA EN LAS CARACTERÍSTICAS DEL QUESO DOBLE CREMA 304
Arteaga M, Margarita, Simanca S, Mónica, Sáez F, Luz, Velásquez A, Gretty
- 278 EFECTO DE LA HUMEDAD RELATIVA DURANTE LA FERMENTACIÓN DE MASAS SIN GLUTEN SOBRE LA CALIDAD DEL PAN 316
Sandra Pérez-Quirce, Eduardo de Sousa Esperança, Felicidad Ronda
- 279 VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS INSTRUMENTALES BASADAS EN ESPECTROSCOPIA INFRARROJA EN ANÁLISIS DE ACEITES VEGETALES..... 321
José Hugo Castorena García, Lucina Sánchez Sánchez, Verónica Reyes García, Maribel Cano Hernández, Victor Santiago Santiago, Marlon Rojas López
- 280 EFECTO DEL METODO DE ACIDIFICACION Y ACIDEZ DE LA LECHE DE BÚFALA EN EL PROCESO DE ELABORACION, VIDA UTIL Y RENDIMIENTO DEL QUESO DOBLE CREMA..... 330
Arteaga M, Margarita, Sáez F, Luz, Velásquez A, Gretty
- 281 OPTIMIZACIÓN DE LA HIDRATACION DE MASAS SIN GLUTEN ENRIQUECIDAS CON CONCENTRADOS DE β -GLUCANOS DE CEREAL... 342
Felicidad Ronda, Sandra Pérez-Quirce, Ana Moraleja
- 282 EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DE ACEITES VEGETALES A TRAVÉS DE ÍNDICES QUÍMICOS..... 349
Verónica Reyes García, José Hugo Castorena García, Maribel Cano Hernández, Carlos Sánchez Granados, Mayra Luna Dimas, Lucina Sánchez Sánchez
- 283 ELABORACIÓN DE UNA INFUSIÓN A BASE DE TEJOCOTE (*Crataegus pubescens*) DESHIDRATADO..... 356
Rosas- Adell, A. M., Luna-Guevara, Ma. L., Luna-Guevara, J.J., Ochoa-Velasco, C.E y Hernández-Carranza, P.
- 286 RELAJACION ENTALPICA EN PELÍCULAS DE GELATINA DE BOVINO EN ESTADO VÍTREO: EFECTO DE LA PRESENCIA DE QUITOSANO..... 362
López, Daniel., Matiacevich, Silvia., Enrione, Javier
- 287 CARACTERIZACIÓN DE ANTINUTRIENTES DE NATURALEZA PROTEICA EN TORTA Y SEMILLA DE SACHA INCHI *Plukenetia volubilis* LINNEO..... 370
Glorio Paulet, P., Lazaro Aguilar, R y Kitazono Sugahara, A.

- 288 CARACTERIZACIÓN DEL COLOR DE POLEN APÍCOLA COLOMBIANO MEDIANTE ANÁLISIS DE IMÁGENES Y ESTADÍSTICA MULTIVARIADA 379
Carlos Zuluaga, Andrés Durán, Marta Quicazán
- 290 PROPIEDADES FÍSICAS, FISICOQUÍMICAS Y FUNCIONALES DE UN PRODUCTO EN POLVO A BASE DE CÁSCARA DE PIÑA Y LINAZA..... 387
Cueto Davdmary, Pérez Elevina, Pérez Liz, Carlos Ojeda, Bastidas Mariana
- 295 VALIDACIÓN DE UN MÉTODO RÁPIDO PARA LA DETERMINACIÓN DE HUMEDAD DEL GRANO DE CACAO..... 394
Chire G, Cáceres J, Orosco P, Valdivia R, Ureña M, Saavedra Z.
- 296 ESTUDIO COMPARATIVO DE MÉTODOS PARA INACTIVACIÓN DE *Saccharomyces cerevisiae* 401
José Hugo Castorena García, María del Consuelo Aztatzi Mendoza, Judith Méndez López, Maribel Cano Hernández, Verónica Reyes García, Raúl René Robles de la Torres
- 297 ALMIDONES RESISTENTES ELABORADOS POR EXTRUSIÓN: PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS Y ESTUDIOS DE DIGESTIÓN *IN VITRO* 410
E. von Borries Medrano, M. R. Jaime Fonseca y M. A. Aguilar Méndez
- 298 EFECTO DE LAS CONDICIONES DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN CON CO₂ SUPERCRÍTICO (ES-CO₂) Y APLICACIÓN DE PRETRATAMIENTOS DE LIOFILIZACIÓN Y MICROONDAS SOBRE LA OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE PULPA DE AGUACATE (*Persea americana* Mill., VARIEDAD HASS)..... 415
Jaime Ortiz, Juan P. Vivanco, Camila Mella, Fernando Osorio, Eduardo Castro
- 300 AVALIAÇÃO DA MICROESTRUTURA E PROPRIEDADES MECÂNICAS DE FILMES COMPOSTOS A BASE DE ZEÍNA..... 423
Carolina Pena Serna, José Francisco Lopes Filho
- 301 SNACKS DE PIMIENTO EXPANDIDO POR MICROONDAS: EFECTO DE LAS CONDICIONES DE PROCESADO EN LA CALIDAD 429
R. Rodriguez, A.Baranda, I. Martinez-Marañon
- 302 PERFIL SENSORIAL DO PRATO TRADICIONAL “CORDEIRO À MODA DE MONÇÃO” 437
Oliveira E C., Afonso I. M., Pereira J., Candeias G., Lopes J., Brito N. V., Vale A.P.
- 303 EVALUACIÓN DE LA BIOACCESIBILIDAD DE MERCURIO Y SELENIO DESDE MUESTRAS DE PEZ ESPADA Y DE LOS FACTORES QUE LA CONDICIONAN..... 445
Carlos Jadán, M^a Jesús Clemente, Antonio Ruiz, Dinoraz Vélez, Vicenta Devesa

- 304 HONGOS ENDOFITOS APLICADOS EN RECUBRIMIENTO A SEMILLAS DE SOJA COMO BIOPROTECTORES FRENTE A *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goidanich 452
S. Larran, M.R. Simón, M.P. Santamarina, S. Giménez, A. Perelló
- 305 EFECTO DE LA ADICIÓN DE ACEITE DE COLZA O DE PESCADO EN LAS PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS Y ANTIMICROBIANAS DE PELÍCULAS COMESTIBLES DE QUITOSANO 460
Ángela Perdonés, Laura Sánchez-González, Elmira Arab-Tehrany, Maria Vargas, Amparo Chiralt
- 306 ESTUDIO DE LA VIABILIDAD DE LA TERMOGRAFÍA INFRARROJA COMO HERRAMIENTA DE MONITORIZACIÓN DE LA EVOLUCIÓN DEL SECADO DE CARNE DE CERDO 466
Traffano-Schiffo, M.V., Castro-Giráldez, M., Fito, P.J.
- 307 PROPIEDADES FÍSICAS Y ANTIOXIDANTES DE PELÍCULAS COMESTIBLES DE ALMIDÓN DE MAÍZ Y SUERO DE MANTEQUILLA. 474
Olga Moreno, Clara Pastor, Justine Muller, Lorena Atarés, Chelo González, Amparo Chiralt
- 309 ANÁLISIS DE LA FRACCIÓN INDIGERIBLE DE UNA BARRA ENERGÉTICA CON ADICIÓN DE XOCONOSTLE (*Opuntia joconostle*)..... 483
E. Andrade-Lozano, M.E. Sánchez-Pardo, J.J. Islas-Hernández, P. Osorio-Díaz
- 310 EFECTO DEL PROCESO EN LA CALIDAD Y TEXTURA DE ESPAGUETI SIN GLUTEN DE HARINA DE PLÁTANO 488
M.A. Hernández-Aguirre, J.J. Islas-Hernández, L.A. Bello-Pérez, P. Osorio-Díaz
- 311 CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE HARINA MODIFICADA DE PLÁTANO MACHO (*Musa paradisiaca* L.) 496
F.Carlos-Amaya, L.A. Bello-Pérez, P. Osorio-Díaz
- 312 ANÁLISIS DE LA PRODUCCIÓN DE FIBRA A PARTIR DE SUBPRODUCTOS CÍTRICOS MEDIANTE PROPIEDADES DIELECTRICAS. 504
Clara Talens, Marta Castro-Giráldez, Pedro J. Fito
- 313 IMPACTO MICROESTRUCTURAL DE LOS PROCESOS DE CONGELACIÓN SOBRE CARNE DE CERDO MEDIANTE TÉCNICAS DE INFRARROJOS 511
N. Balaguer, M. Castro-Giráldez, P.J. Fito
- 315 RELACIÓN ENTRE EL MONITOREO INSTRUMENTAL Y ORGANOLÉPTICO DE LA FERMENTACIÓN LÁCTICA DE BEBIDAS DE SOYA 520
Marta Quicazán, Luis Caicedo, Martha Cuenca

- 316 USO DE TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS DE INFRARROJO CERCANO Y ANÁLISIS DE DATOS MULTIVARIANTES PARA LA CLASIFICACIÓN DE MERLUZA FRESCA Y DESCONGELADA 528
Angela Blanco, Urtzi, de Juana, Raquel Rodríguez, Iñigo Martínez de Marañón
- 317 SUPLEMENTAÇÃO DO SORO DE QUEIJO PARA PRODUÇÃO DE BIOMASSA CELULAR DE *KLUYVEROMYCES LACTIS*: METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA..... 535
 Gabriel Ferreira Caran, Lucas Tadeu Silva de Souza, Janaína Teles de Faria, Tamara Lorena da Conceição e Fábio Coelho Sampaio
- 318 DETERMINACION DE LAS PROPIEDADES FISICAS, QUIMICAS Y TERMOFISICAS DE DIFERENTES GRANOS DE CACAO DEL PERÚ..... 545
Chire G., Orosco P, Valdivia R, Ureña M.
- 320 PREDICCIÓN DE PARÁMETROS DE COAGULACIÓN Y SINÉRESIS EN GELES LÁCTEOS CON INULINA MEDIANTE UN SENSOR DE DISPERSIÓN DE LUZ INFRARROJA 552
O. Arango, A. J., Trujillo, M. Castillo
- 322 EFECTO DE LA ADICIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE TOMILLO EN LAS PROPIEDADES FÍSICAS, ANIOXIDANTES Y ANTIMICROBIANAS DE PELÍCULAS BIODEGRADABLES. APLICACIÓN EN SALMÓN..... 560
 Iris van Beest, Lorena Atarés, Amparo Chiralt, Maria Vargas
- 323 OPTIMIZACIÓN DE UNA FORMULACIÓN DE QUEQUE INGLES ENRIQUECIDO CON HARINA DE PAJURO (*ERYTRINA EDULIS*) Y SU ACEPTABILIDAD 567
 Elena Victoria Torres Mamani
- 324 MÉTODO PARA OBTENCIÓN DE ÁCIDO CARMINICO DE LA COCHINILLA (*DACTYLOPIUS COCUS COSTA*) EN LA TUNA (*Opuntia picus cactil*)..... 574
Helí Humberto Aguirre Zaquinaula, Miguel Ángel García Torres, Irma Rumela Aguirre Zaquinaula.
- 327 EFECTO GASTROPROTECTOR DEL EXTRACTO TOTAL DE SOLANUM TUBEROSUM L. VAR. “PAPA BLANCA” Y CROTON LECHLERI L. “SANGRE DE GRADO” EN RATTUS RATTUS VAR. ALBINUS CON DAÑO GÁSTRICO POR ACCIÓN DEL ETANOL..... 581
 Luis Felipe Gonzales Llontop
- 328 EVALUACIÓN DE LA PULPA DE CAFÉ PARA EL CULTIVO DEL HONGO COMESTIBLE *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) Kumm 590
 Oscar Andrés Gamarra Torres
- 329 OPTIMIZACIÓN DE UN NUEVO MÉTODO DE AHUMADO DE PESCADO .. 597
 Mañes, V., Rizo, A., Fuentes, A., Fernández-Segovia, I., Barat, J.M.

Actas Comunicaciones

INFLUENCIA DE TRATAMIENTOS DE ALTA PRESIÓN APLICADOS ANTES Y DESPUÉS DE LA SALMUERA SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS DE TEXTURA DE QUESO DE CABRA DE CUAJADA ENZIMÁTICA PARA LA MEJORA DE SUS PROPIEDADES COMERCIALES

Nicolau, N., Guamis, B., Zamora, A., Codina, I., Buffa, M.

Centre Especial de Recerca Planta Tecnologia dels Aliments (CERPTA), MALTA
Consolider, XaRTA, XiT, Departament de Ciència Animal y dels Aliments, Facultat de
Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona. Edifici V, Campus UAB, Bellaterra,
Cerdanyola del Vallés, 08193, Barcelona, España. Correo electrónico:
natalia.nicolau@uab.cat

1. INTRODUCCIÓN

Además de la composición inicial de la leche hay otros factores que intervendrán en la composición final del queso tales como el clima y la estación del año, la alimentación animal, la edad y el manejo del rebaño, el momento de lactación y el estado de salud de los animales ordeñados (Farkye, 2004). El método usado para cuajar la leche y obtener el queso influenciará sobre la estructura final, las características y la firmeza del queso (Farkye, 2004) y este proceso puede venir inducido por enzimas (proteasas animales, vegetales o microbianas), por acidificación (química o biológica mediante bacterias ácido lácticas) o mediante un aumento de la temperatura hasta 80-90°C a pH cercano a 5,2 (Eck, 1990). Cuando este gel se rompe o se corta, se separa la cuajada que formará el queso liberando de su interior el suero que sale espontáneamente y que contiene la mayor parte del agua de la leche, lactosa, proteínas y minerales hidrosolubles al pH de elaboración del queso. Dependiendo del tipo de queso a elaborar, se moldea y/o se prensa para provocar la extracción del suero y regular el contenido en humedad del queso.

El salado del queso contribuye a reducir la actividad de agua, al control de la actividad enzimática y del crecimiento bacteriano, así como también influye sobre los procesos físico-químicos y bioquímicos potenciando el desarrollo del flavor (Guinee, 2004). Durante la maduración el queso permanece un tiempo determinado a unas condiciones de temperatura y humedad relativa concretas para conseguir los cambios físicos y bioquímicos que caracterizarán el queso en cuestión tales como las características de flavor, aroma y textura (Fox y McSweeney, 2004). Los principales cambios que se dan en esta fase están relacionados con la glicólisis de la lactosa residual y el catabolismo de lactato y citrato y los fenómenos de lipólisis y de proteólisis (Mc Sweeney, 2004).

Actualmente la leche y el queso de cabra gozan de una reputación privilegiada entre los productos lácticos debido a sus propiedades sensoriales y nutricionales. Estos productos tienen, cada vez más, una mejor valoración entre los consumidores y por lo tanto, hay más demanda. Tradicionalmente muchos quesos de cabra se han elaborado mediante la tecnología de cuajadas ácidas, probablemente debido a la buena aptitud de esta leche para ser transformada con un proceso predominantemente acidificante. Scintu y Piredda (2007) ya expresan el comportamiento peculiar de la leche de cabra frente a la coagulación enzimática, especialmente debido a la distribución de su fracción proteica, teniendo los quesos de cabra madurados de cuajada enzimática dificultades para retener el agua y secándose rápidamente (Fontecha et al., 2006), a veces incluso antes de haber llegado a su punto óptimo de maduración. Este hecho disminuye el valor de este queso en el mercado, crea una fama innecesaria de quesos duros secos y poco agradables al paladar y reducen la demanda por parte del consumidor.

La tecnología de Altas Presiones (AP) en queso se ha utilizado habitualmente con dos enfoques; por un lado el de acelerar la maduración (Saldo y otros, 2000; Law y Haandrickman, 1997; Fox y otros, 1989) y por otro, usando presiones más elevadas, para detenerla (Wick, 2004; Juan, 2007a, Espinosa 2010). En este estudio la aplicación del tratamiento de AP tiene como objetivo, la modificación de la textura de los quesos de cabra mejorando sus características comerciales.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1 Diseño experimental

Se realizó un diseño factorial completo con dos factores experimentales (nivel de presión y momento de aplicación del tratamiento), tres y dos niveles respectivamente, (P_0 : 100, 200 y 300 MPa y M_0 : antes (AS) y después (DS) del salado) y tres producciones independientes ($N = a \cdot n = 12$). El resto de parámetros de elaboración como se mantuvieron constantes para minimizar la variabilidad experimental.

2.2 Elaboración de queso

La leche posteriormente al tratamiento de pasteurización (72°C 15 seg) fue atemperada (32 ±1 °C) en una cuba de quesería. Tras la coagulación de la leche se procedió al moldeado por peso, colocando 380 ±20 g de cuajada en cada molde con el fin de conseguir un extracto seco similar en los quesos de partida. Los quesos fueron prensados mediante un prensado progresivo (0,5 Kg durante 1 hora seguido por 1 kg durante 2 horas).

Posteriormente la mitad de la producción se saló en salmuera (T^a :13°C, 1 hora, 1,143 Kg/L) para ser después tratados por AP. La otra mitad se trató primero por AP, para proceder después al salado en salmuera. Tras el tratamiento y la salmuera o a la inversa, los quesos fueron madurados en una cámara climática con control de temperatura y humedad relativa durante 30 días (13 °C y 90% H.R.).

2.3 Tratamientos de Alta Presión

Previamente al tratamiento de AP los quesos fueron envasados en una bolsa de polietileno en condiciones de ligero vacío. Las muestras control siguieron exactamente el mismo proceso de envasado. Los quesos fueron tratados antes o después del salado (AS o DS) en un equipo discontinuo de alta presión isostática ACB GEC Alsthom (Nantes, Francia) a presiones de 100, 200 y 300 MPa durante 5 minutos a 14 °C.

2.4 Análisis de textura

Tras eliminar la corteza del queso se realizaron análisis de compresión uniaxial con un texturómetro TA-TX2 Texture Analyser (Stable Microsystems, Surrey, UK). Se cortaron 5 cubos de cada muestra de queso de 1,5x1,5 cm y se atemperaron a 20 °C durante todo el ensayo. Los cubos de queso fueron comprimidos al 80% de su altura original usando un cilindro de 36 mm de diámetro con una velocidad de 80 mm·s⁻¹. El esfuerzo real de fractura (σ) (Nm⁻²) y la deformación fueron calculados según la ecuación de Calzada y Peleg (1978).

2.5 Análisis estadístico

El experimento completo fue repetido en tres ocasiones independientes. Todos los datos obtenidos fueron analizados mediante un análisis de la varianza multifactorial ANOVA usando un modelo lineal generalizado (Statgraphics Inc., Chicago, IL, USA), teniendo en cuenta como factores tanto el tratamiento de alta presión, el momento del tratamiento o la producción así como sus interacciones. Las evaluaciones fueron determinadas a un nivel de significancia de $P < 0,05$.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 1 muestra los valores de los atributos de textura evaluados mediante ensayos de compresión uniaxial analizando el esfuerzo de fractura y la deformación en los quesos a día 30. El esfuerzo de fractura es el esfuerzo requerido para llegar al punto de ruptura de la

muestra. Este parámetro está relacionado con la compactación y la fuerza de la matriz del queso y unos valores bajos nos indican una alta fracturabilidad.

En general, todos los quesos mostraron un incremento significativo de los valores del esfuerzo de fractura a lo largo de la maduración, lo cual indica que todos los quesos fueron más firmes al día 30 comparado con el día 1 (datos no mostrados), independientemente del momento de aplicación del tratamiento de AP. Durante la maduración del queso se dan dos fenómenos que pueden afectar a la textura del queso, especialmente a la firmeza. Por un lado la pérdida de humedad reduce la hidratación compactando la matriz y aumenta la interacción de las proteínas induciendo un aumento de la firmeza de la matriz proteica (Gaya et al., 1990; González Viñas et al., 2007) perdiéndose el efecto suavizador o de reblandecimiento debido a la degradación de las proteínas (Núñez et al., 1986) y por otro lado la acción de las enzimas proteolíticas sobre la matriz del queso, concretamente sobre la α_{s1} -CN y que causan una disminución de la firmeza.

Comparando los valores obtenidos a día 30, los quesos tratados a 100 y 200 MPa presentaron mayores valores de esfuerzo de fractura, por lo tanto menor fracturabilidad, que el queso control. Contrariamente, el queso tratado a 300 MPa presentó valores más bajos. Estos comportamientos pueden ser debido a los cambios estructurales que se dan en el queso al aplicar el tratamiento de alta presión. El tratamiento de alta presión induce una matriz proteica más cerrada y continua con una distribución de los glóbulos grasos más uniforme y homogénea (Capellas et al., 2001; Buffa et al., 2001).

Las características de textura de las muestras también están relacionadas con su composición, estructura y el grado de interacción entre los elementos estructurales del queso. Algunos de los factores que más influencia tienen sobre la textura son el contenido en humedad, el estado de la grasa, la densidad de la matriz de caseína o las interacciones proteicas (Everett y Auty, 2008). El que algunas muestras tengan valores de fracturabilidad más bajos (valores de esfuerzo de fractura más altos), Creamer y Olson (1982) lo relacionaron con el contenido de caseína intacta (sin proteólisis) durante la maduración de su queso Cheddar.

Espinosa (2011) aplicando un tratamiento de 400 MPa, 10 min. a 2 °C en el día 1 de la maduración a quesos de cuajada enzimática de cabra observó valores muy bajos de proteólisis con respecto a queso control en todos los quesos tratados por AP. Este hecho combinado con los cambios estructurales inducidos por el tratamiento de AP puede contribuir a reducir la fracturabilidad de los quesos. No se observa el mismo fenómeno en el presente estudio, dónde los quesos tratados a 300 MPa obtienen al final de la maduración valores de

fracturabilidad más elevada junto con mayor contenido de amino ácidos libres producidos durante la proteólisis (datos no mostrados). Estos resultados inducirían a pensar que tratamientos de 400 MPa quizás afecten negativamente el desarrollo de la proteólisis durante la maduración, por lo contrario a 300 MPa se potenciaría una mayor proteólisis.

Diversos estudios han comprobado que un aumento en el contenido de humedad en los quesos resulta en una textura más blanda (Lucey et al., 2003) ya sea porque este hecho disminuye el volumen de la fracción proteica o bien debido al efecto lubricante sobre la matriz de caseína. Los valores de humedad observados a día 30 DS para todas las muestras (datos no mostrados) son igual que el queso control, excepto la muestra de 300 MPa que tiene un contenido en humedad mayor que el resto, lo que podría explicar que estas zonas de estructura más heterogénea debido al contenido en agua provocara en estas muestras un fracturabilidad más elevada.

La deformación describe la deformabilidad del queso; valores más elevados de deformación indican una mayor deformabilidad (Zoon, 1991; Zamora, 2009). Respecto a esta característica, cabe señalar que todos los quesos, tanto los tratados por AP, independientemente del momento, y el control mostraron valores más bajos de este parámetro al final de la maduración, aunque en proporciones diferentes (Tabla 1), lo cuál indica una reducción de la cohesión de la masa a lo largo del tiempo (González Viñas et al., 2007; Hort and Le Grys, 2001).

A día 30 el queso tratado a 300 MPa AS y DS presenta valores significativamente más elevados que el resto de muestras y que el queso control por lo que a la deformación se refiere (Tabla 1). Algunos estudios muestran cómo los tratamientos de AP pueden provocar valores más elevados del parámetro de deformación y denotan la coincidencia entre este hecho y un aumento en los valores de pH de los quesos AP lo que puede contribuir a una mayor solubilidad de la caseína (Juan et al., 2007b; Rynne et al., 2008). De hecho, el queso de 300 MPa DS mostró valores de pH significativamente más elevados que el resto de muestras (datos no mostrados) incluyendo el control al final de la maduración lo que juntamente con los cambios provocados por el tratamiento de AP en su microestructura podría explicar el alto nivel de deformación. En cambio Saldo y otros (2000) observó que los quesos tratados a 400MPa, más50MPa, mostraron un incremento del esfuerzo de fractura y del módulo elástico mientras que la deformabilidad se vió reducida.

4. CONCLUSIONES

Los resultados de este estudio indican que por un lado podría sugerirse que la presencia de sal en el queso al momento de aplicar el tratamiento AP (DS), amortigua su efecto, ya que parece que las muestras de 300MPa AS finalizan su maduración con una deformabilidad significativamente más elevada que las muestras de 300MPa DS. Por otro lado se observa que los tratamientos de Alta Presión provocan cambios sobre las características de textura del queso de cabra de cuajada enzimática, por ejemplo, la muestra tratada a 300 MPa aparece como más fracturable y más deformable, contrariamente a lo observado en otros estudios donde el tratamiento de AP fue más elevado y provocó una fracturabilidad y deformación menores. Una deformabilidad más elevada podría estar relacionada con una sensación más agradable al paladar mejorando las características comerciales del queso de cabra.

5. BIBLIOGRAFIA

- Buffa, M.N., Trujillo, A.J., Pavia, M. Y Guamis, B. 2001. Changes in textural, microstructural, and colour characteristics during ripening of cheeses made from raw, pasteurised or high-pressure-treated-goat's milk. *International Dairy Journal*. 11(11-12), 927-934.
- Calzada, J.F. y Peleg, M. 1978. Mechanical interpretation of compressive stress-strain relationship on solid foods. *Journal of Food Science*, 41:1087-1092.
- Capellas, M., Mor-Mur, M., Sendra, E. y Guamis, B. 2001. Effect of high-pressure processing on physico-chemical characteristics of fresh goat's milk cheese (Mato). *International Dairy Journal*, 11:165-173.
- Creamer, L.K. y Olson, N.F. 1982. Rheological evaluation of maturing Cheddar cheese. *Journal of Food Science*, 47:631-636.
- Eck, A. 1990. El queso. 1a Ed. Omega S.A. Ediciones, Barcelona. España. pp510
- Espinosa, D. 2010. Effect of hydrostatic pressure processing on biogenic amines formation in artisan caprine and ovine raw milk cheeses. Tesis Doctoral, Facultat de Veterinària, Departament Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona.
- Everett, D.W. y Auty, M.A.E. 2008. Cheese structure and current methods of analysis. *International Dairy Journal* 18:759-773
- Farkye, N., 2004. Cheese technology. Symposium contribution. *International Journal of Dairy Technology*, 57:91-98.
- Fontecha, J., Castillo, I., Blasco, L., Alonso, L., Juárez, M. 2006. Effect of artisanal kid rennet paste on lipólisis in semi-hard goat cheese. *Food Chemistry*, 98: 253-259.
- Fox, P.F.1989. Proteolysis during cheese manufacture and ripening. *Journal of Dairy Science* 72:1379-1400.

- Fox, P.F., McSweeney, P.L.H. 2004. CHEESE: An Overview. In: Cheese chemistry, physics and microbiology. Ed. Fox, P.F. 3rd, Elsevier Academic Press, London, UK, pp:1-18.
- Gaya, P., Medina, M., Rodríguez-Marín, M.A., Núñez, M. 1990. Accelerated ripening of ewe's milk Manchego cheese: The effect of elevated ripening temperatures. *Journal Dairy Science*, 73: 26-32.
- González Viñas, M.A., Ballesteros, C., Martín-Álvarez, P.J., Cabezas, L. 2007. Relationship between sensory and instrumental measurements of texture for artisanal and industrial manchego cheeses. *Journal of Sensory Studies*, 22:462-476.
- Guinee, T.P. 2004. Salting and the role of salt in cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 57: 99-109.
- Hort, J. y Le Grys, G. 2001. Developments in the textural and rheological properties of UK cheddar cheese during ripening. *International Dairy Journal*, 11:475-481.
- Juan, B., Ferragut, V., Buffa, M., Guamis, B., Trujillo, A.J. 2007a. Effects of high pressure on proteolytic enzymes in cheese: Relationship with the proteolysis of ewe milk cheese. *Journal of Dairy Science*, 90:2113-2125.
- Juan, B., Trujillo, A.J., Guamis, B., Buffa, M., Ferragut, V. 2007b. Rheological, textural and sensory characteristics of high-pressure treated semi-hard ewe's milk cheese. *International Dairy Journal* 17: 248-254.
- Law, J., Haandrikman, A. 1997. Proteolytic enzymes of lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*, 7:1-11.
- Lucey, J.A., Johnson, M.E., Horne, D.S. 2003. Invited Review: Perspectives on the basis of the rheology and texture properties of cheese. *Journal of Dairy Science*, 86:2725-2743.
- McSweeney, P.L.H. 2004. Biochemistry of cheese ripening: Introduction and overview. In cheese: Chemistry, physics and microbiology. Ed. Fox, P.F. 3rd. Elsevier Academic Press, London, UK, pp:347-360.
- Núñez, M., Gaya, P., Medina, M., Rodríguez-Marín, M.A., García-Aser, C. 1986. Changes in microbiological, chemical, rheological and sensory characteristics during ripening of vacuum packaged Manchego cheese. *Journal of Food Science*, 51:1451-1455.
- Rynne, N.M., Beresford, T.P., Guinee, T.P., Sheehan, E., Delahunty, C.M., Kelly, A.L. 2008. Effect of high-pressure treatment of 1 day-old full-fat Cheddar cheese on subsequent quality and ripening. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9:429-440.
- Saldo, J., Sendra, E., y Guamis, B. 2000. High hydrostatic pressure for accelerating ripening of goat's milk cheese: Proteolysis and texture. *Journal of Food Science*, 65(4), 636-640.
- Scintu, M.F., Piredda G. 2007. Typicity and biodiversity of goat and sheep milk products. *Small Ruminant Research*, 68:221-231.
- Wick, C., Nienaber, U., Anggraeni, O., Shellhammer, T.H. y Courtney, P.D. 2004. Texture, proteolysis and viable lactic acid bacteria in commercial Cheddar cheeses treated with high pressure. *Journal of Dairy Research*, 71(01), 107.
- Zamora, A., Guamis, B. Y Trujillo, A.J. 2009. Textural properties of fresh cheese made from milk treated by Ultra High Pressure of Homogenization. In Polian, Gauthier, Klotz (Eds.): XLVIIth EHPRG Conference-Conference Booklet, pp. 72 (2009).
- Zoon, P. 1991. The relation between instrumental and sensory evaluation of the rheological properties of cheese.

Tabla 1. Cambios en el esfuerzo de fractura (Nm^{-2}) y deformación (-) de los quesos tratados por Alta Presión (AP) a 100, 200 y 300 MPa antes y después de la sal (AS y DS) al final de la maduración (día 30).

DIA 30	100		200		300		C	
	AS	DS	AS	DS	AS	DS	AS	DS
Esfuerzo de Fractura	240,178 \pm 46,33 ^b	198,164 \pm 31,57 ^c	268,852 \pm 34,63 ^a	217,147 \pm 18,846 ^c	84,453 \pm 25,688 ^c	86,974 \pm 7,965 ^c	155,620 \pm 10,793 ^d	149,594 \pm 11,84 ^d
Deformación	0,217 \pm 0,018 ^d	0,258 \pm 0,056 ^{cd}	0,255 \pm 0,018 ^{cd}	0,271 \pm 0,028 ^c	0,653 \pm 0,075 ^a	0,577 \pm 0,045 ^b	0,255 \pm 0,0323 ^c	0,280 \pm 0,042 ^c

CINÉTICA DE DESHIDRATACIÓN OSMÓTICA DE RODAJAS DE NARANJA UTILIZANDO EDULCORANTES SALUDABLES

Rubio, S., Castelló, M.L., Ortolá, M.D.

Universidad Politécnica de Valencia,
Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo,
Camino de Vera, s/n 46022. Valencia. España.

INTRODUCCIÓN

La naranja es un alimento con gran contenido en nutrientes saludables y su cultivo tiene gran tradición e importancia económica en la Comunidad Valenciana. El desarrollo de nuevos productos de naranja sería una buena forma de fomentar el consumo de esta fruta, mejorando la salud nutricional de la sociedad. En este sentido, la deshidratación osmótica se ha utilizado ampliamente para la conservación y diseño de nuevos productos a partir de frutas. Actualmente, el consumidor demanda productos obtenidos de forma natural. Por esta razón, se están desarrollando alimentos que contienen edulcorantes saludables, como estevia, isomaltulosa y oligofruktosa, que tienen la virtud de ser no cariogénicas y tener un índice glicémico bajo. En el caso de la planta Estevia, su poder edulcorante es 15 veces mayor que la sacarosa (Soto *et al.*, 2002). Además es acalórica y posee múltiples propiedades: terapéuticas, por su contenido en esteviósidos, así como gran actividad antioxidante, antimicrobiana, antifúngica (Lemus-Mondaca, *et al.*, 2012). En cuanto a la isomaltulosa, posee un poder edulcorante de aproximadamente un 42% frente a la sacarosa, y también cabe destacar que por su bajo índice higroscópico, proporciona estabilidad a productos como por ejemplo, caramelos, chicles y chocolate, ya que manifiestan larga caducidad (De Oliva-Neto *et al.*, 2009). Es importante tener presente que su poder calórico es similar a la sacarosa, por lo que puede ser una fuente de energía alternativa a la misma (Lina *et al.*, 2002). Respecto a la oligofruktosa, se trata de una fibra dietética soluble de carácter prebiótico que favorece el crecimiento de la microbiota gastrointestinal beneficiosa y la absorción del calcio (Bosscher *et al.*, 2006). Por otra parte, posee un bajo contenido calórico, lo que le confiere múltiples beneficios saludables (Rao, 2001). Por todas las propiedades mencionadas, estos azúcares/edulcorante naturales podrían ser adecuados para cualquier sector de la población, incluso para aquellos que padecen diabetes, obesidad o tienen predisposición a la caries dental.

Por tanto, el objetivo de este trabajo fue caracterizar el comportamiento cinético de las rodajas de naranja deshidratadas utilizando diferentes combinaciones de edulcorantes saludables (isomaltulosa, oligofruktosa y extracto acuoso de estevia) con el fin de determinar el tiempo necesario para obtener distintos niveles de concentración de azúcares en esta fruta.

MATERIALES Y MÉTODOS

Como materia prima se utilizaron naranjas de la variedad *Valencia Late*, seleccionadas en térmicos de similitud de color, calibre y grado de madurez directamente de una parcela agrícola del término de Liria. Las naranjas se pelaron y se cortaron en rodajas de 0,5 cm. de espesor utilizando una loncheadora doméstica (Fagor, Delice CF-150), como puede observarse en la figura 1.

Como agentes osmóticos para la deshidratación osmótica se utilizaron los edulcorantes saludables descritos en la introducción: isomaltulosa (Palatinosa™ PST-N, Beneo palatinit), oligofruktosa (Fructalose® OFP, Sensus), así como un extracto acuoso con un 1% de hojas secas de estevia (*Stevia rebaudiana* Raab, Vitalfood, Rohrbach, Germany). Se trabajó con este extracto acuoso con el fin de incorporar no sólo el poder edulcorante sino también las propiedades antioxidantes, diuréticas y medicinales de esta planta en la disolución osmótica. Con la combinación de estos 3 agentes, se realizaron cuatro jarabes con proporciones diferentes de cada uno de ellos, como se muestran en la tabla 1, donde también se indica la codificación utilizada en cada jarabe.

El estudio cinético se llevó durante 48 horas tomando muestras a los 0, 10, 20, 30, 45, 60, 90, 120, 240, 300 minutos, a las 24 y 48 horas. La relación en peso entre el jarabe y el contenido de rodajas de naranja fue de 20:1 con el fin de no modificar la concentración de sólidos solubles del jarabe, con agitación constante (figura 1). Para cada tiempo se analizaron los cambios registrados en las rodajas de naranja en términos de sólidos solubles, por refractometría, obteniendo los resultados en °Brix o como fracción másica de solutos en la fase líquida del producto (z_s), (Refractómetro Abbe, Atago), humedad, por gravimetría (AOAC, 2000), la actividad agua, mediante un higrómetro (Decagón, CX-1), así como la variación de masa total, de agua y de sólidos solubles. Además, se registraron los cambios en diámetro y espesor utilizando un pie de rey. Todas estas determinaciones se realizaron por triplicado. Los jarabes también fueron caracterizados en términos de °Brix. Por último, los resultados obtenidos se ajustaron de acuerdo a un modelo de Fick, considerando las rodajas de naranja como láminas infinitas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los jarabes utilizados para este estudio cinético presentaron $26,5 \pm 0,4$, $28 \pm 0,4$, $30 \pm 0,4$ y $32,5 \pm 0,4$ °Brix para los jarabes A, AS, B, y BS, respectivamente. Estos resultados indican que la mayor proporción de solutos en las disoluciones con oligofructosa, aumentaron los °Brix de los jarabes utilizados y el mismo efecto tuvo la incorporación del extracto acuoso de estevia.

Los resultados de a_w y °Brix en función del tiempo de deshidratación para todos los tratamientos estudiados se presentan en la figura 2. Como puede observarse, conforme transcurre el tiempo, se produce un aumento de la cantidad de sólidos solubles en las rodajas de naranja de forma generalizada para todos los jarabes, sobre todo para los jarabes AS y BS. Otros estudios realizados con naranja y otras frutas (fresa y manzana) muestran resultados similares (Cháfer *et al.*, 2001; Castelló *et al.*, 2006). En coherencia con este comportamiento, la actividad de agua disminuye con el tiempo para los mismos jarabes, lo que indicaría la importante influencia del extracto acuoso de estevia en la reducción de la misma en este producto.

En la figura 3, se presentan los resultados de variación de masa total (ΔM_t), masa de agua (ΔM_w) y masa de sólidos solubles (ΔM_s) registrados en este estudio aplicando las siguientes fórmulas (Shi *et al.*, 1994):

$$\Delta M = \frac{M^t - M^0}{M^0} \quad (1)$$

$$\Delta M_w = \frac{M^t x_w^t - M^0 x_w^0}{M^0} \quad (2)$$

$$\Delta M_s = \frac{M^t x_s^t - M^0 x_s^0}{M^0} \quad (3)$$

Comprobación de los balances de materia:

$$\Delta M = \Delta M_s + \Delta M_w \quad (4)$$

Donde:

M^0 = masa inicial de masa (Kg)

M^t = masa de muestra de masa (Kg)

x_s^0 = Fracción másica de sólidos solubles de la muestra a tiempo 0 (°Brix)

x_s^t = Fracción másica de sólidos solubles de la muestra a tiempo t (°Brix)

x_w^0 = Fracción másica de agua de la muestra a tiempo 0 (Kg/Kg)

x_w^t = Fracción másica de agua de la muestra a tiempo t (Kg/Kg)

De los resultados observados se deduce que tanto la incorporación de estevia como de oligofructosa en los jarabes aumentaron la pérdida de masa total y de masa de agua de las

rodajas de naranja en coherencia con la mayor fuerza impulsora que presentaban estos jarabes (mayor °Brix).

Por otra parte, los cambios en la composición de la fase líquida de las rodajas de naranja se modelizaron mediante la ecuación 5, donde la fuerza impulsora (Y) de solutos, vienen definida en función fracción másica de solutos en la fase líquida a cada tiempo (z_s^t) a tiempo cero de tratamiento (z_s^0) y de la fracción de solutos de la disolución (y_s), considerándose esta última igual a la concentración en el equilibrio (Barat *et al.*, 1998).

$$Y_s^t = Y_w^t = \frac{(Z_s^t - y_s)}{(Z_s^0 - y_s)} \quad (5)$$

La figura 4 muestra los puntos experimentales 1-Y vs.: $t^{0.5}$ para ajustar los resultados a la expresión Fickiana (Crank, 1975) para una lámina de semiespesor l para tiempos cortos, simplificada a un solo término del desarrollo en serie. A partir de este modelo se determina el parámetro cinético de la difusividad efectiva (m^2/s) que permite conocer el tiempo de proceso para alcanzar una concentración de solubles concreta en las rodajas de naranja y que se presenta en la tabla 2.

$$1-Y = \left[\frac{4Det}{l^2\Pi} \right]^{1/2} \quad (6)$$

Los resultados ponen de manifiesto que el mejor ajuste se registró cuando se utilizó el jarabe AS para la deshidratación de rodajas de naranja. Por otra parte, el jarabe B, presentó una mayor pendiente en el ajuste, que se correspondió con el mayor valor de difusividad efectiva, lo que indicaría que esta situación sería la que ofrecería una cinética de deshidratación más rápida.

CONCLUSIONES

Tanto la incorporación de estevia como de oligofruktosa en los jarabes aumentó la pérdida de masa total y de masa de agua de las rodajas de naranja. Además, el ajuste de la solución de Fick fue mejor cuando se utilizó la combinación de isomaltulosa y extracto acuosos de estevia. Por último, los valores de difusividad efectiva indicaron que la

combinación de isomaltulosa-oligofructosa supuso una deshidratación más rápida que cuando se utilizaron el resto de los jarabes.

AGRADECIMIENTOS

A la Familia Capella-Serigó, por la donación de la materia prima utilizada en el estudio.

BIBLIOGRAFÍA

- AOAC (2000). Official Methods of Analysis of AOAC International (17th edition). Gaithersburg, MD, USA.
- Barat, J.M.; Chiralt, A.; Fito, P. (1998). Equilibrium in cellular food osmotic solution systems as related to structure. *Journal of Food Science*, 63, 836-840.
- Bosscher, D., Van Loo, J., Franck, A. 2006. Inulin and oligofructose as functional ingredients to improve bone mineralization. *International Dairy Journal* 16: 1092–1097.
- Castelló, M.L., Fito, P.J., Chiralt, A. 2006. Effect of osmotic dehydration and vacuum impregnation on respiration rate of cut strawberries. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie* 39(10):1171–1179.
- Cháfer, M., González Martínez, C., Ortolá, M.D., Chiralt, A., Fito, P., 2001. Kinetics of osmotic dehydration in orange and mandarin peels. *Journal of Food Process Engineering*, 24:273-289.
- Crank, J. (1975). The mathematics of diffusion. Ed. Lorendon Press, Oxford, U.K.
- De Oliva-Neto, Menão, P.T.P., 2009. Isomaltulose production from sucrose by *Protaminobacter rubrum* immobilized in calcium alginate. *Bioresource Technology*, 100: 4252–4256.
- Lina, B.A.R., Jonkera, D., Kozianowski, G. 2002. Isomaltulose (Palatinose1): a review of biological and toxicological studies. *Food and Chemical Toxicology* 40: 1375–1381
- Lemus-Mondaca, R., Vega-Gálvez, A., Zura-Bravo, L., Ah-Hen, K., 2012. Review. *Stevia rebaudiana* Bertoni, source of a high-potency natural sweetener: A comprehensive review on the biochemical, nutritional and functional aspects. *Food Chemistry*, 132: 1121-1132.
- Rao, V.A, 2001. The prebiotic properties of oligofructose at low intake levels. *Nutrition Research* 21:843–848.
- Shi, X.Q., Fito, P. (1994). Mass Transfer in Vacuum Osmotic Dehydration of Fruits: A Mathematical Model Approach. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 27(1), 67-72.
- Soto, A.E., Del Val, S. 2002. Extracción de los principios edulcorantes de la *Stevia rebaudiana*. *Revista de Ciencias Agrarias y Tecnología de los Alimentos*, 20:1-5.

Tabla 1. Proporción de edulcorantes/azúcares saludables en cada jarabe utilizado para el estudio cinético de deshidratación osmótica de rodajas de naranja.

	Isomaltulosa	Oligofruktosa	Disolución acuosa con un 1% de Estevia	Agua
Jarabe A	30%	-	-	70%
Jarabe AS	30%	-	35%	35%
Jarabe B	20%	20%	-	60%
Jarabe BS	20%	20%	30%	30%

Tabla 2. Resultados del coeficiente de difusividad efectiva (D_e), pendiente y ajuste (R^2) del ajuste la ecuación de Fick para una lámina infinita (Crank, 1975)

	D_e (m^2/s)	pendiente	R^2
JARABE A	$2,16 \cdot 10^{-09}$	0.0021	0.7079
JARABE AS	$4,72 \cdot 10^{-09}$	0.0031	0.901
JARABE B	$1,71 \cdot 10^{-08}$	0.0059	0.7925
JARABE BS	$6,01 \cdot 10^{-09}$	0.0035	0.6786

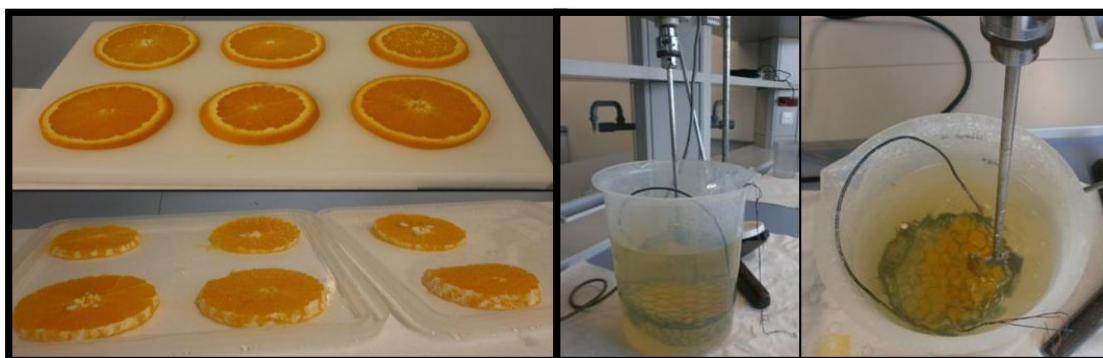
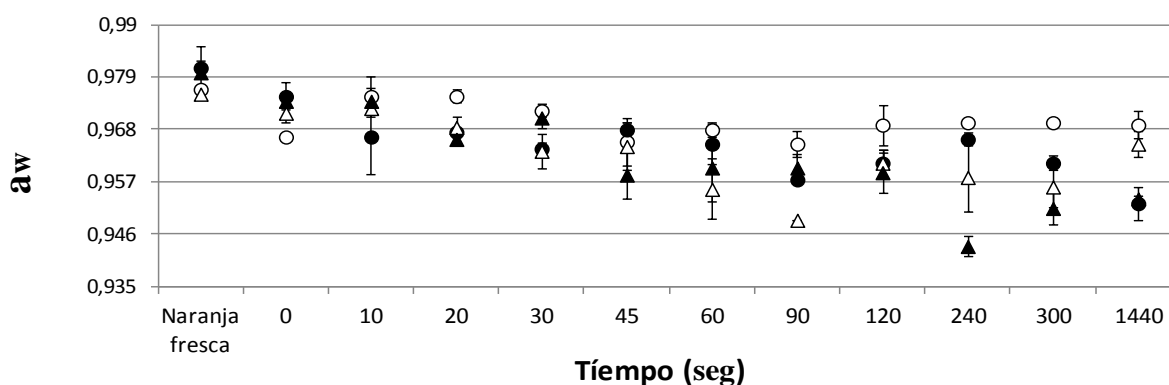
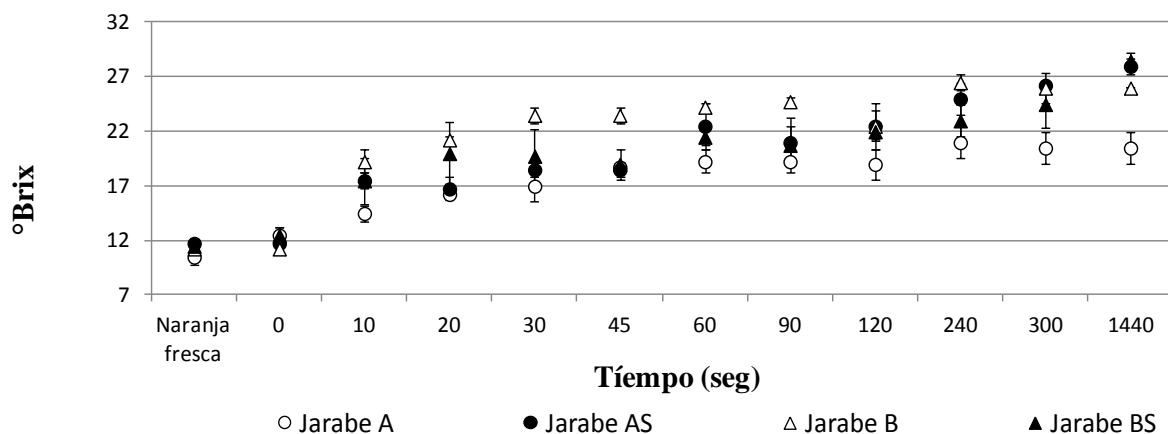


Figura 1. Naranjas cortadas en rodajas de 0.5 cm.de espesor y detalle del proceso de deshidratación osmótica de rodaja de naranja.





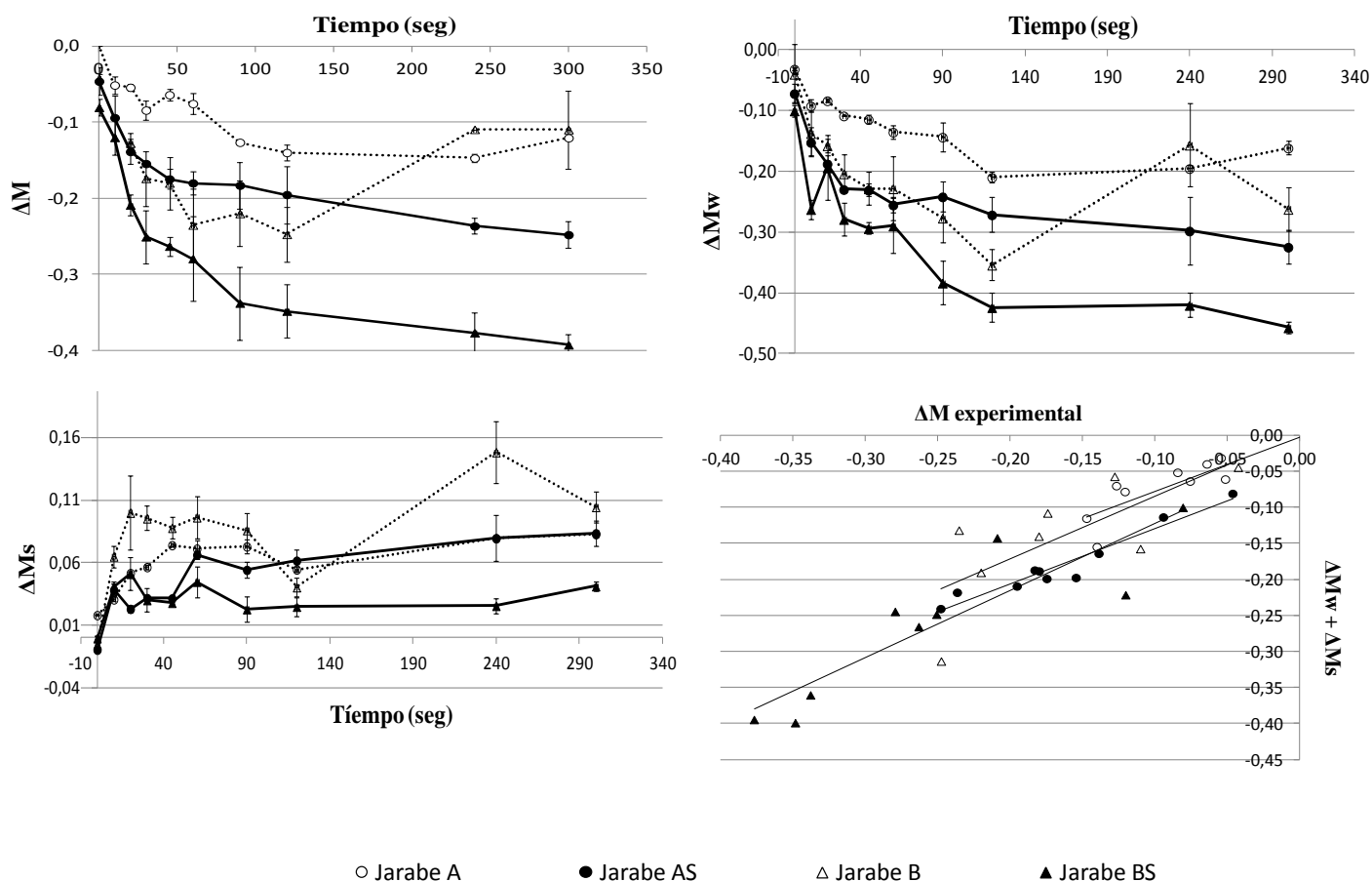
Jarabe A: 30% ISOMALTULOSA + 70% AGUA

Jarabe AS: 30% ISOMALTULOSA + 35% AGUA + 35% EXTRAC. ACUOSO ESTEVIA

Jarabe B: 20% ISOMALTULOSA + 60% AGUA + 20% OLIGOFRUCTOSA

Jarabe BS: 20% ISOMALTULOSA + 30% AGUA + 20% OLIGOFRUCTOSA + 30% EXTRAC. ACUOSO ESTEVIA

Figura 2. Resultados de a_w y $^{\circ}\text{Brix}$ en función del tiempo de deshidratación para todos los tratamientos estudiados.



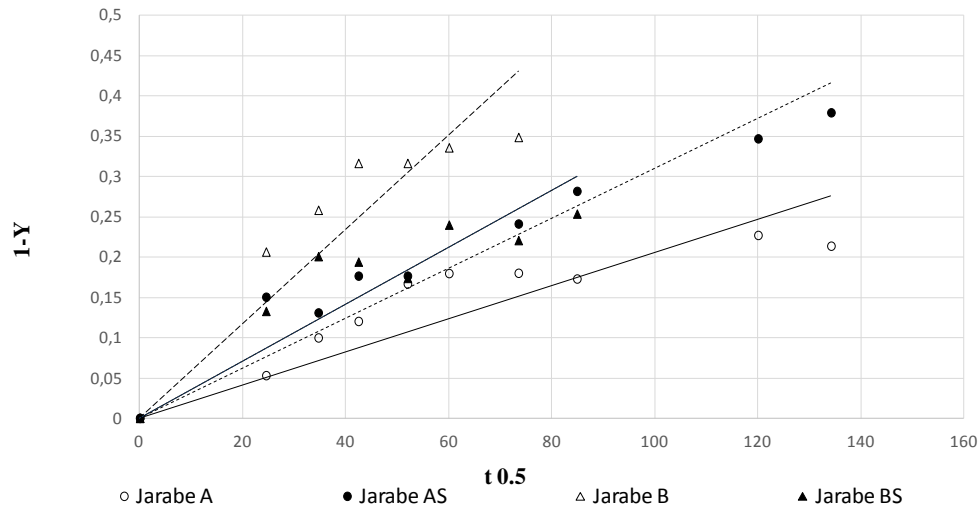
Jarabe A: 30% ISOMALTULOSA + 70% AGUA

Jarabe AS: 30% ISOMALTULOSA + 35% AGUA + 35% EXTRAC. ACUOSO ESTEVIA

Jarabe B: 20% ISOMALTULOSA + 60% AGUA + 20% OLIGOFRUCTOSA

Jarabe BS: 20% ISOMALTULOSA + 30% AGUA + 20% OLIGOFRUCTOSA + 30% EXTRAC. ACUOSO ESTEVIA

Figura 3. Resultados de variación de masa total (ΔM_t), masa de agua y masa de sólidos solubles, así como los balances de materia registrados en este estudio.



Jarabe A: 30% ISOMALTULOSA + 70% AGUA

Jarabe AS: 30% ISOMALTULOSA + 35% AGUA+35% EXTRAC. ACUOSO ESTEVIA

Jarabe B: 20% ISOMALTULOSA + 60% AGUA+ 20% OLIGOFRUCTOSA

Jarabe BS: 20% ISOMALTULOSA + 30% AGUA+ 20% OLIGOFRUCTOSA+ 30% EXTRAC. ACUOSO ESTEVIA

Figura 4. Resultados de 1-Y frente a la raíz cuadrada del tiempo de deshidratación para todos los tratamientos estudiados.

EFFECTO DE LA ULTRA ALTA PRESIÓN HOMOGENIZACIÓN SOBRE LA MICROBIOLOGÍA Y ESTABILIDAD DE LA NATA.

Bibiana Juan, Montserrat Marcos, Anna Zamora, Idoia Codina, Antonio-José Trujillo.

Centre Especial de Recerca Planta de Tecnologia dels Aliments (CERPTA), XaRTA, TECNIO, MALTA Consolider, Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra (Spain)

INTRODUCCIÓN

La homogeneización a ultra alta presión (UHPH) es una tecnología no térmica emergente que se basa en los mismos principios que la homogenización convencional, con la gran diferencia que se alcanzan presiones muy superiores gracias al diseño de válvulas y a la utilización de nuevos materiales. Actualmente se han publicado varias aplicaciones de la UHPH en la industria alimentaria con el fin de emulsificar, dispersar, mezclar y procesar alimentos líquidos (Hayes et al., 2005; Gràcia-Julià et al., 2008). Sus principales efectos son la reducción del tamaño de partícula, la estabilización de emulsiones, la mejora de la extracción de metabolitos y la inactivación de microorganismos y enzimas hasta niveles similares o superiores al tratamiento térmico de pasteurización (Dumay et al., 2013).

La línea de producción de nata incluye una etapa de homogenización a presiones moderadas de 15 MPa seguida de un tratamiento térmico. Un factor importante para la nata comercial es la estabilidad durante el almacenamiento, siendo la formación de crema, floculación, coalescencia, y la inversión de fase algunos ejemplos de inestabilidad (Camacho et al., 2005). Una posible alternativa para evitar estos problemas de estabilidad podría ser el tratamiento de UHPH, el cual podría en un solo proceso homogenizar e higienizar la nata.

El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de la UHPH en nata ligera (20% grasa), considerándose una alternativa a los procesos de homogenización-pasteurización tradicionales normalmente utilizados en la obtención de este producto. Para ello se determinó sus efectos sobre la microbiota, tamaño de partícula y estabilidad del producto después del tratamiento y durante su almacenamiento a 4°C.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención y preparación de la nata

La nata utilizada para la investigación fue proporcionada por Lactics Sabortis S.L. (Barcelona, España) y contuvo $41 \pm 1\%$ de materia grasa. Para obtener nata con el porcentaje

de grasa deseado, se procedió a mezclar la nata con leche de una granja local, previamente desnatada, hasta obtener un producto final con un 20 % de grasa que denominaremos nata cruda (C).

Para este estudio se prepararon tres tipos distintos de nata: la nata que no se sometió a tratamiento tecnológico alguno (nata cruda, C), una porción que se trató mediante homogenización y posterior pasteurización (PH) y una porción que se sometió al tratamiento de UHPH (UHPH).

Determinación de grasa en nata

El porcentaje de grasa inicial de las natas utilizadas se determinó mediante el método butirométrico de Roeder consistente en la digestión ácida de 5 g de nata con ácido sulfúrico (densidad 1,522 g/ml) en presencia de alcohol isoamílico (1 ml) con calentamiento a 70°C en baño maría hasta disolución completa de la proteína, y posterior centrifugación a 2000 rpm durante 5 min a 65°C para separar la grasa y lectura en la escala del butirómetro.

Tratamientos de la nata

Una porción de la nata (PH) fue homogeneizada a 15 MPa y 55°C mediante un homogeneizador de una sola etapa (LAB 22.51. Rannie, Copenhagen, Dinamarca) y posteriormente fue pasteurizada en *batch* a 65°C durante 30 min.

El tratamiento de UHPH de la nata se realizó mediante un equipo Stansted (Stansted Benchtop Homogenizator nG12500, Stansted Fluid Power Ltd., Essex, UK). Este equipo consta de una válvula de cerámica de alta presión capaz de soportar 350 MPa y una segunda válvula neumática convencional, situada después de la primera, capaz de soportar hasta 50 MPa. El sistema de alta presión contiene 2 intensificadores accionados por una bomba hidráulica, y el equipo UHPH también presenta un intercambiador de calor en espiral para minimizar así la retención de la temperatura después del tratamiento. La velocidad de flujo de la nata en el homogeneizador fue de aproximadamente 8 L/h. Antes de los tratamientos, el equipo fue desinfectado mediante la circulación de un desinfectante diluido (20%), incluyendo ácido peracético y peróxido de hidrógeno (P3-Oxonia activo, Ecolab Hispano portugués, Barcelona, España) en agua (80%) durante 15 min a 30°C. Para poder trabajar en condiciones asépticas se esterilizó el sistema mediante vapor de agua a 135-140°C durante 40 min. Las muestras de nata se recogieron en recipientes estériles en cabina de flujo laminar y posteriormente se almacenaron a 4°C.

La nata UHPH fue sometida a un tratamiento de una etapa a 300 MPa con temperatura de entrada (Ti) de 40°C. Las condiciones de tratamiento UHPH fueron establecidas para

eliminar la actividad lipásica de la lipasa endógena de la leche (Pereda et al., 2007). Se llevaron a cabo 3 repeticiones del experimento completo.

Análisis microbiológicos

La calidad microbiológica de las natas se evaluó mediante la preparación de diluciones decimales en agua de peptona tamponada (Oxoid Ltd., Basingstoke, Hampshire, Reino Unido) realizándose por duplicado los análisis microbiológicos. El recuento de mesófilos aerobios totales se llevó a cabo mediante agar de recuento en placa (PCA, Oxoid Ltd.), incubado durante 48 h a 30°C. Para el recuento de *Enterobacteriaceae* se empleó violeta rojo bilis glucosa agar (VRBG, Oxoid Ltd.), incubado durante 24 h a 37°C.

Los análisis microbiológicos se llevaron a cabo los días 1, 7 y 15 de almacenamiento.

Determinación del tamaño y distribución de partícula

El tamaño y distribución de partículas de las muestras de nata de los distintos tratamientos se determinó mediante un analizador de tamaño de partículas basado en el método de difracción láser (Beckman Coulter, serie LS 13 320, Fullerton, CA). Las muestras de nata se diluyeron en agua destilada hasta alcanzar la obscuración apropiada (4-6%). Para el cálculo del tamaño de partícula se utilizó un modelo óptico basado en la teoría de Mie de la dispersión de la luz para partículas esféricas aplicándose las siguientes condiciones: índice de refracción real = 1,471; índice de refracción del líquido (agua) = 1,332, índice de refracción imaginario = 0; velocidad de la bomba = 21%. La distribución de tamaños se caracteriza por el diámetro por debajo del cual se encuentran el 50 o 90% del volumen de las partículas (D50 y D90, respectivamente), el diámetro medio de las partículas considerando su superficie (D4,3) y su volumen (D3,2). Cada muestra se midió por triplicado.

Determinación de la estabilidad

Para observar cambios visuales de estabilidad, las muestras se colocaron en el día 1 en tubos de centrífuga y se mantuvieron sin moverse durante un periodo de 15 días.

Análisis estadístico

El experimento completo se repitió en tres ocasiones. Los datos fueron procesados mediante un análisis multifactorial de la varianza (MANOVA) usando el modelo lineal general de Statgraphics (Statgraphics Inc., Chicago, IL, USA), usando como factores el tratamiento, la producción, así como su interacción. Se realizó el test LSD para comparar los datos de las muestras y se tuvo en cuenta un nivel de significación de $P < 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis fisicoquímicos

El porcentaje de materia grasa de las natas de partida fue de $20 \pm 0,5$ %, ajustándose por lo tanto a la denominación de nata ligera según la Orden del 12 de julio de 1983, por la que se aprueban las normas generales de calidad para la nata (BOE, 1983).

Características microbiológicas de las natas

En la Tabla 1 se muestran los recuentos encontrados en las distintas natas. El recuento inicial de bacterias mesófilas aerobias en la nata C presentó recuentos muy elevados con respecto al resto de muestras, alcanzando valores cercanos a los 6,5 log ufc/mL. Este recuento incrementó con el tiempo hasta alcanzar 8,7 log ufc/mL a los 15 días de almacenamiento. Con el tratamiento de pasteurización se redujo ~ 4 log, si bien es cierto que a lo largo del tiempo aumentó ~3 y 5 log a los 7 y 15 días, respectivamente. Según las recomendaciones higiénico sanitarias para natas pasteurizadas, esta nata se consideraría de buena calidad hasta los 7 días de almacenamiento, momento en el cual alcanza los 5 log ufc/mL (BOE, 1983). Singhal y Kulkarni, (1999) también sugirieron un recuento de bacterias mesófilas aeróbicas menor de 5,47 log ucf/mL para considerar una nata pasteurizada correcta.

El tratamiento de UHPH fue muy eficiente en la reducción total de la población microbiana, llegando a niveles de no detección en las muestras tratadas. Estos recuentos se mantuvieron con el paso de los días, alargando así la vida útil del producto.

En nuestro estudio el recuento de *Enterobacteriaceae* en la nata cruda fue de 5,1 log ufc/mL en el día 1, aumentando a lo largo del almacenamiento hasta niveles de 6,7 y 7,8 log ufc/mL a los 7 y 15 días, respectivamente. El tratamiento de pasteurización redujo esta carga en ~ 3 log, aunque posteriormente alcanzó valores de 6,7 log ufc/mL a los 15 días. Este aumento durante el almacenamiento podría deberse a la presencia de microorganismos psicrotrofos, capaces de crecer a temperaturas de refrigeración (Phillips y Griffiths, 1985). Según la reglamentación actual (Real Decreto 135/2010), la nata se puede comercializar siempre y cuando no haya presencia de los microorganismos patógenos *Listeria monocytogenes* y *Salmonella*. No obstante, según las recomendaciones previas de calidad de la nata (BOE, 1983), el tratamiento de pasteurización realizado en nuestra nata sería insuficiente para considerarla de buena calidad, debido a que se consideran valores de máximo 1 log ufc/mL de enterobacterias para las natas pasteurizadas, valor alcanzado en el día 1 de almacenamiento. Al igual que en el caso de las bacterias mesófilas aerobias, el tratamiento de UHPH fue muy eficiente sobre el grupo microbiano *Enterobacteriaceae*,

observándose una reducción hasta niveles de no detección de la población microbiana, que además se mantuvo en el tiempo.

Tamaño y distribución de partícula

Para ver el efecto de los diferentes tratamientos sobre la distribución del tamaño de partícula de nuestras natas se tuvieron en cuenta los parámetros D (4,3), D (3,2), D50 y D90 (Tabla 2).

La nata sometida a tratamiento de UHPH presentó un menor valor de los parámetros D(3,2) y D50 con respecto a la nata C, evidenciando la reducción del tamaño de los glóbulos grasos. Diversos autores han observado la efectividad de la UHPH en la reducción del tamaño del glóbulo graso en leche, con la consiguiente reducción del valor D50 (Hayes y Kelly, 2003; Pereda et al., 2007; Zamora et al., 2007). Sin embargo, la nata PH presentó un aumento significativo del tamaño medio de partícula. Este resultado seguramente fue debido al fenómeno de coalescencia y agregación de las partículas grasas, correspondiéndose con un aumento del valor D(4,3), el cual está descrito como un parámetro muy sensible a la presencia de pequeñas partículas agregadas (Zamora et al., 2007; Cortés-Muñoz et al., 2009). No se observaron diferencias estadísticamente significativas de este parámetro entre las muestras C y UHPH.

La nata PH presentó igualmente un gran aumento del parámetro D90, el cual hace referencia al diámetro por debajo del cual se encuentran el 90% del volumen de las partículas. La muestra UHPH presentó un ligero incremento respecto a la muestra C, debido seguramente a la formación de alguna partícula de gran tamaño como consecuencia de la insuficiente cantidad de proteína en la muestra para envolver la superficie de los nuevos glóbulos grasos formados. Con el tratamiento de homogeneización se reduce en gran medida el tamaño del glóbulo de grasa aumentándose la superficie a cubrir, con la consiguiente necesidad de más proteína para poder revestir a los nuevos glóbulos grasos formados y produciéndose su agregación en el caso que la cantidad de proteína sea insuficiente (Hayes y Kelly, 2005). Zamora et al. (2007) observaron mediante microscopía confocal la aparición de agregados formados por los glóbulos grasos que no fueron revestidos por proteína en leche tratada por UHPH (200-300 MPa y $T_i = 30-40^{\circ}\text{C}$) como resultado de la insuficiencia de proteína necesaria para envolver los nuevos glóbulos de grasa creados por el tratamiento, disminuyendo la homogeneidad del producto.

Determinación de la estabilidad

En la Figura 1 se muestran las diferentes natas al cabo de 15 días de almacenamiento a 4°C. En ellas se pudo observar una capa de cremado en la nata C significativamente mayor en relación al resto de muestras, así como una capa de clarificación con un grosor bastante alto. Por otro lado en el caso de la nata PH se apreció una capa de clarificación en la parte inferior del bote. La muestra tratada por UHPH presentó un aspecto más estable sin observarse visualmente la separación de las fases.

CONCLUSIONES

La nata tratada por UHPH (300 MPa, $T_i = 40^\circ\text{C}$) presentó mayor estabilidad física y menor carga microbiana a lo largo del tiempo, alargándose la vida útil del producto en comparación a sus homólogas homogenizadas-pasteurizadas. Estos resultados constatan la UHPH como una tecnología de conservación prometedora para la nata ligera (20% grasa).

BIBLIOGRAFIA

- BOE (1983). Orden del 12 de julio de 1983. Normas generales de calidad para la nata y nata en polvo con destino al mercado interior. BOE, 172: 20196-20201.
- Real Decreto de 12 de Febrero de 2010. Derogan disposiciones relativas a los criterios microbiológicos de los productos alimenticios. BOE, 49: 18297-18299.
- camacho, M.M., Martínez-Navarrete, N. and Chiralt, A., 2005. Rheological characterization of experimental dairy creams formulated with locust bean gum (LBG) and λ -carrageenan combinations. *International Dairy Journal*, 15(3), pp. 243-248.
- Cortés-Muñoz, M., Chevalier-Lucia, D. and 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. and Blayo, C., 2013. Technological aspects and potential applications of (ultra) high-pressure homogenisation. *Trends in Food Science & Technology*, 31(1), pp. 13-26.
- Gràcia-Julià, A., René, M., Cortés-Muñoz, M., Picart, L., López-Pedemonte, T., Chevalier, D. and Dumay, E., 2008. Effect of dynamic high pressure on whey protein aggregation: A comparison with the effect of continuous short-time thermal treatments. *Food Hydrocolloids*, 22(6), pp. 1014-1032.
- Hayes, M.G. and Kelly, A.L., 2003. High pressure homogenisation of raw whole bovine milk (a) effects of fat globule size and other properties. *Journal of Dairy Research*, 72: 25-33.
- Hayes, M.G., Fox, P.F. and Kelly, A.L., 2005. Potential applications of high pressure homogenization in processing of liquid milk. *Journal of Dairy Research*, 72: 25-33.

Pereda, J., Ferragut, V., Quevedo, J.M., Guamis, B. and Trujillo, A.J., 2007. Effects of Ultra-High Pressure Homogenization on Microbial and Physicochemical Shelf Life of Milk. *Journal of dairy science*, 90(3), pp. 1081-1093.

Phillips, J.D. and Griffiths, M.W., 1985. Bioluminescence and impedimetric methods for assessing shelf-life of pasteurized milk and cream. *Food Microbiology*, 2(1): 39-51.

Singhal, R.S. and Kulkarni, P.R., 1999. Milk And Milk Products | Microbiology of Cream and Butter. In: Editor-In-Chief: Richard K.

Walstra, P., 1999. *Dairy Technology: Principles of Milk Properties and Processes*, Taylor & Francis.

Zamora, A., Ferragut, V., Jaramillo, P. D., Guamis, B. and Trujillo, A.J., 2007. Effects of ultra-high pressure homogenisation on the cheese-making properties of milk. *Journal of Dairy Science* 90, 13-23.

Tabla 1. Recuentos microbianos (log ufc/mL) de las natas durante su almacenamiento a 4°C.

Grupo microbiano Días	Tratamientos ¹		
	C	PH	UHPH
Mesófilos aerobios			
1	6,43 ± 1,09 ^b	2,68 ± 1,6 ^d	0,13± 0,31 ^e
7	7,91 ± 0,68 ^a	5,20 ± 0,2 ^c	Nd ^e
15	8,75 ± 0,54 ^a	7,99 ± 0,10 ^a	Nd ^e
<i>Enterobacteriaceae</i>			
1	5,12 ± 1,5 ^b	1,70 ± 1,2 ^c	Nd ^d
7	6,70 ± 0,54 ^a	4,60 ± 0,12 ^b	Nd ^d
15	7,80 ± 0,30 ^a	6,70 ± 0,66 ^a	Nd ^d

Los valores corresponden a la media ± desviación estándar.

^{a-d}Medias con diferente superíndice indican diferencias estadísticamente significativas (P < 0,05).

Nd: Por debajo del límite de detección.

¹C: nata cruda; PH: nata pasteurizada homogeneizada; UHPH: nata tratada por ultra alta presión homogeneización.

Tabla 2. Tamaño de partícula (μm) de las natas.

Parámetros	Tratamientos ¹		
	C	PH	UHPH
D(3,2)	1,08 \pm	1,78 \pm	0,62 \pm 0,01 ^c
	0,06 ^b	0,08 ^a	
D50	3,12 \pm	10,24 \pm	1,70 \pm 0,75 ^c
	0,05 ^b	1,17 ^a	
D90	5,19 \pm	25,95 \pm	6,13 \pm 0,21 ^{bc}
	0,14 ^c	4,44 ^a	
D(4,3)	3,14 \pm	12,74 \pm	3,43 \pm 0,13 ^a
	0,05 ^a	1,91 ^b	

Los valores corresponden a la media \pm desviación estándar; n=3.

^{a-c} Medias con diferente superíndice indican diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$)

¹C: nata cruda; PH: nata pasteurizada homogeneizada; UHPH: nata tratada por ultra alta presión homogeneización.

Figura 1. Muestras de las diferentes natas transcurridos los 15 días de almacenamiento a 4°C.



FORTIFICACIÓN DE CÁSCARA DE NARANJA (*C. SINENSIS VAR VALENCIA*) POR IMPREGNACIÓN CON MIEL

Verónica López Hernández, Alma Vázquez Luna, Rafael Díaz Sobac y Ebner Azuara Nieto

Maestría en Ciencias Alimentarias, Instituto de Ciencias Básicas, Universidad Veracruzana.
Dr. Luis Castelazo Ayala, Colonia Industrial Animas, Xalapa, Veracruz, MÉXICO.

INTRODUCCIÓN

El proceso de deshidratación-impregnación es una técnica que permite obtener alimentos de humedad intermedia, con buenas cualidades organolépticas, así como enriquecer alimentos y mantenerlos funcionales por periodos mayores de tiempo. El proceso consiste en sumergir en una solución de alta presión osmótica placas de un tejido cuya estructura sea capaz de realizar los tres intercambios de flujo que suceden, el primer flujo es el agua removida del tejido hacia la solución de impregnación, el segundo es el de los solutos a impregnar de la solución hacia el tejido y el tercero es una pérdida de vitaminas y solutos por parte del tejido, pero este último en la mayoría de los casos es considerado mínimo.

La efectividad del mecanismo de la deshidratación-impregnación depende de factores como tiempo, presión, composición, tamaño de la muestra, distribución de poros, así como de la solución utilizada en la impregnación. La solución de impregnación puede ser una sustancia natural o bien una solución diseñada que cumpla con el propósito de fortificar la matriz alimentaria seleccionada. La miel, es una alternativa importante como solución de impregnación pues es una solución hipertónica natural, rica en azúcares y en compuestos bioactivos tales como polifenoles, flavonoides y vitamina C, compuestos a los que se les atribuyen propiedades antioxidantes, inmunomoduladoras, antibacterial y efectos cardioprotectores.

Por otra parte, la cáscara de naranja (*C. Sinensis var, valencia*) es un residuo propio de la agroindustria, que posee un tejido con un alto potencial como matriz de impregnación, ya que tiene espacios intercelulares que le confieren porosidad a su estructura, lo que favorece la incorporación de solutos. Además el interés en el aprovechamiento de la cáscara de naranja en procesos de osmodeshidratación, no solo se relaciona con su estructura porosa, sino también porque es rica en nutrientes y compuestos bioactivos, tales como vitamina C, potasio, calcio, fibra, fenoles y flavonoides. El uso de una matriz de este tipo, se podría considerar como un alimento funcional que utilice la composición original de la matriz

alimentaria y sea fortificado con una solución de impregnación natural, también con un alto contenido en metabolitos de interés funcional.

El presente trabajo estudia la fortificación de placas de cáscara de naranja (*C. Sinensis, var. valencia*) a dos temperaturas diferentes y presión atmosférica, a través del proceso de deshidratación-impregnación, considerando variables como ganancia de solutos y pérdida de agua en el tejido, expresado en cinéticas de osmodeshidratación. Por otra parte, la composición es un parámetro de vital importancia, pues al final de cada proceso de impregnación se cuantificó la composición resultante en dos tiempos, en el tiempo cero después de la osmodeshidratación y 24 horas después de ser sometida a un proceso de secado en estufa a 45°C, con el propósito de conocer la viabilidad de transformar un residuo agroindustrial, como lo es la cáscara de naranja en un alimento funcional rico en nutrientes y compuestos bioactivos.

MATERIALES Y METODOS

Materiales

Cáscaras de naranja (*C. Sinensis, var. Valencia*). Las naranjas fueron adquiridas en un mercado local y posteriormente se les retiró la parte comestible, para solo obtener la corteza del cítrico. Las cáscaras fueron cortadas en trozos de 50x3x2.5 mm, lavadas y desinfectadas con una solución de hipoclorito de sodio 100 ppm.

Solución de impregnación. Se utilizó una solución hipertónica de miel (*Multiflores*) de 69 °Brix donada por un grupo de apicultores de la región de Coatepec, Veracruz, la cual fue caracterizada posteriormente en el laboratorio.

Métodos

Caracterización de la materia prima. Para caracterizar la cáscara de naranja y la miel utilizadas, se cuantificaron azúcares totales, humedad, acidez (%), pH y sólidos solubles, utilizando los métodos establecidos en el AOAC (1999). La densidad aparente de la muestra se determinó por el método de desplazamiento de volumen con un picnómetro a 20°C con agua destilada como referencia, el parámetro de actividad de agua (a_w) se determinó con un higrómetro de punto de rocío a 25 °C (Aqualab Decagón serie 3TE). En cuanto a la determinación de ácido ascórbico se realiza de acuerdo al método de la segunda derivada propuesto por Lidija et al., (2003), los grupos polifenólicos se cuantificaron por el método de Singleton y Rossi (1965), flavonoides de acuerdo a Shizen *et al.*, (1999), los métodos de FRAP (Capacidad reductora férrica de plasma) y DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) se

utilizaron para determinar actividad antioxidante con los métodos propuestos por Brand-Williams *et al.*, (1995) y Benzie y Strain, (1996). Finalmente, la determinación de fibra insoluble también se realizó según el método propuesto por la AOAC (1999).

Eliminación del sabor amargo. La cáscara de naranja contiene metabolitos secundarios llamados flavonoides que confieren el sabor amargo a los trozos de cáscara, ocasionando que no sean agradables al gusto, para eliminar dicho sabor se hizo pasar una corriente de vapor a través de las cáscaras durante una hora, de forma continua y bajo una presión de 1 atm.

Deshidratación-impregnación. Durante el proceso de osmodeshidratación, se utilizó el método continuo (Azura *et al.*, 1998) para obtener las cinéticas de osmodeshidratación en cáscara de naranja (albedo y flavedo), con el fin de tener un alto control sobre el grado de madurez de la muestra y así evitar la dispersión de los datos. Los trozos de cáscara fueron sumergidos en una solución de miel pura (61.2 g/L), con una relación 1:20 en peso cáscara-solución durante 120 minutos. Los pesos de la muestra fueron obtenidos a los 0, 5, 15, 30, 45, 90 y 120 minutos. En cada intervalo de tiempo, la muestra se secó con papel absorbente para eliminar el exceso de solución y se regresó a la solución hasta terminar los 120 minutos. El proceso se realizó a presión atmosférica y a dos temperaturas; 35 y 45°C. Después de cada impregnación se determinó la humedad final de la muestra y la composición funcional obtenida. Las mediciones a los diferentes intervalos de tiempo se realizaron por triplicado.

Secado. A las muestras osmodeshidratadas también se les somete a un tratamiento de secado en estufa a 45°C durante 24 h, con el propósito de disminuir su valor en a_w y así reducir la posibilidad de crecimiento microbiano, después de este tiempo se determinó la humedad obtenida y la composición funcional resultante, a las muestras obtenidas.

Método de cálculo. Las cinéticas de agua pérdida y sólidos ganados durante la deshidratación osmótica se ajustaron con el siguiente modelo (Azura *et al.*, 1992a):

$$WFL = \frac{S_1 * t * WFL_{\infty}}{1 + S_1 * t} \quad SG = \frac{S_2 * t * SG_{\infty}}{1 + S_2 * t}$$

Donde WFL= fracción de agua perdida por el alimento al tiempo t, SG=fracción de sólidos ganados por el alimento al tiempo t, SG_{∞} =fracción de solidos ganados en el equilibrio, WFL_{∞} =fracción de agua perdida por el alimento en el equilibrio, S_1 =constante relacionada con la velocidad de pérdida de agua, S_2 = constante relacionada con la velocidad de entrada de sólidos al alimento.

El peso perdido (ML) durante la osmodeshidratación es igual al agua perdida (WFL) menos los sólidos ganados (SG).

$$ML = WFL - SG$$

De acuerdo al método continuo (Azuara *et al.*, 1998), al graficar t/ML vs t , se obtiene una línea recta con pendiente p e intersección b , de donde se obtienen las siguientes ecuaciones:

$$WFL_{\infty} = \frac{(1/p)}{[1 - (\frac{SG}{WFL})_m]}$$

$$SG_{\infty} = \frac{1/p}{[(\frac{WFL}{SG})_m - 1]}$$

$$S_1 = \frac{(1/b)}{WFL_{\infty} [1 - (\frac{SG}{WFL})_m]}$$

$$S_2 = \frac{1/b}{SG_{\infty} [(\frac{WFL}{SG})_m - 1]}$$

Donde WFL= peso de agua perdida por el alimento al tiempo t , SG = peso de solidos ganados por el alimento al tiempo t , M_0 = peso inicial del alimento al tiempo 0, M_t = peso del alimento al tiempo t , X_0 = humedad inicial del alimento (base húmeda), X_f = humedad final del alimento (base húmeda) al tiempo t .

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La materia prima utilizada fue caracterizada en su estado natural, con la finalidad de conocer sus características funcionales reales, en la Tabla 1 se reportan las principales características de la miel utilizada como solución de impregnación.

Tabla 1. Caracterización fisicoquímica obtenida en el laboratorio para la miel multiflores

Características	Valor
°Brix	69
Color	
Luminosidad	5.23-5.37
Cromaticidad	10.72
Angulo de matiz	57.067
Viscosidad [cp]	6720
Polifenoles totales [mg de equivalentes de ácido gálico.g ⁻¹]	325
Vitamina C [mg de ácido ascórbico.g ⁻¹]	0.336
Flavonoides [mg de equivalentes de catequina.g ⁻¹]	0.56
Azucares reductores [g.L ⁻¹]	61.2

Tratamiento con vapor en cáscara de naranja para eliminar el sabor amargo. A pesar de que el tratamiento con vapor fue relativamente prolongado (1h), la composición de la cáscara no fue afectada significativamente en grupos polifenólicos principalmente (Tabla 2), y fue posible solubilizar los metabolitos encargados del sabor amargo presente en la corteza cítrica, esto último se puede apreciar en los valores para el grupo de flavonoides, que disminuyen hasta un 84% después del tratamiento con vapor. La pérdida de un porcentaje del peso de la cáscara de naranja fresca se relaciona con los datos de densidad aparente, la cual pasa de 0.9 g/cm³ a 0.254 g/cm³, lo cual denota no sólo una pérdida de humedad, sino también de algunos de sus solutos.

Tabla 2. Caracterización de cáscara de naranja fresca y cáscara después del tratamiento de vapor sobre la cáscara

Característica	Valor en cáscara fresca (b.h)	Valor en cáscara con vapor (b.h)
Azúcares Totales [mg equivalentes de glucosa.g ⁻¹]	193.37	39.3
Sólidos solubles totales	2.33 °Brix	2 ° Brix
Humedad	65.9%	39.3%
Acidez titulable [g de ácido cítrico.g ⁻¹]	0.448	0.224
pH	4.93	4.026
Densidad aparente [g.cm ⁻³]	0.90	0.254
Vitamina C [mg ácido ascórbico.g ⁻¹]	1.128	5.55
Polifenoles totales [mg equivalentes de ácido gálico.g ⁻¹]	142.25	137.75
Flavonoides [mg equivalentes de catequina.g ⁻¹]	24.32	3.94
Actividad antioxidante [mg equivalentes trolox.g ⁻¹]	2.092	0.938
Fibra insoluble [g.g ⁻¹]	0.022	0.020

Por otra parte, la estructura aparente de la cáscara de naranja si sufre cambios, pues pierde aproximadamente el 25% de su peso después del tratamiento con vapor y su color es visiblemente afectado (Figura 1).

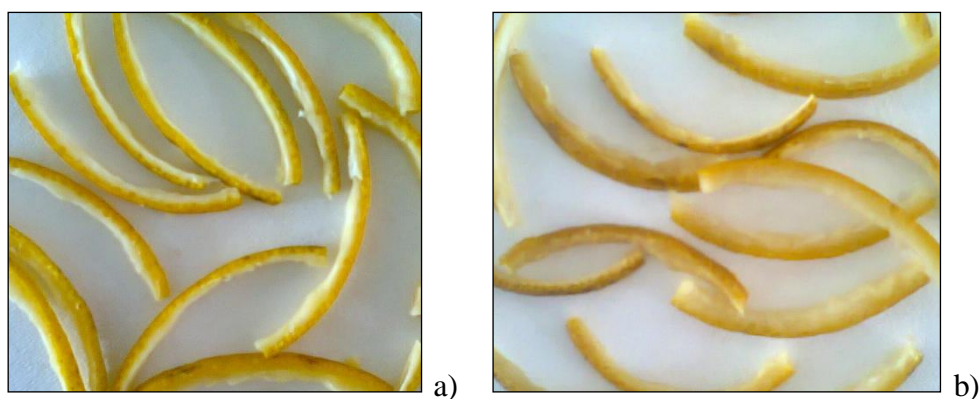


Figura 1. Cáscara de naranja fresca (a) y después del tratamiento de vapor (b)

Cinéticas de osmodeshidratación. La cáscara de naranja fue impregnada con una solución de miel pura a 35 y 45°C, las cinéticas de pérdida de agua y ganancia de sólidos para ambas temperaturas denotan un claro efecto de la temperatura en el proceso. El proceso realizado a 45°C resultó ser el que obtuvo una mejor impregnación, pues la pérdida de humedad (WFL) fue superior en un 39% al proceso con 35 °C y en cuanto a la ganancia de sólidos (SG) fue superior en un 27.4%.

Evaluación de la composición de la cáscara impregnada a 35 y 45 °C. Después del proceso de osmodeshidratación, la muestra se evaluó en cuanto a parámetros de composición funcional y sensorial (sabor, olor, apariencia). En la Tabla 2 se presentan los datos de la composición para los procesos de impregnación a 35 y 45°C. Se observa que las muestras impregnadas a ambas temperaturas elevaron su densidad aparente después de la impregnación con miel, aunque en todos los casos disminuyó después del proceso en la estufa. Los grupos más afectados en comparación con la cantidad presente en la cáscara fresca son los flavonoides, lo cual es favorable en este caso, pues la muestra no conserva su sabor amargo inicial. Finalmente aunque el proceso de secado afecta la cantidad presente de algunos compuestos funcionales, obtiene un producto con una actividad de agua de 0.408 a 0.447, estos últimos datos son menores a los obtenidos por Restrepo *et al.*, (2012), quienes logran un producto con una $a_w=0.96$.

Parámetro de composición	Impregnación a 35 °C		Impregnación a 45 °C	
	Cáscara impregnada (b.h)	Cáscara impregnada con 24 h de secado	Cáscara impregnada (b.h)	Cáscara impregnada con 24 h de secado
Azúcares Totales [mg equivalentes de glucosa.g ⁻¹]	841.5	735	888.6	924.35
Sólidos solubles totales	10 °Brix	12 °Brix	12 °Brix	11 °Brix
Humedad	0.303 (30.3%)	0.071 (7.1%)	0.219 (21.9%)	0.016 (1.6%)
Acidez titulable	0.480 g. g ⁻¹	0.64 g. g ⁻¹	0.45	0.48
pH	4.694	4.089	4.226	4.215
Densidad aparente [g. cm ⁻³]	0.613	0.419	1.33	0.966
Vitamina C [mg ácido ascórbico.g ⁻¹]	3.838	2.7	3.546	4.067
Polifenoles totales [mg equivalentes de ácido gálico. g ⁻¹]	207	207.27	300.00	300.00
Flavonoides [mg equivalentes de catequina. g ⁻¹]	2.98	3.62	1.159	1.50
Capacidad antioxidante total [mg equivalentes trolox. g ⁻¹]	1.137	1.737	3.716	3.8
Fibra insoluble [g.g ⁻¹]	0.021	0.020	0.018	0.018
a _w	0.728	0.408	0.743	0.447

CONCLUSIONES

La impregnación de cáscara de naranja con una solución natural como la miel es viable pues los resultados demuestran que es posible obtener un alimento funcional conservando un porcentaje significativo de su composición original, así como cualidades organolépticas aceptables al final de todo el proceso. Por otra parte, el uso de las cáscara como matriz alimentaria, permite a la agroindustria de este ramo encontrar una solución práctica para el uso de este tipo de residuos que impacte positivamente al ambiente y no genere mayor costo económico.

BIBLIOGRAFÍA

AOAC. 1999. Association of Official Agricultural Chemists. Official Methods of Analysis. 16th ed. Association of Analytical Chemist. Washington D.C. 1141p.

Azuara E., Berinstain C. I. y Gutierrez G. F. 1998. A method for continuous kinetic evaluation of osmotic dehydration. *Lebensmittel-Wissenschaft Technologie*. 31:317-321

Azuara E., Beristain C. I. y García H. S. 1992^a. Development of a mathematical model to predict kinetics of osmotic dehydration. *Journal of Food Science and Technology*. 29(4):239-242.

Benzie, I. and Strain, J.J. 1996. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a measure of “Antioxidant Power”: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*. 239:70-76.

Brand-Williams, W., Cuelier, M., and Berset, M.E. 1995. Use of free radical method to evaluated antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft Technologie*. 28:25-30.

Fito, P. Chiralt, A. Barat, J. Andrés, A. Martinez, J. Martinez, N. 2001. Vacuum impregnation for development of new dehydrated products. *Journal of Food Engineering*, 49: 297-302.

Restrepo, A., Arredondo, A., Morales, C., Tamayo, M., Benavides, Y., Bedoya, V., & Vélez C. 2012. Aplicación de la técnica de impregnación a vacío en el desarrollo de cáscaras de naranja mínimamente procesadas fortificadas con potasio, sodio y vitaminas B1, B6 y B9. *J. Eng. Technol.* Vol.1, N°1.

Shizen J., Mengcheng T y Jianming W. 1999. The determination of flavonoids content in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry* 64: 555-559.

Singleton, V.L., and Rossi, J.A. 1965. Colorimetry of total phenolic with phosphomolybde-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*. 16(5): 144-158.

ESTUDIO DE LA ESTABILIDAD DE ZUMO DE CAPULÍN (*ARDISSIA COMPRESA*) ENRIQUECIDO CON MALTODEXTRINA.

Maríe Azuara Mora¹, Maribel Jiménez Fernández¹, César Ignacio Beristain Guevara¹, Albert Ibarz Ribas² y Ebner Azuara Nieto¹

¹Instituto de Ciencias Básicas de la Universidad Veracruzana, Calle Dr. Rafael Sánchez Altamirano S/N, Colonia Industrial Animas, Xalapa, Veracruz, México. Código Postal 91192, Tel. (228) 841 89 00 Ext. 13167, eazuara@uv.mx.

²Departament de Tecnologia d'Aliments, Universitat de Lleida., Av. Rovira Roure, 191, 25198 Lleida, España

INTRODUCCIÓN

El capulín (*Ardisia compressa*) es un fruto rojizo rico en antocianinas y nutrientes, originario de México y Latinoamérica. Este fruto contiene propiedades funcionales y medicinales que ayudan a combatir distintas enfermedades (Vázquez *et al.*, 1999). Para la elaboración de una bebida funcional, es importante mantener la estabilidad física, química y microbiológica de la bebida a través del tiempo, por lo tanto es necesario utilizar tecnologías que sean capaces de eliminar los microorganismos patógenos sin producir una degradación considerable de los nutrientes y las sustancias funcionales. El ultrasonido aplicado por tiempos cortos con temperaturas menores o iguales a 55°C, destruye los microorganismos conservando a la vez altas concentraciones de nutrientes y sustancias funcionales (Tiwari *et al.*, 2008a). Sin embargo, aunque obtengamos un zumo con estabilidad microbiológica y alto contenido de nutrientes, para conservar éstos nutrientes por períodos prolongados es necesario almacenarlo a temperaturas bajas (4 - 8°C), lo que resulta en un incremento considerable del costo del proceso. Recientemente, en el Instituto de Ciencias Básicas se ha desarrollado una técnica novedosa para minimizar la degradación de nutrientes y sustancias funcionales durante el almacenamiento de alimentos líquidos a 25°C. Esta técnica consiste en la adición de diferentes concentraciones de biopolímeros al alimento líquido que se desea proteger, en especial se han obtenido muy buenos resultados con la maltodextrina de 10DE (Azuara-Mora *et al.*, 2012).

Actualmente es complicado conservar las propiedades nutricionales y funcionales de los zumos de frutas, ya que durante el procesamiento y almacenamiento de estos productos, sustancias como las antocianinas, la vitamina C y otros nutrientes, se degradan fácilmente. Generalmente para que los jugos sean aceptables microbiológicamente se someten a tratamientos térmicos como la pasteurización, que debido a las altas temperaturas del procesamiento producen mayor degradación de nutrientes y sustancias funcionales, y muchas

veces modifican también sus características sensoriales. Además, durante el almacenamiento de los zumos de frutas a temperaturas mayores de 8°C, la pérdida de sustancias nutritivas y funcionales es considerable.

Con el fin de ofrecer una solución a este problema, el objetivo de este trabajo fue inhibir el crecimiento microbiano y conservar una mayor concentración de nutrientes procesando la bebida de capulín con ultrasonido y adicionando maltodextrina de 10 DE al producto, para disminuir la velocidad de degradación de las antocianinas durante el almacenamiento. Hasta ahora no se han realizado estudios con biopolímeros para evitar la degradación de propiedades nutricionales y funcionales, ni se ha encontrado un método que conserve de manera natural los zumos a temperatura ambiente sin que ocurra una degradación considerable de los nutrientes. Esta tecnología es de gran utilidad para México y otros países, donde los zumos de frutas se ofrecen al público en supermercados durante varios meses a temperatura ambiente.

METODOLOGÍA

Selección de la materia prima. Se realizó la selección del fruto de capulín *Ardisia compressa* durante los meses de abril a julio del año 2012 en las ciudad de San Andrés Tuxtla, Veracruz.

Elaboración de la bebida. Se prepararon diferentes formulaciones de la bebida variando la concentración de maltodextrina (0, 4, 8, 10, 12 y 15%), con la misma cantidad de zumo, agua y jarabe de Agave Azul como endulzante. El zumo recién exprimido se extrajo por medio de un procesador de alimentos Oster, posteriormente fue filtrado y se centrifugó por 20 minutos a 4000 RPM y 5°C, para eliminar los sólidos suspendidos.

Procesamiento de la bebida con Ultrasonido. De acuerdo con lo reportado por Tiwari *et al.* (2009b) y haciendo algunas modificaciones, se utilizó un equipo de ultrasonido Branson Ultrasonic Corporation, Modelo 250 D, de 20 kHz y 1500 W, a una amplitud de 70% y temperatura de 55°C por 30 minutos, con pulsos de 5 s encendido y 5 s apagado, como tratamiento para eliminar la carga microbiana del zumo y conservar una mayor concentración de antocianinas.

Almacenamiento. Las distintas formulaciones realizadas con variación de la concentración de maltodextrina (0, 4, 8,10,12 y 15%) fueron almacenadas a 3 temperaturas (8, 15 y 25°C) durante 21 días.

Determinación de color. El color se midió a través de los parámetros a^* (verde-rojo), b^* (azul-amarillo) y L^* (intensidad y brillantez) en la escala de “Colorimeter color” con un colorímetro ColorFlex V1-72 SNHCX 1115 s/n: Cx 1115 Hunter Lab (Tiwari et al., 2008b).

Determinación de pH. Se utilizó un potenciómetro HANNA Instruments Modelo pH211 que se calibró con buffer pH 4 y pH 7.

Determinación de antocianinas. De acuerdo a la técnica de Wrolstad *et al.*, (1982), se prepararon los reactivos necesarios: buffer de Cloruro de potasio 0.025 M pH 1 y buffer de acetato de sodio 0.4 M pH 4.5. Se determinó el factor de dilución de la muestra realizando un barrido de 200 a 700 nm de longitud de onda en un espectrofotómetro UV-Vis Varian, Modelo Cary 100 Conc. Una vez determinado el factor de dilución se prepararon las muestras agregando 5 mL de buffer de pH1 o pH 4.5 y 0.1 mL de la muestra. Posteriormente, las muestras se mantuvieron en reposo durante 15 min y se leyó la absorbancia a 510 y 700 nm cada una.

Grados Brix .Se utilizó un refractómetro ATAGO Modelo NART-1T que se calibró con agua destilada verificando que el índice de refracción fuera de 1.333. Se tomó la lectura de los grados Brix con una gota de la bebida de capulín.

Determinación de Mesofílicos aerobios. Se hizo la determinación de mesofílicos aerobios según lo indicado en la NOM-092-SSA1-1994. Se utilizó el agar nutritivo que se preparó de acuerdo a las instrucciones del fabricante, se incubó a $37^{\circ}\text{C}\pm 2$ durante 24 h y se realizó la lectura.

Determinación de Mohos y levaduras. Se determinó según lo indicado en la NOM-111-SSA1-1994. Se utilizó agar dextrosa papa que se preparó según las especificaciones del fabricante, se incubó a temperatura ambiente durante 72 h y se observó si había crecimiento.

Determinación de los tiempos de relajación (T2). La determinación de los tiempos de relajación T2 (spin-spin) para el agua del zumo de capulín, fue hecha con el equipo RMN mq20 Bruker minispec. Cada medida fue llevada a cabo estableciendo 100 puntos, un pulso de separación de 2.6 ms, un eco silencioso de 4 repeticiones y cuatro escaneos a una temperatura de 25°C . Cada muestra de zumo fue puesta en tubos de vidrio de 10 mm de diámetro, cubriendo 4 cm de altura con la bebida de capulín. Las mediciones se realizaron por triplicado.

Compensación entalpía-entropía. La energía de activación (E_a en J/mol) fue calculada a partir de la ecuación de Arrhenius: $\ln k = \ln k_0 - \frac{E_a}{RT}$, cada E_a y k_0 fueron calculadas con las constantes cinéticas de degradación de antocianinas y tres temperaturas. La temperatura

isocinética (T_B) puede ser estimada por una ecuación termodinámica basada en la teoría del estado de transición expresada como: $\ln k - \ln\left(\frac{k_b T}{H}\right) = \frac{\Delta S}{R} - \frac{\Delta H}{RT}$. La compensación entalpía entropía puede ser establecida con la siguiente ecuación, de la cual la temperatura isocinética es calculada: $\Delta H = T_B \Delta S - \Delta G_B$

Evaluación sensorial. Se realizó en la Universidad Veracruzana, Facultad de Ingeniería y Ciencias Químicas de la ciudad de Xalapa, Veracruz con un total de 50 jueces no entrenados utilizando una escala hedónica de nueve puntos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

La figura 1 describe los valores de las constantes cinéticas de primer orden en función de la concentración de la maltodextrina, a 25°C. Cuando incrementa la concentración de maltodextrina, la constante cinética de primer orden disminuye hasta alcanzar un mínimo en la concentración del 10%, punto de máximo efecto protector. La existencia de un valor óptimo para la concentración de maltodextrina, sugiere un mecanismo protector en el cuál las primeras moléculas de maltodextrina interactúan con moléculas de agua en el zumo para proteger las antocianinas contra reacciones de degradación. Sin embargo, para concentraciones mayores a 10%, el aumento de la viscosidad del zumo favorece una nueva interacción entre las moléculas de maltodextrina, las cuales generan efectos estéricos y sedimentación de moléculas de maltodextrina que disminuyen el rol protector de este biopolímero sobre las antocianinas.

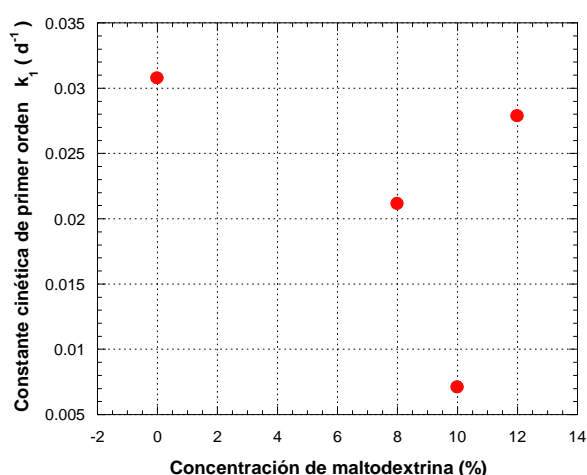


Figura 1. Constantes cinéticas a 25°C en función de la concentración de maltodextrina.

En la figura 2 se aprecia la compensación entalpía-entropía para la degradación de antocianinas. Se observan 2 rectas de compensación, una con temperatura isocinética $T_{B1} =$

272.81 K y la otra con $T_{B2} = 123.63$ K. Tomando en cuenta las temperaturas de almacenamiento estudiadas (8, 15 y 25°C), la temperatura media armónica es $T_{hm} = 289.9$ K. De acuerdo a Leffler (1955) si $T_B > T_{hm}$, la reacción es controlada por la entalpía (por interacciones energéticas entre las moléculas); pero si $T_B < T_{hm}$ la reacción es controlada por la entropía (por barreras físicas provocadas por efectos estéricos de moléculas de alto peso molecular). Lo anterior indica que la degradación de las antocianinas cuando adicionamos maltodextrina es controlada por la entropía (T_{B1}), pero después de alcanzar una concentración óptima de maltodextrina, la interacción entre las moléculas del biopolímero propician el inicio de la sedimentación que también es un proceso controlado por la entropía y está relacionado con la segunda recta de compensación (T_{B2}).

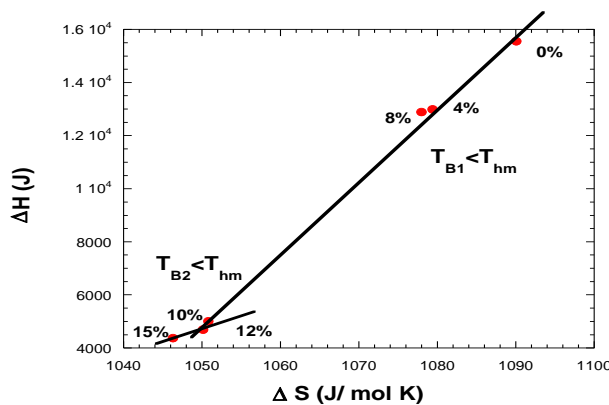


Figura 2. Compensación entalpía-entropía.

Efecto de la maltodextrina en los cambios de color del zumo de capulín. Otro parámetro de calidad para el zumo es el color, algunos cambios en este parámetro durante el almacenamiento pueden ser relacionados con la actividad enzimática. En la figura 3 se muestran los cambios de la diferencia total de color (ΔE) para todas las muestras de zumo de capulín. Como se puede observar, el color del zumo de capulín fue protegido por la adición de maltodextrina, mostrando bajos valores de ΔE para la concentración de 10%.

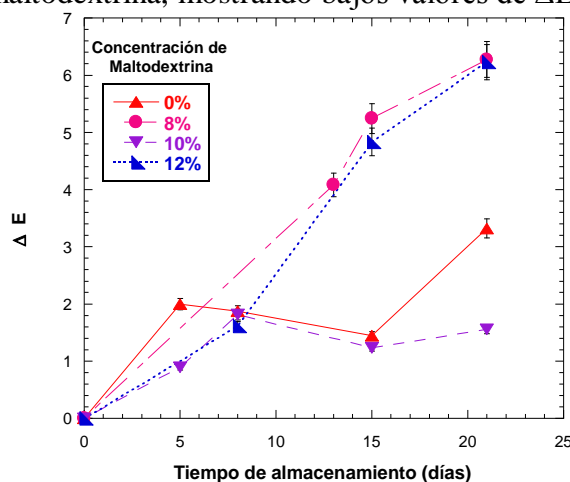


Figura 3. Cambios en la diferencia total de color del zumo de capulín durante el almacenamiento.

Comportamiento de los tiempos de relajación (T_2) en la bebida de capulín con y sin maltodextrina. Con el fin de adquirir más información para explicar el mecanismo protector inducido por la maltodextrina, fueron medidos durante el almacenamiento los tiempos de relajación transversal T_2 (spin-spin). La adición de maltodextrina al zumo de capulín disminuyó los tiempos de relajación transversal T_2 de las moléculas de agua (Figura 4). Además, los tiempos de relajación T_2 para las moléculas de agua en el zumo con 10% de maltodextrina fueron casi constantes durante los 21 días de almacenamiento, sugiriendo una alta estabilidad para este sistema líquido.

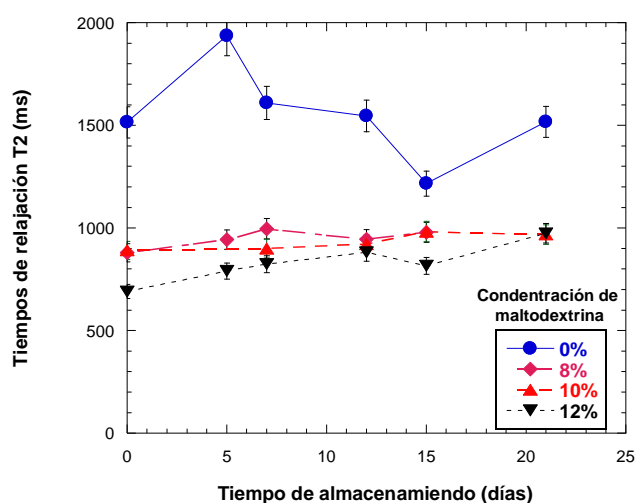
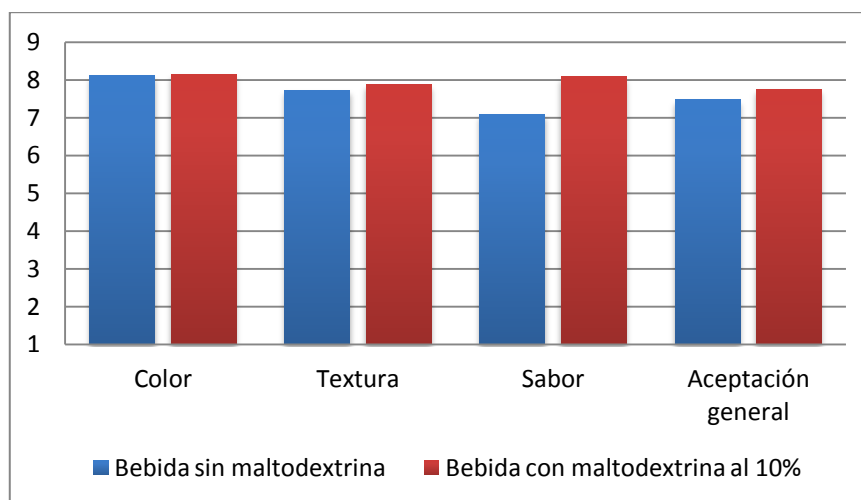


Figura 4. Variación de los tiempos de relajación T_2 en zumo de capulín con diferentes concentraciones de maltodextrina.

Análisis sensorial.



El sabor de la bebida con 10% de maltodextrina tuvo una calificación promedio de 8.0 que corresponde en la escala hedónica a “me gusta mucho”, pero el sabor de la bebida sin maltodextrina fue de menor agrado obteniendo un promedio de 7.0 correspondiente a “me gusta moderadamente”.

CONCLUSIONES

La adición de maltodextrina 10 DE al zumo de capulín promovió la retención de antocianinas en este producto durante el almacenamiento. Probablemente el mecanismo protector es una consecuencia de la baja movilidad de las moléculas de agua producida por la interacción entre el biopolímero, agua y antocianinas. El incremento de la temperatura de almacenamiento elevó considerablemente la degradación de las antocianinas del zumo de capulín sin maltodextrina. Sin embargo, en el zumo con maltodextrina la temperatura de almacenamiento tuvo un efecto moderado.

BIBLIOGRAFÍA

- Aguerre, R.J.; Suarez, C.; Viollaz, P.E. Enthalpy-entropy compensation sorption phenomena: Application to the prediction of the effect of temperature on food isotherms. *Journal of Food Science* 1986, 51 (6), 1547–1549.
- Azuara-Mora, M., Jiménez, M., Beristain C.I., Azuara E. (2012). “Effect of temperature and maltodextrin addition on the anthocyanins stability during storage of capulin juice”, 5th International Congress of Food Science and Food Biotechnology in Developing Countries., Nuevo Vallarta, Nayarit, Octubre 24-26, 2012. Proceedings editados por la Asociación Mexicana de Ciencias de los Alimentos A.C., ISBN: 978-607-95455-2-9.
- Cemeroglu, B., Velioglu, S., and Isik, S. (1994). Degradation kinetics of anthocyanins in sour cherry juice and concentrate. *Journal of Food Science*, 59(6): 1216–1218.
- Garzón, G. A. and Wrolstad, R. E. (2002). Comparison of the stability of pelargonidin-based anthocyanins in strawberry juice and concentrate. *Journal of Food Science*, 67(5): 1288–1299.
- Tiwari, B. K., O'Donnell, C. P., Patras, A., and Cullen, P. J. (2008a). Anthocyanin and ascorbic acid degradation in sonicated strawberry juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56:(21): 10071-10077.
- Tiwari, B.K., Muthukumarappan, K., O'Donell, C., y Cullen, P. (2008b). Effects of sonication on the kinetics of orange juice quality parameter. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(7): 2423-2327.
- Tiwari, B.K., O'Donell P., Cullen, P.J. (2009b). Effect of non thermal processing technologies on the anthocyanin content of fruit juices. *Trends in Food Science & Technology*, 20: 137–214.
- Wrolstad, R., Culberston, J., Cornwell C., Mattick, L. (1982). Detection of adulteration in blackberry juice concentrate and wines, *Journal of Analytical Chemistry*, 65, 1417-1423.

CAPACIDAD ANTIMICROBIANA DE SUBPRODUCTOS CÍTRICOS DE LIMÓN, NARANJA Y MANDARINA FRENTE A *SALMONELLA* TYPHIMURIUM

Maria Sanz-Puig¹, Esteban Picón-Foronda¹, María Consuelo Pina-Pérez¹, Clara Miracle Belda-Galbis¹, Dolores Rodrigo¹, Antonio Martínez-López¹

¹ Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA-CSIC), Avda. Agustín Escardino 7, 46980, Paterna, València, España.

INTRODUCCIÓN

La industria agroalimentaria supone el 8% del PIB español, lo que la convierte en el primer sector industrial de la economía española y el quinto de Europa (INE, 2011). Fruto de su intensa actividad productiva, las industrias agroalimentarias de frutas y verduras generan una gran cantidad de residuos orgánicos, que deriva en importantes pérdidas económicas y medioambientales. Los subproductos agroindustriales presentan, sin embargo, un amplio potencial de aprovechamiento que debe ser rentabilizado de manera eficiente (Arvanitoyannis y Varzakas, 2008).

En la actualidad, gran número de empresas y grupos de investigación tratan de obtener un rendimiento a estos subproductos y reducir la generación de residuos contaminantes (Martín-Luengo et al, 2011). Entre las principales vías de aprovechamiento de dichos subproductos vegetales destaca su uso como: (i) bioadsorbentes durante la etapa de pre-tratamiento de aguas residuales; (ii) agentes fitoquímicos en agricultura; (iii) alimentación directa del ganado o fabricación de piensos; (iv) utilización en la industria del papel por su alto contenido en celulosa; (v) fabricación de biocombustibles; y recientemente, (vi) aislamiento de ingredientes funcionales y, (vii) obtención de alimentos con un valor nutricional añadido (Gracia, 2004).

La posible integración de los subproductos de la industria agroalimentaria como ingredientes en nuevas formulaciones de alimentos supondría además, la posibilidad de obtener nuevos productos alimenticios que logren satisfacer las necesidades actuales de los consumidores, que son cada vez más conscientes de la relación existente entre una alimentación saludable y una mejora de la calidad de vida (Aruoma et al, 2012) y, por ello, se buscan alimentos frescos o mínimamente procesados sin adicción de aditivos químicos.

Diversos estudios profundizan en el valor funcional de los compuestos fitoquímicos presentes en vegetales y frutas. En este sentido, los subproductos agroindustriales son también fuente de compuestos bioactivos de gran importancia para la dieta humana. Este es el

caso de las frutas cítricas, ricas en fibra, vitaminas, minerales, carotenoides y flavonoides. (Iguar et al, 2013).

Se ha demostrado una significativa reducción del riesgo de desarrollo de enfermedades crónicas, como cáncer, enfermedades cardiovasculares, diabetes y Alzheimer, asociada al consumo de frutas y vegetales (Ladaniya M.S., 2008). Además, algunos estudios atribuyen propiedades antimicrobianas, bacteriostáticas y/o bactericidas a los aceites esenciales presentes en las frutas (Dembitsky et al, 2012). Este hecho, unido al interés de las industrias (Saucedo-Reyes et al, 2009) en satisfacer a un consumidor informado, preocupado por la salud y el consumo de alimentos saludables y fáciles de preparar, conducen a focalizar esfuerzos en investigar el posible uso de compuestos naturales “ingredientes”, que, además de presentar cierto carácter funcional o incrementar la calidad organoléptica del producto, aporten un carácter antimicrobiano a la matriz alimentaria (Kneafsey et al, 2013), cumpliendo así con los objetivos de calidad y seguridad alimentaria establecidos por la FAO/OMS.

En este contexto, se plantea como objetivo del presente estudio, determinar la capacidad antimicrobiana de subproductos cítricos de limón, naranja, y mandarina procedentes de la industria de procesamiento de zumos, frente al patógeno *Salmonella enterica* serovar Typhimurium, a diferentes concentraciones de subproducto y temperaturas de incubación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Microorganismo

A partir un líofilo de *S. Typhimurium* CECT 443, proporcionado por la Colección Española de Cultivos Tipo, se obtuvieron múltiples viales en fase estacionaria, siguiéndose el procedimiento descrito por Pina-Pérez et al, (2012), los cuales se almacenaron a una temperatura de -80 °C hasta su utilización en el laboratorio. Su concentración celular promedio se determinó por recuento de viables en Agar Triptona Soja (TSA; Scharlab S.L., España). El valor obtenido a partir de cuatro muestras fue de $7,60 \times 10^9$ ufc/mL.

Subproductos cítricos

Los subproductos cítricos procedentes de la piel de limón, mandarina y naranja fueron proporcionados en polvo por una empresa externa productora de zumos.

Evaluación de la capacidad antimicrobiana

La evaluación del potencial antimicrobiano atribuible a los subproductos cítricos en estudio se llevó a cabo utilizando como medio de referencia, agua de peptona tamponada

(Buffered peptone water, BPW) (Scharlab, S.A., Barcelona, España) al 1 ‰ (p/v) (Oyarzabal et al, 2007).

Los subproductos cítricos se adicionaron al sustrato de referencia en concentraciones de 0.5, 1, 5 y 10 ‰ (p/v), y se inocularon con 10^8 ufc/mL de *S. Typhimurium*. Dichas muestras fueron incubadas a 5, 10 y 22 °C, obteniendo curvas de evolución de la carga microbiana (ufc/mL) mediante el recuento en placas de TSA (Scharlab S.L., España) a intervalos de tiempo regulares durante el tiempo de almacenamiento: 96 horas para 5 y 10 °C y 24 horas para 22 °C.

La capacidad antimicrobiana de los subproductos en estudio se evaluó en términos de reducción/crecimiento ($\log(N_f/N_0)$) de la población inicial con el tiempo de almacenamiento, siendo N_0 (ufc/mL) el recuento inicial de microorganismos, y N_f (ufc/mL) el número final de microorganismos a cada tiempo t (h), bajo las condiciones en estudio: concentración de subproducto [0-10] ‰ (p/v) y temperatura de incubación 5, 10, y 22 °C.

Análisis Estadístico de Resultados

Empleando el programa Statgraphics® Centurion XV (StatPoint Technologies Inc., USA) se realizaron análisis de la varianza (ANOVA) de los resultados obtenidos con el fin de evaluar la influencia significativa de cada uno de los factores analizados sobre la concentración celular inicial de microorganismo.

Posteriormente, se construyeron gráficos de barras para representar los resultados obtenidos empleando el software Microsoft Office Excel ® 2010 (Microsoft ® Corporation, USA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la gráfica 1, se muestran los niveles de inactivación ($\log(N_f/N_0)$) de *S. Typhimurium*, alcanzados a las diferentes temperaturas de incubación (5, 10 y 22°C) y concentraciones en estudio (0, 0.5, 1, 5 y 10% (p/v)) de los subproductos de limón, mandarina y naranja, tras los tiempos de incubación correspondientes en cada caso.

Según los resultados obtenidos, para todos los subproductos estudiados, tanto la temperatura de incubación como la concentración de subproducto adicionada al medio, influyen significativamente ($p \leq 0.05$) en la capacidad antimicrobiana observada. A mayor concentración de subproducto se produce una mayor inhibición del crecimiento del microorganismo, para todas las temperaturas estudiadas. La adición de un 10% (p/v) de subproducto produce, en general, el mayor efecto antimicrobiano sobre la población de *S.*

S. Typhimurium, aunque no existen diferencias significativas entre las concentraciones de 5 y 10%.

En cuanto al efecto de la temperatura, a 5 °C se observa la inhibición del crecimiento de *S. Typhimurium* incluso en ausencia de subproducto (Mañas et al, 2003). Sin embargo, a esta temperatura, la adición del subproducto de naranja y mandarina ejerce un claro efecto bactericida sobre el microorganismo, llegando a inactivar un máximo de 8 ciclos logarítmicos en el caso del subproducto de mandarina.

A 10°C, temperatura de cierto abuso de refrigeración, la adición del subproducto de limón inhibe el crecimiento del microorganismo, mientras que los subproductos de naranja y mandarina presentan de nuevo un carácter bactericida, inactivando 8 ciclos logarítmicos aproximadamente en el caso de mandarina. En ausencia de refrigeración (22 °C), se observa crecimiento de *S. Typhimurium*, en cambio, la adición de cualquiera de los subproductos cítricos estudiados en un 5 o un 10 % inhibe el crecimiento de dicho microorganismo.

Es en el caso de temperaturas de ligero abuso de refrigeración (10 °C) o de ruptura absoluta de la cadena de frío (22 °C) donde resulta más interesante la acción de los subproductos cítricos, ya que actúan como medida adicional de control del crecimiento de *S. Typhimurium*.

La sensibilidad de los microorganismos estudiados a los subproductos cítricos es debida a diversos factores, entre los que destacan la temperatura, el pH (Gabriel y Nakano, 2010), la composición del subproducto (Bajpai, 2012), y la propia especie microbiana. *S. Typhimurium* pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*, y es un microorganismo mesófilo, con temperatura óptima 37 °C, (Olaimat y Holley, 2012), por este motivo el crecimiento microbiano es limitado a las temperaturas de refrigeración y de abuso de refrigeración, observándose un efecto sinérgico temperatura-concentración de mandarina en lo que respecta a la reducción de la población microbiana a 5 y 10 °C (Alali et al 2012). En general, el pH es un factor de control destacable en alimentos ácidos ya que inhibe el transporte celular y la actividad enzimática de los microorganismos. La tabla 1 muestra los valores de pH medidos para los subproductos estudiados para las concentraciones 5 y 10% en agua de peptona. Como puede observarse, el subproducto de limón es aquel que presenta un menor valor de pH, sin embargo es la mandarina el subproducto frente al que los microorganismos en estudio muestran la mayor sensibilidad, por lo que se podría concluir que el pH no es el factor más condicionante en cuanto a definir la capacidad antimicrobiana de los subproductos incluidos en el presente estudio.

Posiblemente el efecto que más condiciona las propiedades antimicrobianas de los subproductos sea la propia composición de los mismos. En este sentido, son muchos los estudios que destacan la capacidad antimicrobiana de los compuestos terpénicos y flavonoides presentes en frutas cítricas (Espina et al, 2011). Se trata de compuestos localizados mayoritariamente en la piel y semillas de las frutas y su composición es variable dependiendo de la variedad. Son compuestos lipídicos aromáticos que, además, poseen propiedades antimicrobianas de interés para la industria alimentaria y farmacéutica (Sobrino-López et al, 2006). Dichas propiedades antimicrobianas, han sido testadas tanto frente a bacterias Gram-positivas como Gram-negativas siendo especialmente eficaces frente a las Gram negativas, como es el caso *S. Typhimurium* (Raybaudi-Massilia et al, 2009).

Aunque, hasta la fecha, el mecanismo responsable de la actividad antimicrobiana de los terpenos y los flavonoides no está totalmente claro, la hipótesis generalmente establecida afirma que los componentes hidrófobos de los aceites esenciales tienen capacidad para romper los componentes lipídicos de la membrana y las mitocondrias de las bacterias por lo que se ocasiona la liberación del contenido celular (Trípoli et al, 2007). Entre las principales condiciones que favorecen estas acciones se encuentran la baja temperatura y el bajo pH (Burt, 2004).

CONCLUSIONES

Este trabajo ha estado centrado en el aprovechamiento de subproductos de frutas cítricas de gran consumo; naranja, limón y mandarina, como posibles ingredientes naturales con propiedades antimicrobianas, lo que reduciría los problemas medioambientales de las empresas productoras, considerando su carácter orgánico y difícil degradabilidad.

Los resultados obtenidos demuestran que los tres subproductos cítricos poseen propiedades antimicrobianas efectivas frente a *S. Typhimurium* en las condiciones de temperatura y concentraciones ensayadas, siendo la mandarina el subproducto que mayor capacidad antimicrobiana presenta.

La adición de estos subproductos cítricos resulta de interés en el caso de productos refrigerados, en las situaciones de ligero abuso (10 °C) o de ruptura absoluta de la cadena de frío (22 °C), ya que actúan como medida adicional de control del crecimiento de los microorganismos estudiados.

BIBLIOGRAFÍA

Alali W.Q., Mann D.A, Beuchat L.R. 2012. Viability of Salmonella and Listeria monocytogenes in delicatessen salads and hummus as affected by sodium content and storage temperature. *Journal of Food Protection*, 75(6): 1043-1056.

Aruoma O.I., Stephen Coles L., Landes B., Repine J.E. 2012. Functional benefits of ergothioneine and fruit- and vegetable- derived nutraceuticals: Overview of the supplemental issue contents. *Preventive Medicine*, 54(1):S4-S8.

Arvanitoyannis S. y Varzakas H. 2008. Fruit/Fruit Juice Waste Management: Treatment Methods and Potential Uses of Treated Waste. *Waste Management for the Food Industries*:569–628.

Bajpai V.K., Kwang-Hyun B., Kang S.C. 2012. Control of Salmonella in foods by using essential oils: A review. *Food Research International*, 45: 722-734.

Burt S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: A review. *International Journal of Food Microbiology*. 94(3):223-253.

Dembitsky V.M., Poovarodom S., Leontowicz H., Leontowicz M., Vearasilp S., Trakhtengerb S., Espina L., Somolinos M., Lorán S., Conchello P., García D., Pagán R. 2011. Chemical composition of commercial citrus fruit essential oils and evaluation of their antimicrobial activity acting alone or in combined processes. *Food Control*, 22: 896-902.

Gracia R.A. 2004. Evolución de la Industria Agroalimentaria Española en las dos últimas décadas. *Economía Industria*, 355(6): 197-200.

Gabriel A. A., Nakano H. 2010. Responses of E.coli O157:H7, L. monocytogenes 1/2 c and Salmonella enteritidis to pH, aw and temperature stress combinations. *Food Control*, 21:644-650.

Igual M., García-Martínez E., Camacho M.M., Martínez-Navarrete N. 2013. Jam processing and storage effects on β -carotene and flavonoids content in grapefruit. *Journal of Functional Foods*. 5(2): 736-744.

Kneafsey M., Dowler E., Lambie-Mumford H., Inman A., Collier R. 2013. Consumers and food security: Uncertain or empowered?. *Journal of Rural Studies*. 29:101-112.

Ladaniya M.S. 2008. Nutritive and medicinal value of citrus fruits. *Citrus Fruit: Biology, Technology and Evaluation*. 501-504

Mañas P., Pagán R., Raso J., Condón S. 2003. Predicting thermal inactivation in media of different pH of Salmonella grown at different temperatures. *International Journal of Food Microbiology*, 87: 45-53.

Martin-Luengo M.A., Yates M., Diaz M., Saez Rojo E., Gonzales Gil L. 2011. Renewable fine chemicals from rice and citric subproducts: Ecomaterials. *Applied Catalysis B: Environmental*, 106(3-4):488-493.

Olaimat A.N., Holley R.A. 2012. Factors influencing the microbial safety of fresh produce: A review. *Food Microbiology*, 32: 1-19.

Oyarzabal O.A., Backert S., Nagaraj M., Miller R.S., Hussain S.K., Oyazarbal E.A. 2007. Efficacy of supplemented buffered peptone water for the isolation of Campylobacter jejuni and C. coli from broiler retail products. *Journal of Microbiological Methods*, 69(1).129-136.

Pina-Pérez M.C., Martínez-López A., Rodrigo D. 2012. Cinnamon antimicrobial effect against *Salmonella typhimurium* cells treated by pulsed electric fields (PEF) in pasteurized skim milk beverage. *Food Research International*, 48 : 777-783.

Raybaudi-Massilia R.M., Mosqueda-Melgar J., Martín-Belloso O. 2009. Antimicrobial activity of essential oils on *Salmonella Enteritidis*, *Escherichia coli*, and *Listeria innocua* in Fruit Juices. *Journal of Food Protection*, 69(7): 1579 -1586.

Saucedo-Reyes D., Marco-Celdrán A., Pina-Pérez M.C., Rodrigo D., Martínez-López A. 2009. Modeling survival of high hydrostatic pressure treated stationary-and exponential-phase *Listeria innocua* cells. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 10(2):135-141.

Sobrino-López Á., Raybaudi-Massilia R., Martín-Belloso O. 2006. High-intensity pulsed electric field variable affecting *Staphylococcus aureus* inoculated in milk. *American Dairy Science Association*, 89: 3739-3748.

Trípoli E., La Guardia M., Giammanco S., Di Majo D., Giammanco M. 2007. Citrus flavonoids:

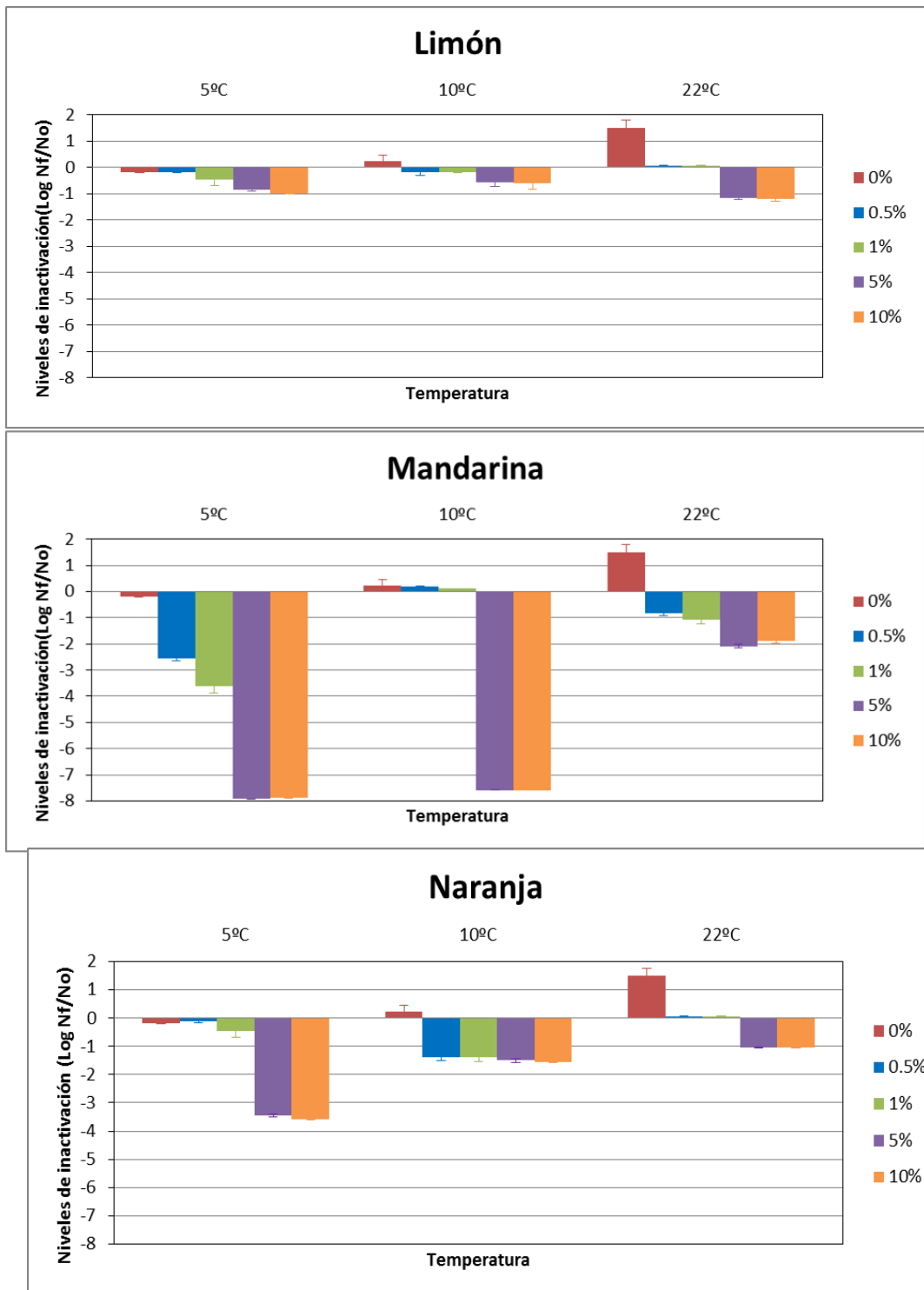
Molecular structure, biological activity and nutritional properties: A review. *Food Chemistry*, 204:466-479.

RECURSOS WEB

- http://www.ine.es/inebmenu/mnu_agricultura.htm (Consulta 22 marzo de 2013)

Tabla 1. Valores de pH de los subproductos de limón, mandarina y naranja al 5 y 10%.

	LIMÓN		MANDARINA		NARANJA	
	5%	10%	5%	10%	5%	10%
pH	3.92±0.06	4.24±	4.39±0.02	4.24±0.01	4.85±0.04	4.54±0.02



Gráfica 1. Niveles de inactivación ($\text{Log}_{10} (N_f/N_0)$) de *S. Typhimurium* a las diferentes concentraciones (0, 0.5, 1, 5 y 10 %) y temperaturas de incubación (5°C, 10°C y C 22°C) para los diferentes subproductos en estudio: limón, mandarina y naranja.

EFFECTO DE LA CEPA BIOPRESERVANTE *LACTOBACILLUS SAKEI*-B2, SOBRE PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DE UN PRODUCTO CÁRNICO COCIDO A 8 °C

Rodríguez Agudelo Natalia¹, Sotelo Díaz Luz Indira¹, Cueto María Clementina¹, González María Isabel²

¹Universidad de La Sabana, Maestría en Diseño y Gestión de Procesos

²Industria de Alimentos Zenú, Centro de Investigación y Desarrollo

INTRODUCCIÓN

Entre los principales alimentos listos para el consumo se encuentran los productos cárnicos cocidos, los cuales incluyen una amplia variedad, tales como salchichas, mortadela, jamón, etc., que son fabricados a partir emulsiones cárnicas que debido a su pH y A_w , son el medio propicio para el crecimiento de microorganismos patógenos más comúnmente transmitidos por alimentos como *Listeria monocytogenes*, *Salmonella entérica*, *Escherichia coli* O157:H7 y *Staphylococcus aureus*, (Uyttendaele *et al.*, 1999, Samelis *et al.*, 2000, Hu *et al.*, 2008). Aunque el procesamiento térmico ejerce control sobre estos microorganismos patógenos, este tipo de alimentos es susceptible a la contaminación cruzada generada durante el envasado (Hwang y Huang, 2010, Liu *et al.*, 2012).

La biopreservación es un método que busca disminuir la carga microbiana no deseada de un producto, después del proceso de cocción, por medio del uso de microorganismos con capacidad antimicrobiana y de esta manera permite prolongar su vida útil. Dentro de los microorganismos utilizados para la biopreservación de productos cárnicos cocidos se encuentran las bacterias ácido lácticas, las cuales producen metabolitos, como ácido láctico y acético, peróxido de hidrógeno, bacteriocinas, etanol, CO_2 , etc., que inhiben el crecimiento de otras bacterias, por lo general patógenos asociados a alimentos como *Listeria monocytogenes* y pueden generar cambios no deseables en las propiedades fisicoquímicas del producto (Holzapfel *et al.*, 1995, Bredholt *et al.*, 1999, 2001, Amezquita and Brashears, 2002, Vermeiren *et al.*, 2004).

Las propiedades fisicoquímicas de los productos cárnicos emulsionados cocidos, dependen principalmente de los fenómenos que a nivel estructural ejercen las proteínas en la emulsión. El uso de sales curantes como el nitrito de sodio también resultan ser de importancia sobre el color como unos de los principales factores fisicoquímicos que determinan la aceptación por el consumidor. Estos productos cárnicos cocidos tienen contenidos altos de agua, alrededor del 69% (p/p), pH cercanos a la neutralidad, y aunque su

almacenamiento y distribución se realiza a temperaturas de refrigeración, la susceptibilidad del crecimiento de bacterias que no son eliminadas durante el tiempo de cocción, contribuye a disminuir su vida útil comercial (Bredholt *et al.*, 1999, 2001, Vermeiren *et al.*, 2004, 2006). Por esta razón la biopreservación requiere especial atención en cuanto a la selección de la cepa, no sólo frente a la inactivación de microorganismos alterantes o patógenos, sino además sobre los efectos en las principales propiedades fisicoquímicas en estos productos refrigerados. Así el objetivo de esta investigación, fue determinar el efecto de una cepa biopreservante *Lactobacillus sakei* (B2), sobre las propiedades fisicoquímicas de un producto cárnico cocido y almacenado en condiciones de abuso de refrigeración a 8 °C durante 50 días, para producto control y para producto post-pasteurizado con adición y sin adición de la cepa biopreservante.

MATERIALES Y METODOS

Para este estudio, se utilizaron paquetes jamón cocido (220 g) de tres lotes diferentes producidos por una empresa Colombiana. Los cuales fueron usados para tres tratamientos (1-Producto pasteurizado + *L. sakei* (B2), 2-Producto pasteurizado y 3-Producto sin pasteurizar) y para cada tratamiento se hicieron tres ensayos independientes. El proceso de pasteurización planteado para los dos primeros tratamientos, se realizó en la Universidad de La Sabana, en un autoclave TOMY SX-700 a 65 °C por 30 minutos y fue adicional al proceso de cocción que realizó la empresa durante la producción de los lotes de jamón, este proceso de post-pasteurización tuvo como objetivo disminuir la carga microbiana inicial en el producto entregado por la empresa.

Posterior al proceso de post-pasteurización, se inoculó la cepa biopreservante B2 para el tratamiento 1, en una concentración 10^6 UFC/g. de producto y luego todos los tratamientos fueron empacados al vacío (10 mbar) y almacenados a 8 °C, durante 50 días. La evaluación se realizó en los días 0, 4, 6, 8, 11, 15, 20, 26, 29, 32, 39, 46 y 50 . Las propiedades evaluadas fueron pH, nitritos, textura, color, y sinéresis; a nivel microbiológico se realizó recuento de mesófilos totales en agar PCA para el tratamiento 2 y 3, y recuento de la cepa B2 para el tratamiento 1 en agar MRS.

El pH y el contenido de nitritos iniciales se determinó siguiendo los métodos 981.12 y 973.31 respectivamente de la (AOAC, 1990). El análisis de perfil de textura, se realizó por medio del textuómetro Texture Analyser TA.TX2 (Stable Micro Systems), y los parámetros determinados fueron: dureza, cohesividad y gomosidad (Horita *et al.*, 2011). El análisis de

color, se realizó por medio de un colorímetro Hunter Lab y se determinaron las coordenadas de CIELAB L^* , a^* y b^* (Horita *et al.*, 2011).

El porcentaje de sinéresis, se determinó siguiendo el método descrito por Vercammen *et al.*, 2011. El cual consistió en colocar las muestras en un ángulo vertical de 45° , y el porcentaje de sinéresis es expresado como el porcentaje de fluidos perdidos, como se muestra en la siguiente ecuación:

$$S = \left[\left((W_{\text{total}} - W_{\text{package}}) - W_{\text{sample}} \right) / (W_{\text{total}} - W_{\text{package}}) \right] * 100$$

Donde W_{total} : peso del empaque con la muestra y los fluidos que hayan perdido, W_{package} : promedio del peso de 50 empaques vacíos y W_{sample} : peso inicial de la muestra. Los datos se analizaron utilizando Excel® empleando un ensayo de ANOVA ($p < 0,05$), con el fin de validar los datos y verificar que no existiera diferencia significativa entre estos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A partir de estudios previos realizados a nivel de laboratorio, se determinó que la cepa B2 prolongaba la fase de latencia de *L. monocytogenes* en caldo nutritivo BHI modificado a 8°C , adicional, varios autores reportan el efecto inhibitor de *L. sakei* frente a *L. monocytogenes* en refrigeración (Bredholt *et al.*, 1999, 2001, Vermeiren *et al.*, 2004, 2006). Es así como en esta investigación se determinó el efecto de B2, sobre las propiedades fisicoquímicas de un producto cárnico cocido, como respuesta a la aspersión de la bacteria ácido láctica, sobre el producto, durante 50 días de almacenamiento a condiciones de abuso de temperatura de refrigeración. La post-pasteurización, realizada se aplicó con el fin de disminuir la carga microbiana inicial de mesófilos totales del producto, que para los tratamientos 2 y 3 fue de (10^2 UFC/g.).

La sinéresis representada como la pérdida de fluido del producto (Vercammen *et al.*, 2011, González *et al.*, 2009), evaluada al final de los 50 días de almacenamiento presentó valores de 6 ± 0.39 , 4 ± 0.24 y $2 \pm 1.08\%$ para los tratamientos 1, 2 y 3 respectivamente (Figura 2.D); siendo mayor para el tratamiento con B2. Durante los primeros 10 días de seguimiento no se encontró diferencia entre los tratamientos, sin embargo a partir del día 20 se presentan diferencias significativas entre ellos, este comportamiento está directamente relacionado con el descenso del pH, que fue más acusado para el tratamiento 1 (Figura 1B). En la textura, la dureza como principal parámetro de calidad sensorial no presentó diferencias entre los tratamientos ni en el tiempo de evaluación; a diferencia de los parámetros cohesividad y

gomosidad que mostraron diferencias significativas durante el almacenamiento (Figura 3.E; 3.F y 4.G).

La concentración de NaNO_2 se redujo a través del tiempo, siendo mayor para los tratamientos post-pasteurizados, con una tasa de reducción de -1.667, -1.118 y -1.053 ppm de NaNO_2 para los tratamientos 1, 2 y 3 respectivamente (Figura 2.C). La máxima tasa de reducción presentada por el tratamiento con B2 puede deberse a la mayor concentración de bacterias ácido lácticas reductoras de nitritos como lo explica Sobrino, (1993). A pesar de que los tratamientos 1 y 2 tuvieron una mayor tasa de reducción de nitritos, no hubo diferencias significativas entre ellos, pero como consecuencia de esta reducción se generaron cambios de color en el producto, para los tres tratamientos. Es así como las coordenadas de color a^* y b^* presentaron diferencias significativas durante el tiempo de evaluación y entre los tratamientos. La luminosidad, presentó diferencias en el tiempo de evaluación pero no entre los tratamientos. El cambio de las tres coordenadas en el tiempo, se debe principalmente a la reducción de nitritos en el producto, en mayor grado para el tratamiento con bacteria ácido láctica B2. Este mismo fenómeno se presentó en el estudio realizado por Myers *et al.*, 2013, quienes encontraron cambios en la luminosidad y la intensidad del color rojo y amarillo a medida que disminuía la concentración de NaNO_2 (Figuras 4.H, 5.I y 5.J)

CONCLUSIONES

La aplicación por aspersión de una cepa biopreservante sobre productos listos para el consumo como el jamón, puede cambiar propiedades fisicoquímicas que afectan la calidad sensorial de los productos; en esta investigación se encontró que la cepa B2 generó un aumento en la sinéresis asociada a cambios de pH; y cambios de color relacionados con la reducción de nitritos, por tal razón la aplicación industrial de cepas biopreservantes debe verificarse dependiendo la naturaleza de los productos.

BIBLIOGRAFÍA

- Amezquita, A., Brashears, M.M., 2002. Competitive inhibition of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat meat products by lactic acid bacteria. *Journal of Food Protection* 65 (2), 316–325.
- Amos, N. D., Willix, J., Chadertton, T. and North, M.F. 2008. A compilation of correlation parameters for predicting the enthalpy and thermal conductivity of solid foods within the temperature range of -40 °C to 40 °C. *International Journal of Refrigeration* 31. 1293 – 1298.

- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 1990. Official Methods of Analysis. 15th Edition. Pp 1298.
- Bredholt. S, Nesbakken. T, Holck. A. 1999. Protective cultures inhibit growth of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7 in cooked, sliced, vacuum and gas packaged meat. International Journal of Food Microbiology 53. 43 -52.
- Bredholt. S, Nesbakken. T, Holck. A. 2001. Industrial application of an antilisterial strain of *Lactobacillus sakei* as a protective culture and its effect on the sensory acceptability of cooked, sliced, vacuum-packaged meats. International Journal of Food Microbiology 66. 191-196.
- González, M., Suarez, H., Martínez, O. 2009. Análisis estructural de la carne de jamón durante el proceso de cocción y temperatura de almacenamiento. Revista MVZ Cordoba. 14 (3). 1803 – 1811.
- Holzappel. W.H, Geisen. R, Schillinger. U. 1995. Biological preservation of foods with reference to protective cultures, bacteriocinas and food-grade enzymes. International Journal of Food Microbiology 24. 343 – 362.
- Horita. C.N, Morgano. M.A, Celeghini. R.M.S, Pollonio. M.A.R. 2011. Physico-chemical and sensory properties of reduced-fat mortadella prepared with blends of calcium, magnesium and potassium chloride as partial substitutes for sodium chloride. Meat Science 89. 426-423.
- Hu. P, Xu. X.L, Zhou. G.H, Han. Y.Q, Xu. B.C, Liu. J.C. 2008. Study of the *Lactobacillus sakei* protective effect towards spoilage bacteria in vacuum packed cooked ham analyzed by PCR–DGGE. Meat Science 80, 462-469.
- Hwang, A., Huang, L. 2010. Ready-to-eat foods: microbial concerns and control measures. CRC Press. Estados Unidos. Pp. 259.
- Liu, G. Wang, Y. Gui, M. Zheng, H. Dai, R. Li, P. 2012. Combined effect of high hydrostatic pressure and enterocin LM – 2 on the refrigerated shelf life of ready to eat sliced vacuum packed cooked ham. Food Control, 24, 64 – 71.
- Mora Soler, L. 2010. Determinación de compuestos bioquímicos para el control de calidad en la elaboración de jamón cocido y jamón curado. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia. España. pp. 282.
- Myers, K., Cannon, J., Montoya, D., Dickson, J., Lonergan, S., Sebranek, J. 2013. Effects of high hydrostatic pressure and varying concentrations of sodium nitrite from traditional and vegetable-based sources on the growth of *Listeria monocytogenes* on ready-to-eat (RTE) sliced ham. Meat Science, 94, 69-76.
- Samelis, J., Kakouri, A., Rementzis, J., 2000. Selective effect of the product type and the packaging conditions on the species of lactic acid bacteria dominating the spoilage microbial association of cooked meats at 4 °C. Food Microbiology 17, 329– 340.
- Sánchez – Molinero, F. and Arnau, J. 2008. Effect of the inoculation of a starter culture and vacuum packaging during the resting stage on sensory traits of dry-cured ham. Meat Science. 80, 1074 – 1080.
- Sobrino. O.J. 1993. Caracterización parcial, bioquímica e inmunológica, de una sustancia antimicrobiana producida por *Lactobacillus sake* 148. Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid. España. Pp 293.

Vermeiren, L. Devlieghere, F. Debevere. J. 2004. Evaluation of meat orn lactic acid bacteria as protective cultures for the biopreservation of cooked meat products. *International Journal of Food Microbiology* 96, 149 – 164.

Vermeiren. L. 2006. Biopreservation of anaerobically packaged sliced cooked meat products by non-bacteriocinogenic micro-organisms. *Universiteit Gent*. Pp. 306.

Vercammen, A., Kristof, G.A., Lurquin, I., Steen, L., Geomaere, O., Szczepaniak, S., Paelinck, H., Hendrickx, M. and Michiels, C. 2011. Shelf – life extension of cooked ham model product by high hydrostatic pressure and natural preservatives. *Innovative Food science and Emerging Technologies*. 12. 407 – 415.

Uyttendaele, M., De Troy, P., Debevere, J., 1999. Incidence of *Listeria monocytogenes* in different types of meat products on the Belgian retail market. *International Journal of Food Microbiology* 53 (1), 75–80.

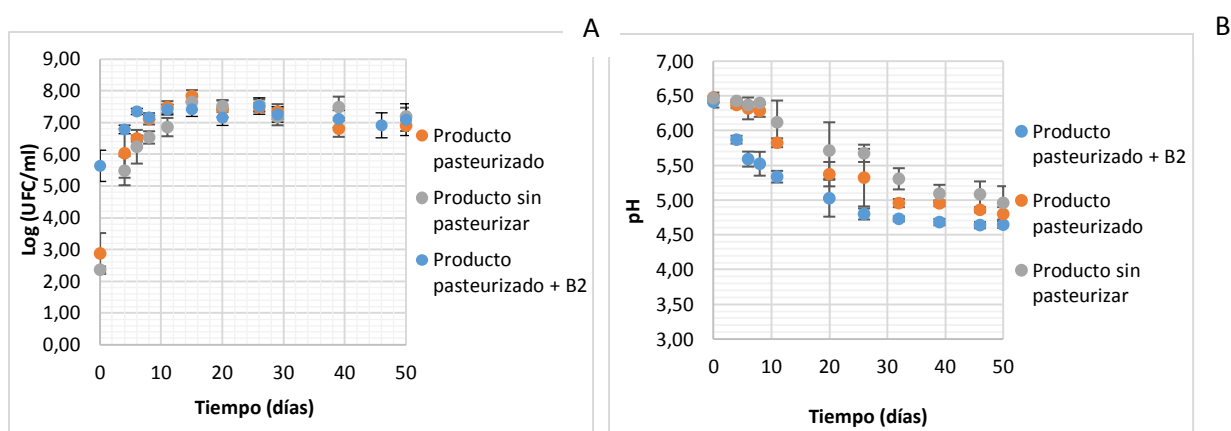


Figura 1: A: Recuento de mesófilos totales y B2, B: Seguimiento de pH para los tres tratamientos (● producto pasteurizado + B2; ● producto pasteurizado; ● producto sin pasteurizar) a temperatura de abuso de refrigeración 8 °C.

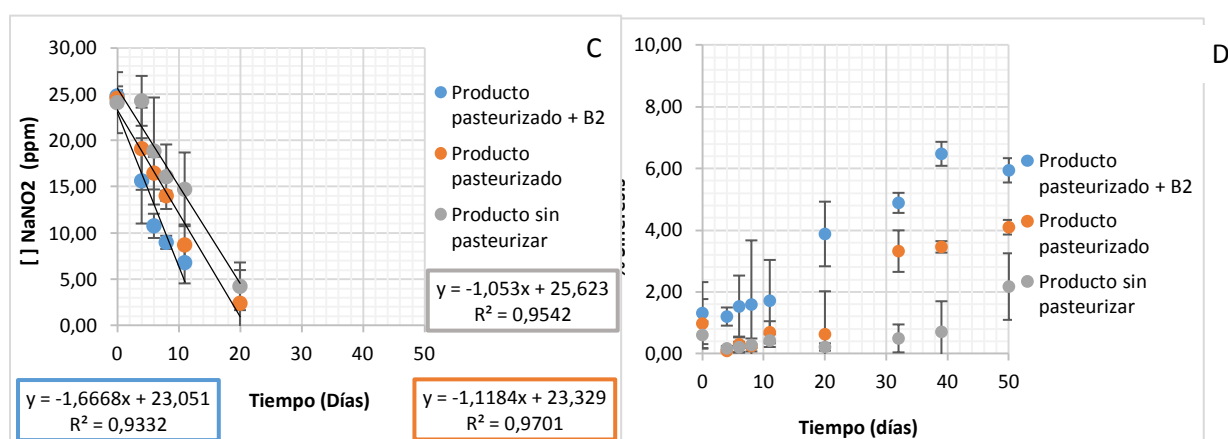


Figura 2: C: Concentración de NaNO2 (ppm) y D: Porcentaje de sinéresis para los tres tratamientos (● producto pasteurizado + B2; ● producto pasteurizado; ● producto sin pasteurizar) a temperatura de abuso de refrigeración 8 °C.

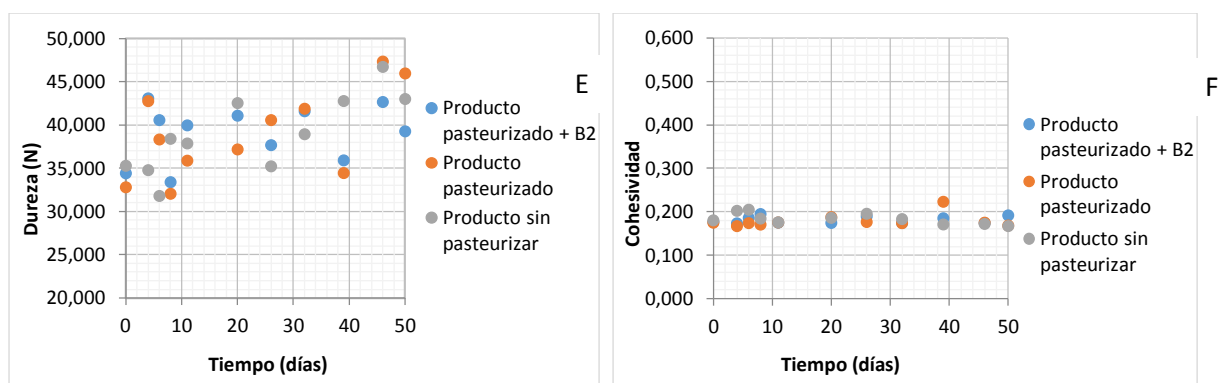


Figura 3: E: Dureza y F: Cohesividad para los tres tratamientos (● producto pasteurizado + B2; ● producto pasteurizado; ● producto sin pasteurizar) a temperatura de abuso de refrigeración 8 °C.

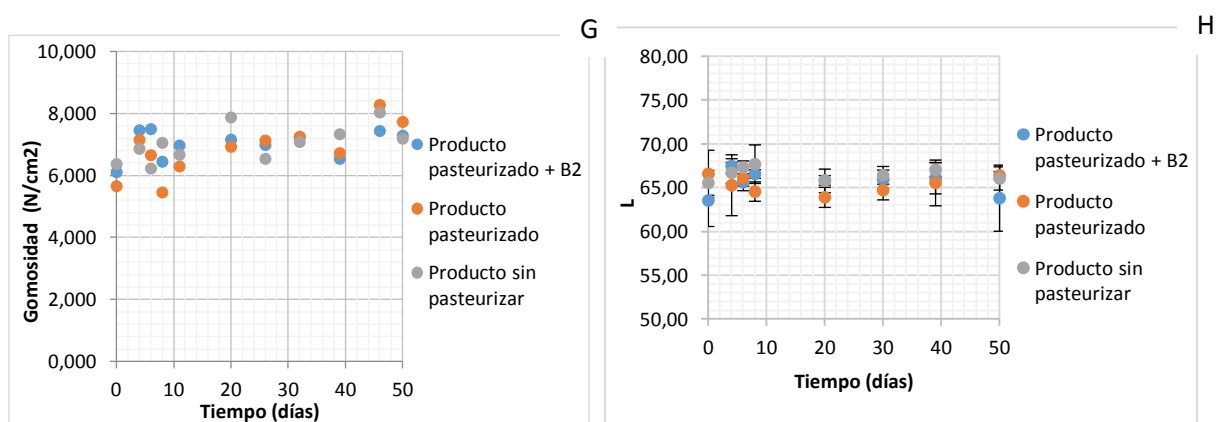


Figura 4: G: Gomosidad (N/cm²) y H: Luminosidad L*, para los tres tratamientos (● producto pasteurizado + B2; ● producto pasteurizado; ● producto sin pasteurizar) a temperatura de abuso de refrigeración 8 °C.

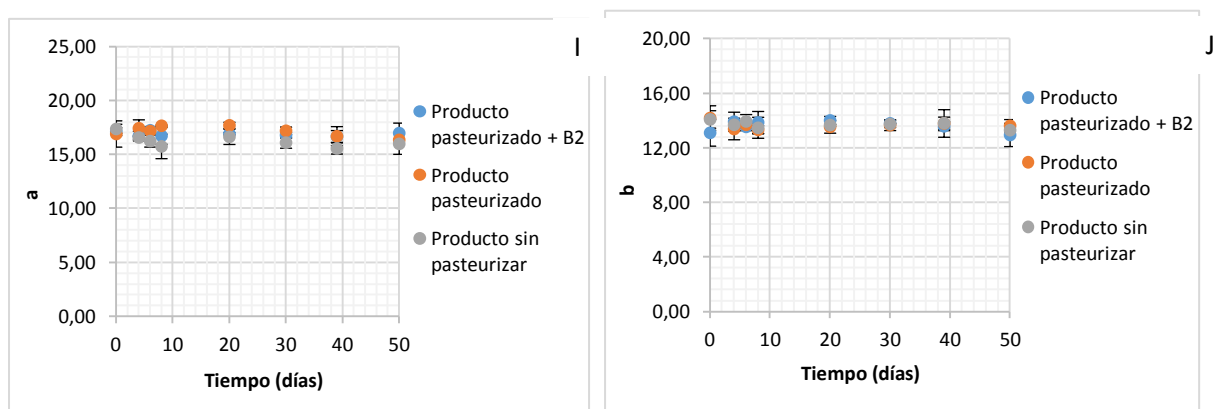


Figura 5: I: Coordenada a* y J: Coordenada b* para los tres tratamientos (● producto pasteurizado + B2; ● producto pasteurizado; ● producto sin pasteurizar) a temperatura de abuso de refrigeración 8 °C.

ANÁLISIS DE ENERGÍA EMITIDA Y POTENCIA DISIPADA EN UN SISTEMA DE ULTRASONIDO POR SONDA EN UNA MATRIZ LÁCTEA

Angélica María Lombana Lopera^a, Sebastián Camilo Ramos López^b, Johanna Andrea Serna Jiménez, Luz Indira Sotelo Díaz[±]

^{a,b} Facultad de Ingeniería, Estudiante de Ingeniería de Producción Agroindustrial e Ingeniería Química, [±] Grupo Procesos Agroindustriales
Universidad de la Sabana, Chía Cundinamarca, Colombia.

1.INTRODUCCIÓN

La potencia disipada y la energía emitida son parámetros necesarios para el estudio del comportamiento de la transferencia de energía a un producto al ser aplicado el ultrasonido en directo, como lo es por sonda, donde el medio se encuentra en contacto inmediato con el emisor de las ondas de sonido (Chemat et al.,2011). En general, la potencia representa la fuerza del tratamiento, o en otras palabras, cuanto tratamiento experimento el medio durante el ensayo; en el ultrasonido este tratamiento se lleva a cabo mediante el paso de una onda ultrasónica a través de un medio, por lo que este tratamiento está determinado por la fuerza que lleva la onda ultrasónica (Bermúdez et al., 2011). Dentro del procesamiento de alimentos se busca minimizar el impacto de la potencia para el procesamiento de los alimentos ya que esta puede incurrir en daños significativos en propiedades físicas y químicas de los mismos (De Gennaro *et al.*, 1999), al igual en el consumo de energía el cual aumenta los costos operativos del ultrasonido.

La potencia se relaciona con la energía, según lo descrito por algunos investigadores (Duckhouse *et al.*, 2004); quienes para obtener la energía experimentada por el producto en Joule utilizan el tiempo de tratamiento en segundos y es multiplicado por los valores de potencia. Por otra parte, el parámetro intensidad de la potencia, es la medida de la potencia transmitida al medio desde el área de superficie del tip o desde el generador de ultrasonido (Bermudez *et al.*, 2011). Esta intensidad se define como la potencia que experimenta el medio sobre el área de superficie del tip, esto explica que hay mayor concentración de potencia en tips de bajo tamaño, al tener menor radio su área de transferencia es menor y la relación Potencia /Área aumenta comparada con tips de mayor tamaño.

El mecanismo de ultrasonido se fundamenta en ondas de sonido que exceden el límite auditivo humano; es decir, alrededor de 20 kHz (Knorr *et al.*, 2011). Basado en la frecuencia y de acuerdo con la ecuación Potencia \propto (área /frecuencia²) descrita por Bermudez *et al.* (2011), se puede dividir en ultrasonido de bajo poder y baja intensidad con frecuencias por

encima de los 100 kHz e intensidades por debajo de 1 W/cm^2 usadas principalmente en análisis no invasivo y monitoreo de varios materiales alimenticios durante su procesamiento y almacenamiento para aumentar la calidad y seguridad del mismo; mientras que, la alta energía (alto poder y alta intensidad) se basa en frecuencias entre 20 y 500 kHz con intensidades por encima de 1 W/cm^2 es utilizada en la industria para procesamiento alimenticio, preservación y seguridad ya que tiene la capacidad de perturbar propiedades físicas, mecánicas, químicas o bioquímicas en los alimentos que son sometidos a este tipo de ultrasonido (Gallego *et al.*, 2010).

La sonicación directa (sonda), está definida por la caracterización del tip, que entra en contacto con la matriz, parte fundamental conectada al transductor y que contiene cristales piezoeléctricos que causan la amplitud, movimiento perpendicular y transmisión de energía al producto. Así, la geometría del tip es un factor importante para la sonicación directa; se encuentran diferentes tipos dentro de los cuales se destacan formas cilíndricas, escalonadas, cónicas y exponenciales. Según Cárcel (2003), un tip de forma cilíndrica está limitado a transmitir la señal acústica producida por el transductor; en cambio si el tip tiene una reducción exponencial la señal se amplificara en ganancia con una relación D/d , donde D es el diámetro del transductor y d es el diámetro en la punta del tip. La selección del tip está determinada por: el volumen de la muestra, características físico químicas de la muestra, objetivo de la aplicación y tipo de sonicación (Alta intensidad- baja intensidad).

En esta investigación se ha planteado analizar la relación entre la energía emitida y la potencia disipada en un sistema de ultrasonido por sonda (directo) en alta potencia (baja frecuencia) a diferentes amplitudes con dos tips de diferente tamaño y geometría, durante 10 minutos utilizando tratamiento en continuo y pulsado en una matriz láctea.

2.MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Materiales

La matriz láctea utilizada fue base en polvo comercial para helado, la cual se preparó con 240 mL de leche entera por cada 80 g de base y luego almacenada a 4°C para mantener control de la temperatura.

2.2 Ultrasonido en la matriz láctea

Se aplicó ultrasonido a la matriz láctea en un equipo de ultrasonicación (Qsonica, Q700 Sonicator, 700 W RMS por 10 minutos en proceso continuo y pulsado; fueron

utilizados dos tips, una de 1.6 mm de diámetro y geometría exponencial con amplitudes de 16, 32, 64, 96 y 160 μm en continuo y en proceso pulsado de amplitud 160 μm en un volumen de 10 mL. Un segundo tip empleado de 25.4 mm de diámetro y geometría cilíndrica con amplitudes de 3, 6, 12, 18, y 30 μm en continuo y en proceso pulsado con amplitud de 30 μm para un volumen de 500 mL, los pulsos utilizados en ambos casos fueron de 10:10 y 30:30 s on/off para su comparación con el proceso continuo, se realizaron ensayos por triplicado para cada condición.

2.3 Análisis de energía emitida y potencia disipada

Los cálculos de potencia se evaluaron por métodos térmicos $P_{\text{dis}} = m \cdot C_p \cdot \Delta T \cdot \Delta t^{-1}$ (Hu *et al.*, 2013) donde m: masa utilizada para el ensayo, ΔT : diferencia de temperaturas, Δt : tiempo de operación y C_p : calor específico de la matriz calculado por el método de Choi & Okos (1986). La energía emitida se obtuvo del equipo tomando datos cada minuto de energía y temperaturas para cada una de las amplitudes y cada uno de los tiempos estudiados.

2.4 Análisis de datos

El experimento de ultrasonido se realizó por triplicado para cada ensayo y se analizaron en los diferentes tiempos de procesamiento el calor obtenido por la matriz de base para helado. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) mediante el software SPSS versión 16* (IBM) para encontrar diferencias significativas tanto en los valores de diferencias de temperatura tanto en el tip de 1.6 mm y 25.4 mm con un nivel de significancia del 5% ($p < 0.05$)

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Comportamiento Energía Emitida frente a la Potencia Disipada en tip exponencial de 1.6 mm (diámetro)

El efecto de la potencia disipada frente la energía emitida en el tip de 1.6 mm se muestra en la **Figura 1**; en ésta se observa que la potencia disipada en la matriz estudiada, es proporcional a la energía emitida en todas las amplitudes evaluadas. Esta proporción siguió una tendencia lineal para cada evaluación, con un $R^2 > 0.95$, se infiere que a mayor energía emitida, en la matriz se obtendrá diferenciales de temperatura mayor, que se expresan mediante el calor recibido. En cuanto a la homogeneidad de estos valores de potencia en cada amplitud trabajada según el análisis de varianza (ANOVA) se encontró que el F calculado (0.399) es menor al valor de F crítico (2.57) con una probabilidad del 80.8%; por lo que hay criterio para poder aceptar la hipótesis nula en donde se dice que sin importar la amplitud, los

valores de potencia no tendrán diferencia significativa entre ellos con un nivel de significancia del 5%. Así, se deduce que la amplitud no tendría una repercusión significativa en la relación de la potencia disipada con la energía emitida en esta matriz.

3.2 Comportamiento Energía Emitida frente a la Potencia Disipada en tip cilíndrica de 25.4 mm (diámetro)

Al igual que en el tip de 1.6 mm, se encontró que el efecto de la potencia disipada frente la energía emitida tiene una relación lineal en todas las amplitudes evaluadas sobre la matriz; sin importar que el proceso se haya realizado en continuo o bajo pulsos, (**Figura 2**). Por lo tanto, existe una relación directa ya que los R^2 de estas correlaciones lineales son mayores a 0.98. Igualmente, se puede observar que la amplitud no afecta la cantidad de potencia disipada con respecto a la energía emitida debido a que en todos los casos se parten de bajos niveles tanto de potencia y energía; llegando a valores similares de estas mismas variables. En argumento de lo anteriormente dicho, el análisis de varianza de la potencia de cada amplitud en los tiempos de tratamiento arrojaron un F calculado (0.62) menor al valor de F crítico (2.57) con una probabilidad del 64% y un nivel de significancia de del 5%; lo cual indica que hay homogeneidad en los datos y por tanto no existe diferencia significativa entre ellos.

3.3 Evaluación Potencias frente Energía entre los dos tips (Cilíndrico y exponencial)

De acuerdo con la **Figura 3**, se puede evidenciar que el flujo de energía por unidad de volumen es en promedio 7 veces mayor en el tip de 1.6 mm en todas las amplitudes evaluadas, comparado con los mismos valores de transferencia de calor por unidad de volumen en el tip de 25.4 mm. Estos resultados pueden explicarse desde lo definido por Bermúdez et al. (2011), quienes han afirmado que la potencia irradiada es mayor debido a la menor área de transferencia del tip. Según el análisis de varianza (ANOVA) de las potencias para cada amplitud y tiempo, se evidencia una diferencia significativa entre estos dos tips, dado que el valor del F calculado (29.4) es mayor al valor del f crítico (1.98) con un porcentaje menor a 0% y un nivel de significancia del 5%. Sin embargo, una particularidad de este proceso es la energía emitida por el equipo que no es dependiente de las amplitudes, ni del tip, sino simplemente de los tiempos de operación a los que trabaje la sonda; de esta manera se puede explicar que la energía en tratamiento con pulsos es menor que en los tratamiento en continuo, debido a las pausas (off) generadas cuando no está ejerciendo trabajo la sonda.

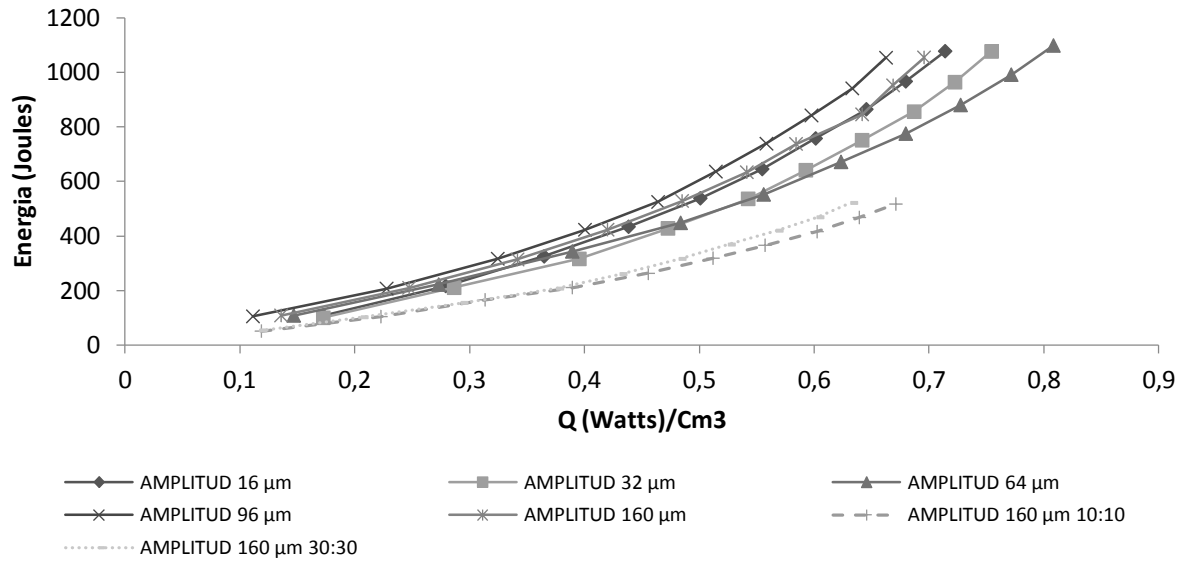


Figura 1. Potencia disipada frente a la energía emitida para cada amplitud en el tip de 1.6 mm, volumen 10 mL en proceso continuo y pulsado (10:10 y 30:30 on/off) durante 10 minutos, en matriz láctea base para helado.

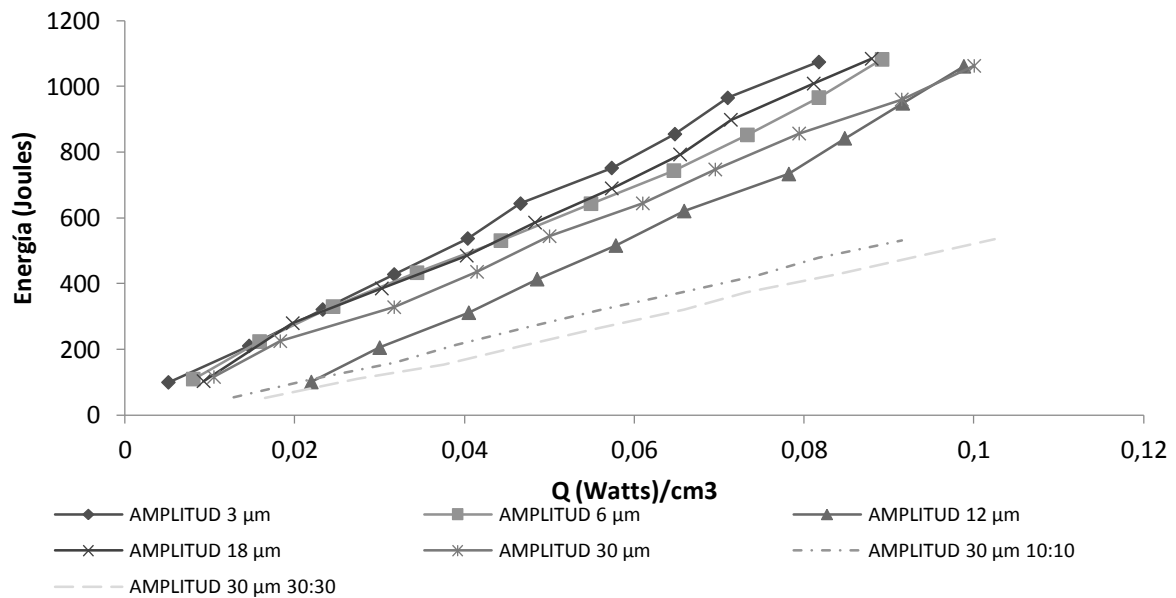


Figura 2. Potencia disipada frente a la energía emitida para cada amplitud en el tip de 25.4 mm, volumen 500 mL en proceso continuo y pulsado (10:10 y 30:30 on/off) durante 10 minutos, en matriz láctea base para helado.

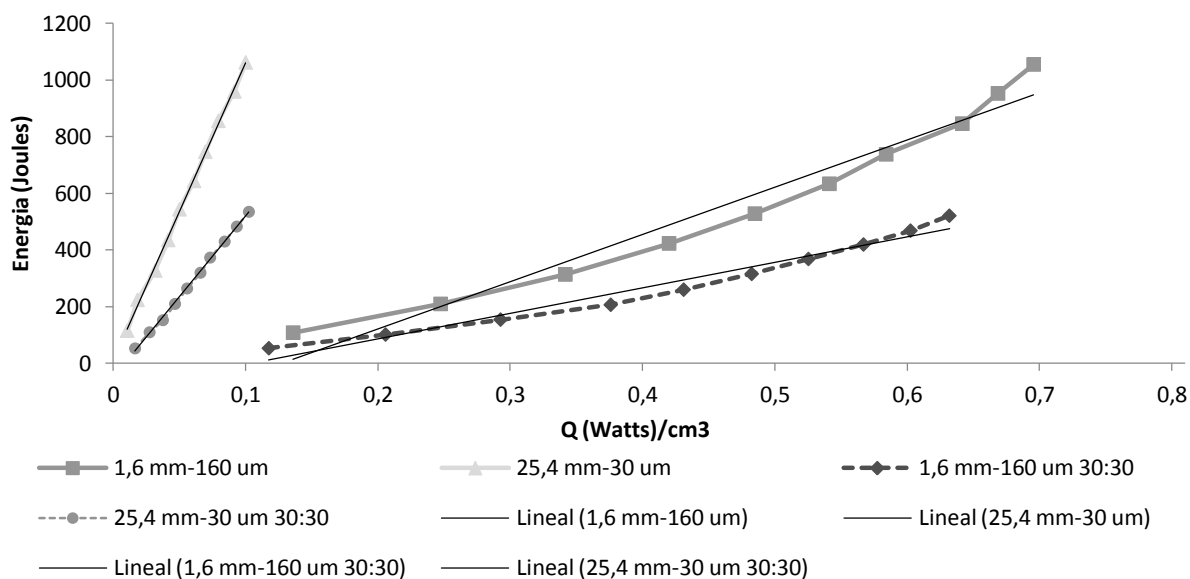


Figura 3. Potencia disipada frente a la energía emitida para las amplitudes de 30 μm y 160 μm estudiadas en los tips de 25.4 mm y 1.6 mm respectivamente en proceso continuo y pulsado (30:30 on/off) durante 10 minutos.

4.CONCLUSIONES

Los avances de la aplicación de ultrasonido en sonda sobre matrices alimentarias, como una tecnología no convencional requieren del conocimiento de los mecanismos de transferencia de energía, desde la fuente (energía emitida) hacia el producto a impactar, por tanto es fundamental definir el área de contacto para la verificación de la transferencia de energía a la matriz. Se encontró una relación lineal entre la energía emitida y la potencia disipada en cada una de las geometrías trabajadas, así mismo se observó que las diferentes amplitudes utilizadas no se encuentran relacionadas con la energía emitida al medio y por tanto no existe una relación entre estas. En cuanto a los tratamientos pulsados, se hizo evidente que aunque la potencia disipada es similar a un tratamiento continuo, los valores de energía emitida son significativamente menores. Finalmente, se evidencio diferencia entre los tips evaluados en cuanto a los valores de potencia disipada experimentados por la matriz.

BIBLIOGRAFÍA

- Bermúdez-Aguirre, D., Mobbs, T., & V. Barbosa-Canovas, G. (2011). Ultrasound Applications in food Processing. En H. Feng, G. V. Barbosa-Canovas, & J. Weiss, *Ultrasound Technologies for Food and Bioprocessing* (págs. 78-79). United States: Springer.
- Carcel Carrion, J. A. (2003). Influencia de los ultrasonidos de potencia en procesos de transferencia de materia. *Tesis Doctoral*. Valencia, España.
- Chemat, F., Grondin, I., Costes, P., Moutoussamy, L., Shum Cheong Sing, A., & Smadja, J. (2004). High power ultrasound effects on lipid oxidation of refined sunflower oil. *Ultrasonics Sonochemistry*, 281 - 285.
- De Gennaro, L., Cavella , S., Romano, R., & Masi , P. (1999). The use of ultrasound in food technology I: inactivation of peroxidase by thermosonication. *Journal of Food Engineering*, 401–407.
- Duckhouse, H., Mason, T., Phull , S., & Lorimer , J. (2004). The effect of sonication on microbial disinfection using hypochlorite. *Ultrasonics Sonochemistry*, 173–176.
- Gallego Juarez , J., Rodriguez, G., Acosta , V., & Riera, E. (2010). Power ultrasonic transducers with extensive radiators for industrial processing. *Ultrasonics Sonochemistry*, 953–964.
- Hu , F., Sun, D.-W., Gao, W., Zhang, Z., Zeng, X., & Han, Z. (2013). Effects of pre-existing bubbles on ice nucleation and crystallization during ultrasound. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*.
- Knorr, D., Froehling, A., Jaeger, H., Reineke, K., Schlueter, O., & Schoessler, K. (2011). Emerging technologies in food processing. *Annual Review of Food Science and Technology*, 203–235.

APLICACIÓN DE ULTRASONIDO DE ALTA INTENSIDAD PARA PROCESAMIENTO DE CÁRNICOS CRUDOS

Catalina Aguilar*, **Johanna Serna***, **Víctor Valencia****, **Oscar Ochoa****, **Claudia Garzón*** e **Indira Sotelo***

*Facultad de Ingeniería, Universidad de La Sabana, Chía, Colombia.

**Centro de Investigación y Desarrollo Cárnico, Industria de Alimentos Zenú S.A.S., Medellín, Colombia.

INTRODUCCIÓN

El interés por el estudio y la aplicación del ultrasonido de alta intensidad en el procesamiento de alimentos se ha incrementado en los últimos años debido a la capacidad de esta tecnología para inactivar microorganismos, preservando las características fisicoquímicas y nutricionales de los productos (Piyasena et al. 2003; Awad et al. 2012), lo que constituye una ventaja importante frente a los tratamientos térmicos convencionales que aunque reducen efectivamente la carga microbiana e inactivan enzimas deteriorativas, producen al mismo tiempo cambios físico-químicos relevantes y en gran medida, generan pérdida del valor nutricional de los alimentos (Morris et al., 2007). Este hecho sumado a que los costos energéticos de los tratamientos a temperaturas altas son generalmente superiores comparados con los requeridos por las llamadas nuevas tecnologías (Vega et al., 1997), han generado la necesidad de implementar tecnologías innovadoras en las empresas procesadoras de alimentos que impacten positivamente en la calidad de los productos de una manera sostenible.

Numerosos estudios han demostrado que la aplicación de ondas de ultrasonido de alta intensidad a diferentes productos, son eficientes para reducir la carga microbiana presente sin afectar significativamente las propiedades fisicoquímicas (Villamiel y De Jong, 2000; Mañas et al., 2000; Furuta et al., 2004; Knorr et al., 2004; Ananta et al., 2005; Ugarte et al., 2006; Patist y Bates, 2008; Bermúdez et al., 2009; Cao et al., 2010; Arroyo et al., 2011; Wordon et al. 2012). Sin embargo, la mayoría de estudios se centran en el efecto del ultrasonido sobre alimentos o matrices líquidas y existen muy pocos trabajos desarrollados sobre matrices cárnicas, debido principalmente a la complejidad de su composición.

Actualmente la industria cárnica emplea tecnologías convencionales para la eliminación de carga microbiana en sus procesos térmicos, lo que en muchas ocasiones puede llevar a sobreprocesamiento de productos, afectando sus propiedades nutricionales. La aplicación de ultrasonido de alta intensidad previa a la termización de los cárnicos, podría

mejorar la calidad microbiológica del producto y por consiguiente podría reducir los tiempos y/o temperaturas de procesamiento, impactando directamente la calidad del producto final. Por esto, se propuso en este estudio (1) evaluar el efecto de tratamientos ultrasónicos sobre la microflora acompañante y sobre dos microorganismos indicadores (*Listeria monocytogenes* y *Lactobacillus sakei*) en pasta cruda de carne y (2) determinar su potencial de impacto sobre las condiciones de temperatura del proceso de termización convencional utilizado en planta, mediante software de simulación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestras: Para los ensayos se utilizó pasta cruda de carne fresca estandarizada bajo la siguiente formulación: Proteína total 12,65%, proteína cárnica 12,30%, proteína vegetal 0,40%, grasa total 25,70 %, humedad 55,20%, carbohidratos totales 3,90%, almidón 3,00%, sal 1,96%, fosfato 0,30%, nitritos 116,58ppm, ascorbato 453,70ppm y pH 5,80.

Microorganismos: *Listeria monocytogenes* y *Lactobacillus sakei* fueron aisladas de una planta de procesamiento de cárnicos de acuerdo con el Bacteriological Analytical Manual (FDA,

<http://www.fda.gov/food/scienceresearch/laboratorymethods/bacteriologicalanalyticalmanual/bam/ucm071400.htm>) y se identificaron mediante secuenciación 16S rRNA. La concentración microbiana inicial de cada muestra antes de la sonicación se verificó mediante recuento en placa. Para la microflora acompañante, esta concentración se evaluó sobre agar Tripticasa de Soya (TSA, Scharlau ref. 01-200) a 37°C por 24 horas y se mantuvo en todos los casos entre 4,5 y 5,2 Log UFC/g. Para los microorganismos indicadores (*L. monocytogenes* y *Lb. sakei*), las concentraciones iniciales se ajustaron (mediante inoculaciones controladas sobre producto) a rangos entre 3,5 y 4,0 Log UFC/g. Para *L. monocytogenes* se utilizó agar Palcam (Scharlau ref. 01-470) y para la bacteria ácido láctica, agar MRS (Scharlau ref. 01-135) suplementado con ácido acético al 5% y púrpura de bromocresol al 10%.

Tratamientos de ultrasonido: Muestras de 10g de pasta cruda de carne previamente inoculadas con los microorganismos indicadores (como se describió anteriormente) se sonicaron de manera independiente y controlada utilizando una sonda Misonix® (microtip 3,2mm; 20KHz). Se evaluaron dos amplitudes de onda (57,1µm; 28,5µm) y dos pulsos ultrasónicos (20/20seg; 30/30seg), con tiempos de sonicación de 0, 1, 2,5, 5, y 10 minutos. Durante los ensayos también se obtuvieron los perfiles de temperatura.

Generación de curvas de Inactivación: Luego de los tratamientos con ultrasonido se cuantificó la población microbiana sobreviviente mediante recuento en placa sobre medios selectivos como se describió anteriormente. Las curvas de inactivación se construyeron graficando la concentración celular residual obtenida para cada caso (reducciones en ciclos log), frente a los tiempos de tratamiento aplicados.

Impacto de las reducciones microbianas obtenidas con ultrasonido, sobre las condiciones de temperatura de procesamiento del producto: Utilizando el simulador Thermal-Inactivation-Model de Combase (Combined DataBase for Predictive Microbiology, <http://www.combase.cc>), se evaluó la resistencia térmica de *Listeria monocytogenes* y una bacteria ácido láctica a cuatro temperaturas diferentes (68, 70, 72, 74 y 76°C) con tiempos máximos de 60 segundos. En el software se ajustaron las condiciones de tratamiento simulando las características fisicoquímicas de la matriz cárnica descrita anteriormente, y se partió de diferentes concentraciones microbianas iniciales teniendo en cuenta para ello las reducciones microbianas obtenidas experimentalmente mediante ultrasonido.

Análisis estadístico: En todos los casos se realizaron tres ensayos independientes cada uno con tres réplicas. Como controles se utilizaron muestras sin aplicación de tratamiento. Los datos experimentales se analizaron mediante ANOVA ($P < 0.05$) y test de Tukey (nivel de significancia de 5%) con el programa estadístico SPSS (versión 13.0, SSPS Inc, Chicago).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se encontró que a mayor tiempo de sonicación se obtuvieron las mayores reducciones logarítmicas, siendo el tratamiento de 10 minutos el más efectivo para reducir la concentración celular de la microflora acompañante y los dos microorganismos indicadores, resultados que coinciden con lo planteado por Álvarez et al. (2000) y Adekunle et al. (2010), quienes plantean que el tiempo es un factor importante que afecta la tasa de inactivación por ultrasonido, pero coinciden también en que después de cierto tiempo (después de 15 minutos, según la mayoría de los casos reportados), una fracción de la población microbiana puede volverse resistente al tratamiento y mayores tiempos de sonicación no generan mayores inactivaciones microbianas.

Adicionalmente, se encontró que la amplitud de onda genera diferentes respuestas en la cinética de inactivación microbiana por ultrasonido, ya que se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos realizados a 28,5 μm y 57,1 μm , siendo esta última amplitud, más efectiva para reducir la carga microbiana de los tres

microorganismos (Tabla 1). Es así como una amplitud de onda mayor, se traduce en mayor intensidad ultrasónica lo que produce en teoría mayor grado de cavitación y un mayor daño en las membranas celulares de las bacterias expuestas (Earnshaw, 1998; Piyasena et al., 2003).

Por otro lado, se encontró que los pulsos 20:20seg segundos generaron en todos los casos mayores reducciones logarítmicas que las obtenidas con los pulsos 30:30seg, con significancia estadística ($p < 0,05$) para la microflora. Se ha reportado, que entre más pulsos haya a lo largo de un tratamiento ultrasónico (más repeticiones de la fase emisora en un tiempo determinado), el efecto sobre el material biológico tratado se incrementa (Leighton, 2006), razón por la cual, el pulso 20/20seg, pudo ser más efectivo que el de 30/30seg, ya que tiene un mayor número de repeticiones por unidad de tiempo. Estas diferencias en la efectividad de los diferentes tipos de pulso pueden estar asociadas que. En adición, con los pulsos de 20/20seg también se obtuvieron menores incrementos de temperatura durante los tratamientos ($9,3^{\circ}\text{C}$ después de 10 minutos de sonicación), generando un menor impacto en las características fisicoquímicas de la matriz cárnica.

A partir de las cinéticas de inactivación microbiana se encontró, que la combinación: amplitud $57,1\mu\text{m}$, tiempo 10 minutos y pulsos 20/20seg, generó las mayores ($p < 0,05$) reducciones logarítmicas con valores de $-2,03 \pm 0,6 \text{ Log}_{10}\text{UFC/g}$, siendo más efectiva ($p < 0,05$) para la microflora, que para los microorganismos indicadores (Figura 1).

Adicionalmente, utilizando el simulador Thermal-Inactivation-Model de Combase (<http://www.combase.cc>), se encontró que las reducciones microbianas obtenidas mediante ultrasonido, pueden reducir la temperatura del tratamiento estándar utilizado en la industria cárnica hasta en $4,4 \pm 0,3$ grados centígrados, lo que sugiere que iniciar el proceso de termización con pasta de carne con esta menor concentración microbiana sí podría optimizar el proceso e impactar de manera positiva la calidad nutricional y microbiológica del producto final.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos de este estudio perfilan al ultrasonido de alta intensidad como una tecnología innovadora y de potencial aplicabilidad para reducir carga microbiana en matrices alimentarias complejas como la pasta de carne cruda. Los hallazgos son de gran relevancia porque a la fecha no se han encontrado reportes donde se aplique este tipo de tratamientos para la estabilización microbiológica de productos cárnicos crudos, lo cual

podría ser una alternativa promisorio para reducir las temperaturas de procesamiento, generando tratamientos térmicos menos drásticos y productos cárnicos de mayor calidad, lo cual tendría un impacto positivo en el desarrollo tecnológico de la industria cárnica.

BIBLIOGRAFÍA

Adekunte, M. A., Valdramidis, V.P. , Tiwari, B.K., Slone, N., Cullen, P.J., O'Donnell, C.P. y Scannell, A.(2010b). Resistance of *Cronobacter sakazakii* in reconstituted powdered infant formula during ultrasound at controlled temperatures: A quantitative approach on microbial responses. *International Journal of Food Microbiology*, 142: 53–59.

Álvarez, I., Pagan, R., Raso, J., Codo, S. y Sala, F.J. (2000). Microbial Inactivation by Ultrasound. *Food Technology*, University of Zaragoza, Miguel Servet, 177. 50013.

Ananta, E., Voigt, D., Zenker, M., Heinz, V. y Knorr, D. (2005). Cellular injuries upon exposure of *Escherichia coli* and *Lactobacillus rhamnosus* to high-intensity ultrasound. *Journal of Applied Microbiology*. 99: 271–278.

Arroyo, C., Cebrián, G., Pagán, R. y Condón, S. (2011). Inactivation of *Cronobacter sakazakii* by ultrasonic waves under pressure in buffer and foods. *International Journal of Food Microbiology*, 144: 446–454.

Awad, T.S., Moharram, H.A., Shaltout, O. E. Youssef, M.M. (2012). Applications of ultrasound in analysis, processing and quality control of food: A review. *Food Research International*, 48:410–427.

Bermúdez, D., Corradini, M. G., Mawson, R. y Barbosa, G.V. (2009). Modeling the inactivation of *Listeria innocua* in raw whole milk treated under thermo-sonication. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 10: 172-178.

Cao, S., Hu, Z., Pang, B., Wang, H., Xie, H. y Wu, F. (2010). Effect of ultrasound treatment on fruit decay and quality maintenance in strawberry after harvest. *Food Control*, 21: 529–532.

Earnshaw, R.G., Appleyard, J., Hurst, R.M. (1995). Understanding physical inactivation processes: combined preservation opportunities using heat, ultrasound and pressure. Department of Microbiology, Campden and Chorleywood Food Research Association, Chipping Campden, Gloucestershire, CL55 6LD, UK.

Furuta, M., Yamaguchi, M., Tsukamoto, T. y Yim, B. (2004). Inactivation of *Escherichia coli* by ultrasonic irradiation. *Ultrasonics sonochemistry*. 11: 57-60.

Knorr, D., Zenker, M., Heinz, V. y Lee, D. (2004). Applications and potential of ultrasonics in food processing. *Trends in Food Science & Technology*, 15: 261-266.

Leighton, T. (2006). What is ultrasound?. Institute of Sound and Vibration Research, Southampton University, Highfield. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 93: 3-83.

Mañas, P., Pagan, R. y Raso, J. (2000). Predicting lethal effect of ultrasonic waves under pressure treatments on *Listeria monocytogenes* ATCC 15313 by power measurements. *Journal of Food Science*. 65: 663- 667.

Morris, C., Brody, A.L. y Wicker, L. (2007). Non-thermal food processing/preservation technologies: a review with packaging implications. *Packaging Technology and Science*, 20:275-286.

Patist, A. y Bates, D. (2008). Ultrasonic innovations in the food industry: From the laboratory to commercial production. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 9:147-154.

Piyasena, P., Mohareb, E. y McKellar, R. (2003). Inactivation of microbes using ultrasound: a review. *International Journal of Food Microbiology*, 87: 207- 216.

Ugarte, E., Feng, H., Martin, S.E., Cadwallader, K.R. y Robinson, S.J. (2006). Inactivation of *Escherichia coli* with Power Ultrasound in Apple Cider. *Journal of Food Science*, 71:102-108.

Vega, H., Martin, O., Qin, B.L., Fu, J.C., Góngora, M.M., Barbosa, G.V. y Swanson, B.G. (1997). Non-thermal food preservation: Pulsed electric fields. *Trends in Food Science and Technology*, 8:151-157.

Villamiel, M. y De Jong, P. (2000). Influence of high-intensity ultrasound and heat treatment in continuous flow on fat, proteins, and native enzymes of milk. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 48: 472-478.

Wordon, B.A., Mortimer, B., McMaster, L.D. (2012). Comparative real-time analysis of *Saccharomyces cerevisiae* cell viability, injury and death induced by ultrasound (20 kHz) and heat for the application of hurdle technology. *Food Research International*, 47: 134–139.

Tabla 1. Máximas reducciones Microbianas alcanzadas con tratamientos de 10 minutos de sonicación

Condiciones de Tratamiento			Máximas reducciones (Log UFC/g) obtenidas con 10 minutos de sonicación					
			Microflora		<i>Listeria monocytogenes</i>		<i>Lactobacillus sakei</i>	
Frecuencia	Amplitud	Pulsos (seg)	x	SD	x	SD	x	SD
20KHz	28,5 µm	30:30	-0,08	0,02	-0,34	0,04	-0,17	0,02
20KHz	28,5 µm	20:20	-0,26	0,05	-0,47	0,08	-0,19	0,04
20KHz	57,1 µm	30:30	-1,35	0,04	-0,93	0,06	-1,02	0,03
20KHz	57,1 µm	20:20	-2,03	0,06	-1,21	0,01	-1,18	0,10

X: Promedio

SD: Desviación estándar

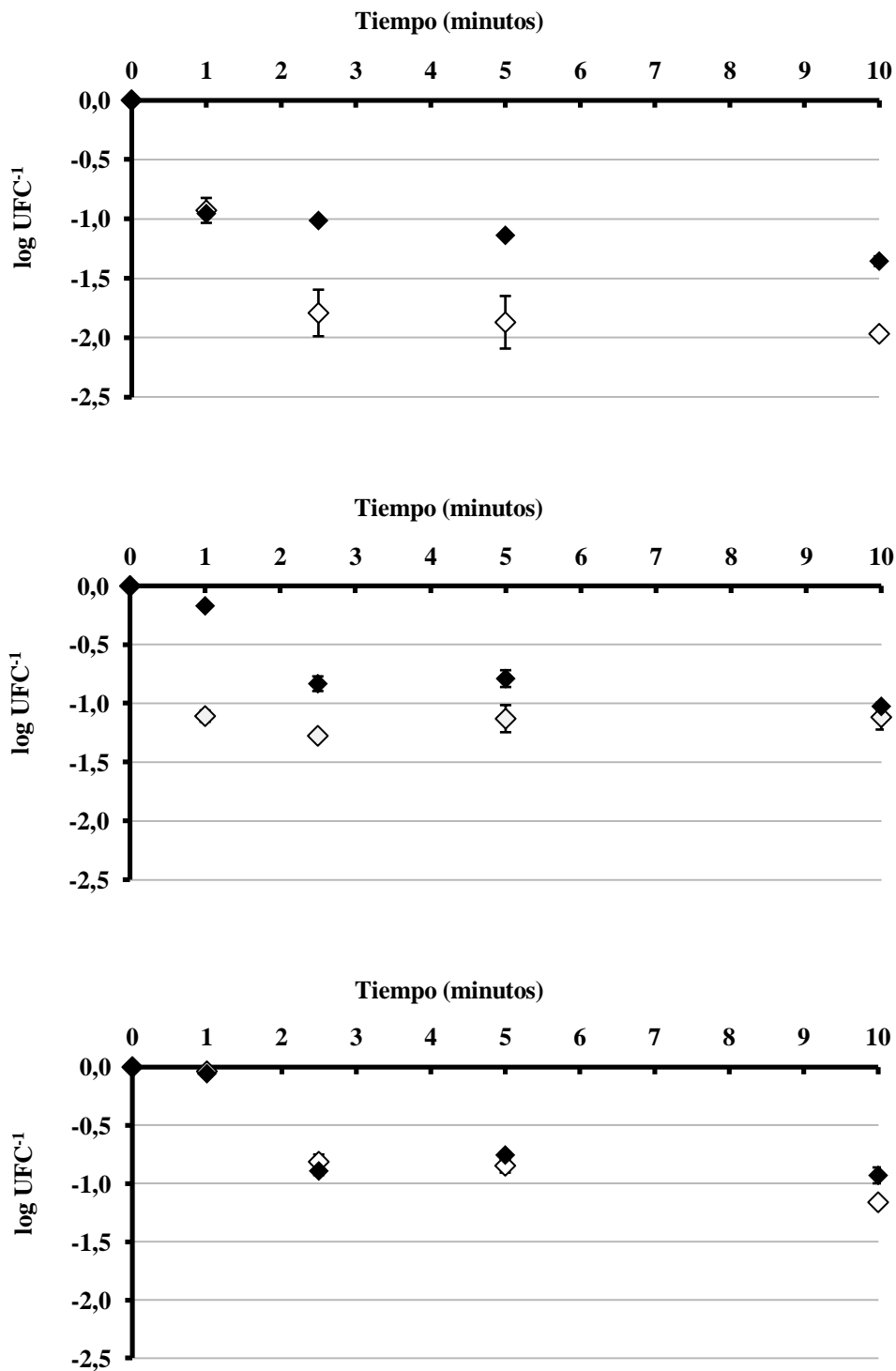


Figura 1. Curvas de inactivación microbiana para microflora natural y microorganismos indicadores en producto en proceso después de tratamientos con sonda ultrasónica a 57,1um de amplitud. A. Microflora acompañante. B: *Listeria monocytogenes*. C: *Lactobacillus sakei*. En blanco: Pulsos 20:20seg. En negro: Pulsos 30:30seg.

CONSERVACIÓN DE LA TILAPIA ROJA (*OREOCHROMIS SP.*) EN ATMÓSFERA MODIFICADA.

Durango V., Alba Manuela (1); De Paula, Cláudia Denise (1).; González LL., JOSÉ E. (2); Leon S., Carmen C.(2)

(1) Ph.D. Ciencia y Tecnología de Alimentos, Docente Departamento de Ingeniería de Alimentos, Facultad de Ingeniería, Universidad de Córdoba, Colombia. Código Postal 354. E-mail: durangoalba@yahoo.com

(2) Ingeniero de Alimentos, Universidad de Córdoba.

INTRODUCCIÓN

La tilapia roja es un híbrido proveniente de líneas mejoradas partiendo de las cuatro especies más importantes del género *Oreochromis*. El desarrollo de este híbrido permitió obtener muchas ventajas sobre otras especies, tales como, alto porcentaje de masa muscular, un filete más grande, ausencia de espinas intramusculares, crecimiento rápido, adaptabilidad al ambiente, resistencia a enfermedades, excelente textura de la carne y una coloración fenotípica de muy buena aceptación en el mercado (Solla S.A, <http://ganagricola.hypermart.net/aguascalidas.htm#introducción>).

En la actualidad se buscan métodos de conservación para estos peces; para tener más oportunidades en los mercados tanto nacionales como internacionales; el envasado en atmósferas modificadas (EAM) puede ser una alternativa para conservar por un tiempo más prolongado en refrigeración este tipo de producto.

El EAM consiste en cambiar la composición del aire en un determinado recipiente; la atmósfera que rodea al producto se sustituye en el momento del envasado por otro especialmente preparado para cada tipo de alimento, lo que permite controlar las reacciones químicas, enzimáticas y microbianas, evitando o minimizando las principales degradaciones que se producen durante los períodos de almacenamiento. El propósito de este trabajo fue determinar el mejor empaque y mezcla de gases que mantuvieran por más tiempo las características originales del producto.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales: 63 trozos de tilapia de ± 100 g; 2 tipos de bolsas de 70 micras, uno de material flexible y otra flex vac 18x18; cinco mezclas diferentes de gases CO₂, O₂ y N₂ (Tabla 1); selladora Komec Plus Vac 20.

Métodos

Acondicionamiento y selección de las mezclas y películas: Se empacaron los trozos de tilapia en dos bolsas flexibles con cinco mezclas diferentes de gases (Tabla 1). En la selladora los gases eran suministrados independientemente por pipetas; estas muestras se almacenaron a una temperatura de refrigeración de ± 5 °C. En esta etapa se seleccionaron las mezclas que mantuvieron las mejores características organolépticas del producto y la menor variación en el pH. Las películas fueron seleccionadas con base al tiempo de conservación del pescado, manteniendo la mezcla de gases.

El testigo se empacó con aire, se observó en el tiempo y se le realizaron los mismos análisis que a las empacadas con mezclas de gases. Cada tres días se evaluaron las características físico-químicas, microbiológicas y de gases totalizando un periodo de nueve días, ya que para este tiempo las condiciones organolépticas no eran aptas para la comercialización y el consumo; lo cual indicó el tiempo total de conservación en esas condiciones.

Análisis físico-químicos: Se determinó: pH (AOAC, 1996), % de CO₂ (analizador de gases PBI DANSENSOR *Checkpoint 02/CO₂* (Figura 1) y índice de peróxido (A.O.A.C. 28.025/84.965.33/90).

Análisis microbiológicos: se aplicó la metodología propuesta por el Ministerio de Salud (1998) determinándose recuento de *Staphylococcus* coagulasa positiva, Número Más Probable de Coliformes totales y fecales, recuento de microorganismos mesofilos, recuento de *Clostridium* y determinación de *Salmonella*.

Análisis sensorial: A los 7 días del ensayo fueron analizados parámetros de color, olor, sabor y textura por medio de una escala hedónica utilizando una referencia (R) con 10 catadores entrenados y tres repeticiones. El olor fue evaluado con muestras crudas; se tuvo en cuenta el color del tejido interno en los cortes. Los parámetros fueron evaluados con respecto a la referencia (pescado totalmente fresco) evaluando la intensidad de la diferencia (poco diferente a la referencia, igual a la referencia, demasiado diferente a la referencia).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Selección de las mezclas y películas: La película seleccionada fue la bolsa de material flexible de 70 micras. Esta selección fue con base al costo, ya que para el tiempo de conservación del pescado, ambas mantuvieron perfectamente la mezcla de gases. Esta película es menos costosa, debido a que tiene dos capas; una de polietileno de baja densidad y otra de poliamida y en cambio el flex vac está compuesto por una capa de material flexible más otra de BOPP (polipropileno biorientado). Las mezclas 4 y 5 (MG4: 20% de CO₂ y 80% de N₂ y MG5: 30% de CO₂ y 70% de N₂ respectivamente), fueron seleccionadas para seguir el estudio.

Concentración de CO₂: Las muestras de gases seleccionadas serán denominadas a partir de ahora como MG1 (30% de CO₂ y 70% de N₂) y MG2 (20% de CO₂ y 80% de N₂). Para la medición de la concentración de CO₂, las muestras empacadas con MG2 presentaron signos de deterioro para el día ocho y las muestras empacadas con MG1 presentaron deterioro para el día 9 (Figura 2). Por esta razón el análisis estadístico se realizó para el día siete, en el cual las dos mezclas de gases conservaban el producto. Para el día tres no hubo diferencia ($p \geq 0,05$) en el porcentaje de CO₂ ya que en la MG1 hubo una disminución en el porcentaje de CO₂, debiéndose quizás a que este se disuelve en la humedad de la superficie del tejido. Esta disolución del dióxido de carbono hace disminuir el pH al formarse ácido carbónico que ayuda a la conservación por la inhibición de bacterias ácido sensibles.

Valores de pH: En la Figura 3 se puede observar que para MG2, los valores de pH a través del tiempo disminuyen mucho más rápido que los de MG1 y que las muestras para la MG2 fueron descartadas en el análisis sensorial el día 7; seleccionando por lo tanto la MG1 como la mejor.

En las muestras testigo, los pH obtenidos (Figura 3) fueron mucho más bajos que los de las muestras empacadas en atmósferas modificadas y estas muestras estaban mucho más deterioradas en el día 7. Según el ICONTEC (NTC 1443), el límite permisible del pH es de 5.48 a 6.8 por lo que todos valores obtenidos se encuentran dentro de estos límites. Fey y Regenstein (1982) citados por Parry (1995), determinaron pocos o ningún cambio mientras que otros autores han comprobado un descenso proporcional a la concentración de CO₂. También se pueden presentar variaciones adicionales en las medidas publicadas debidas a diferencias en el método de medida, principalmente de los gradientes que existen entre la superficie del producto y el tejido más interno (Parry, 1995).

Índice de peróxidos: El aumento de los peróxidos es un indicador de los procesos de oxidación y en el presente estudio el índice de peróxido para MG2 es mucho mayor que para la MG1 y es muy parecido a la muestra testigo; es decir, el deterioro de las muestras está siendo acompañada por una ligera oxidación (Figura 3).

El pescado es muy susceptible al enranciamiento, debido al alto contenido de ácidos grasos insaturados presentes, este deterioro se evita aislando el producto del oxígeno (Sarmiento, 1999). Por lo tanto el empaçado sin la presencia de oxígeno y con un material de alta barrera para este, puede evitar la oxidación de las grasas, lográndose así mayor tiempo de conservación. En el día cero y el día tres el índice de peróxido no presenta una diferencia ($p \geq 0,05$) (Figura 3), pero para el día siete encontramos que existe diferencia ($p \leq 0,01$).

Análisis microbiológicos: En la Tabla 2 se presentan resultados de NMP de Coliformes totales de la tilapia roja empaçada en atmósfera modificada en donde hubo algunos crecimientos. El máximo valor obtenido para la MG1 fue de 20 y para la MG2 fue de 120; aunque para la segunda mezcla fue mucho mayor, ambos valores se encontraron dentro de los requisitos exigidos por el Ministerio de Salud. Para el día cero los valores fueron < 3 , indicando que estaba bajo los parámetros microbiológicos exigidos. Estas condiciones se mantuvieron durante todo el tiempo. El recuento de *Staphylococcus aureus* se mantuvo constante durante todo el tiempo y lo exigido por las normas es de máximo 100, lo que indica que los valores obtenidos se encuentran dentro de los parámetros exigidos.

En la determinación de *Clostridium* no se presentó crecimiento durante el tiempo con lo cual se puede decir que aunque se encontraba en condiciones de anaerobiosis este no creció debido a las bajas temperaturas o no se encontraba presente desde el inicio encontrándose dentro de los parámetros exigidos por la normatividad sanitaria.

La Tabla 3 se presenta los valores de recuento de mesófilos, indicando presencia de posibles mesófilos aerobios facultativos viables. Para mesófilos no hay requisitos exigidos para comparar y estos pueden estar afectando la calidad organoléptica de los productos que fue la principal causa por la que se descartaron las muestras. La detección de *Salmonella* se realizó a los 5 días de empaçado como un control y los resultados fueron negativos indicando que en general el producto se encontró en buenas características microbiológicas.

Análisis sensorial: Para el color se obtuvo que en la MG1, aproximadamente el 70% de los catadores marcaron que era poco diferente a la referencia, para MG2 el 50% de los catadores marcaron que era igual a la referencia; en cambio para la muestra testigo, aproximadamente el 80% de los catadores marcaron que el color era demasiado diferente a la referencia (Figura

4). Estos cambios en el color pueden estar influenciados por la oxidación de las grasas, y por la descomposición de los compuestos mioglobínicos.

Para la evaluación del sabor, se observó que el 100% de los catadores detectaron el sabor demasiado diferente de R para la MG2 por lo tanto esta mezcla fue descartada. Para la MG1 el 66% de los catadores notaron que el sabor fue poco diferente a R y el resto dijo que el sabor era igual a R, observándose que para el día siete la MG1 había conservado mejor el producto.

La mayoría de los catadores (80%) detectaron el olor demasiado diferente a R para la mezcla de gas con 20% de CO₂; para la otra mezcla el 66% notó demasiado diferente a R y el resto dijeron que era poco diferente a R, lo que muestra que uno de los aspectos sensoriales donde más se ven los cambios es en el olor y posiblemente esté relacionado con el crecimiento de microorganismos mesófilos aerobios y con cambios químicos en la carne del pescado. Dentro de estos cambios químicos se sugiere analizar la producción de trimetilamina.

CONCLUSIONES

El empaque en atmósferas modificadas logra incrementar la vida útil del producto, siendo la mejor concentración de gas la de 30% de CO₂ con 70% de N₂, ya que se logró conservar la tilapia roja por nueve días más a partir del empaque, es decir, tres días después de haber sido capturada; serían entonces 12 días en total de vida útil. El empaque elegido para la conservación de la tilapia roja en atmósferas modificadas fue la bolsa flexible normal de 70 μ m. Para el día nueve las muestras empacadas con 30% de CO₂ con 70% de N₂ se podían consumir ya que sus características organolépticas y microbiológicas lo permitían. El índice de peróxido evaluado al producto mostró que estas presentaron una leve oxidación. Los análisis microbiológicos estuvieron por debajo de los límites exigidos por el Ministerio de Salud, pudiendo afirmar que desde el punto de vista microbiológico la carne de tilapia roja conservada bajo atmósfera modificada es apta para el consumo humano.

BIBLIOGRAFÍA

- Aarón, L. B. (1996). Envasado de los alimentos en atmósferas controladas, modificadas y a vacío. Editorial Acibia S.A. Zaragoza,
- Madrid, A., Madrid, J., Madrid, R. (1994). Tecnología del pescado y productos derivados. A. Madrid Vicente, Ediciones y Mundi-Prensa Libros S.A., España.

Burgess, G y Cutting, C. (1987). El pescado y las industrias derivadas de la pesca. Editorial Acribia S.A. Zaragoza (España).

Huss, H. H. El pescado fresco, su calidad y cambios de calidad. Roma: FAO, 1988. 118p.

Norma Técnica Colombiana (NTC) 1443. (2002). Productos de la pesca y acuicultura. Pescado entero, medallones y trozos, refrigerados o congelados. ICONTEC.

PARRY, R.T. (1995). Envasado de los alimentos atmósfera modificada. A Madrid Vicente, Ediciones. Madrid (España).

Solla S.A. <http://ganagricola.hypermart.net/aguascalidas.htm#introducción>

Wang, M. Y., Ogrydziak, D. M. (1986). Residual effect of storage in an elevated carbon dioxide atmosphere on the microbial flora of rock cod (*sebastes spp.*). Appl. Environ. Microbiol. 52(4):727-32.

Wedler, E. (1998). Introducción en la acuicultura con énfasis en los neotrópicos. Santa Marta, Colombia.

Zdzislaw E. S. Tecnología de los productos del mar: Recursos, composición nutritiva y conservación, Editorial Acribia S.A., Zaragoza, España, 1994

Tabla 1. Mezclas de gases y empaques usados en el pre-ensayo.

EMPAQUE (E)	MEZCLA DE GASES (MG)	No. MUESTRAS
Control	MG6: 21% de O2, 79% de N2 (aire)	3
E1: bolsa flexible de 70 micras 15 x 25	MG1: 80% de CO2 y 20% de N2	5
	MG2: 50% de CO2 y 50% de N2	5
	MG3: 5% de CO2, 7% de O2 y 88% de N2	5
	MG4: 20% de CO2 y 80% de N2	5
	MG5: 30% de CO2 y 70% de N2	5
E2: bolsa flex vac 18 x 18	MG1: 80% de CO2 y 20% de N2	5
	MG2: 50% de CO2 y 50% de N2	5
	MG3: 5% de CO2, 7% de O2 y 88% de N2	5
	MG4: 20% de CO2 y 80% de N2	5
	MG5: 30% de CO2 y 70% de N2	5
TOTAL MUESTRAS		53

Tabla 2. NMP de Coliformes totales/g a través del tiempo para la MG1 y MG2.

DÍAS	MG1 (30/70%)			MG2 (20/80)			TESTIGO
	R 1	R 2	R3	R1	R2	R3	
0	9,3	3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3
3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3
6	4	20	7	3	< 3	< 3	20
8	< 3	4	20	< 3	120	36	20

Tabla 3. Recuento de mesófilos aerobios a través del tiempo para la MG1 y MG2.

DÍAS	MG1 (30/70)			MG2 (20/80)			TESTIGO
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	
0	13×10^4	15×10^4	15×10^4	16×10^4	15×10^4	14×10^4	2.000.000
3	47×10^4	40×10^4	45×10^4	45×10^4	46×10^4	40×10^4	>3.000.000
6	17×10^5	15×10^5	18×10^5	20×10^5	19×10^5	17×10^5	>3.000.000
8	>3.000.000	>3.000.000	>3.000.000	>3.000.000	>3.000.000	>3.000.000	>3.000.000



Figura 1. Analizador de gases usado para medir el porcentaje de CO₂ en las muestras de tilapia roja empacadas en atmósferas modificadas.

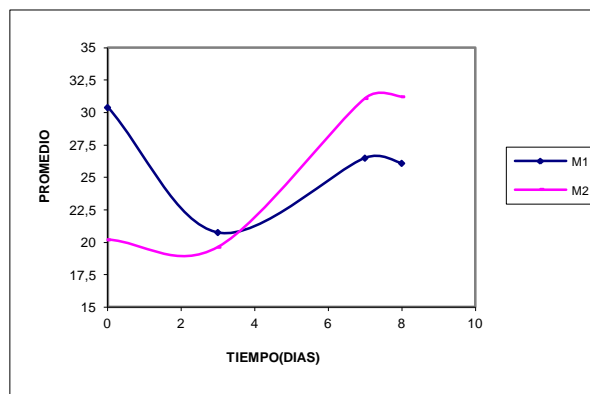


Figura 2. Comportamiento del porcentaje de CO₂ para las mezclas 1 y 2 medidos a través del tiempo.

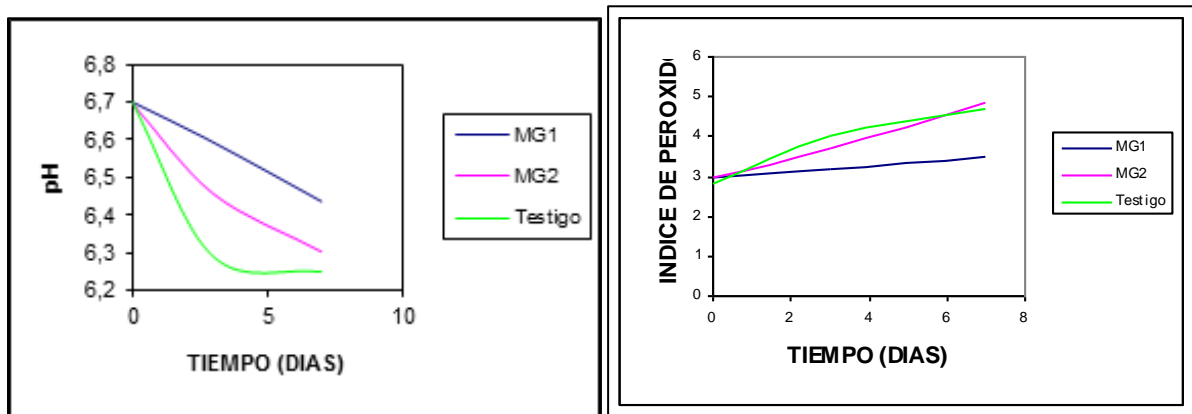


Figura 3. Comportamiento del pH (A) e índice de peróxido (B) a través del tiempo de la tilapia roja conservada en atmósferas modificadas para las mezclas 1, 2 y la muestra testigo.



Figura 4. Cambios de color de la tilapia roja empacada en atmósferas modificadas.

EVALUACIÓN SENSORIAL DE UNA BEBIDA DESLACTOSADA Y FERMENTADA A PARTIR DE LACTOSUERO ADICIONADA CON PULPA DE MARACUYÁ.

De Paula, C. D. (1); Martinez, A. P. (2); Nunes, M. De V. (3).

(1) Ph.D. Ciencia y Tecnología de Alimentos, Docente Departamento de Ingeniería de Alimentos, Facultad de Ingeniería, Universidad de Córdoba, Colombia. Código Postal 354. E-mail: cdepaula@correo.unicordoba.edu.co

(2) M. Sc. en Ciencias Agroalimentarias- Universidad de Córdoba, Montería – Córdoba, Colombia.

(3) M.Sc. Ciencias Matemáticas. Investigadora, Instituto de Investigaciones para la Industria Alimenticia, La Habana, Cuba.

INTRODUCCIÓN

El lactosuero es un subproducto de la elaboración del queso, con proteínas y fracciones proteicas de alto valor biológico como la β -lactoglobulina (6 - 8 g/L), la α -lactoalbúmina (1 - 2 g/L), péptidos, albúmina sérica (0,4 g/L), inmunoglobulinas, lactoferrina, lactoperoxidasa y glicomacropéptidos, alta cantidad de lactosa (44 - 52 g/l), minerales (4,3 - 9,5 g/l) y vitaminas (Haraguchi *et al.*, 2006; Londoño *et al.*, 2008, Parra, 2009).

El aprovechamiento del lactosuero es de gran importancia ya que debido a su alto valor nutritivo y energético, es empleado por bacterias y otros microorganismos que utilizan el oxígeno del agua, siendo la demanda biológica de este de 40.000 a 50.000 de mg O₂/L. En Colombia el lactosuero producido no es aprovechado en su totalidad, sino que es utilizado para alimentación de animales o sencillamente vertido a corrientes de agua debido al desconocimiento de otras formas de aprovechamiento del mismo (Londoño *et al.*, 2008, Aider *et al.*, 2009). Su aprovechamiento e hidrólisis permitirá obtener productos rentables y de alto valor nutritivo que podría contribuir a la disminución de la población desnutrida en Colombia y consumo por la población intolerante a la lactosa conformada por el 25% de los americanos caucásicos (Samartín, 2003). Su utilización beneficiaría principalmente a los productores de queso costeño ya que se generará un valor agregado a este subproducto y evitará una contundente contaminación ambiental (Aider *et al.*, 2009). El objetivo de este estudio fue evaluar sensorialmente una bebida deslactosada y fermentada a partir de lactosuero adicionada con pulpa de maracuyá.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales: Para la elaboración de la bebida se utilizó lactosuero fresco de queso costeño, sacarosa, pulpa pasteurizada comercial de maracuyá, tripolifosfato de sodio y Multigel ® (CMC, goma guar y goma xantan), enzima Maxilact L2000 ® (lactasa de levadura láctea *Kluyveromyces marxianus var lactis*), cultivo lácteo termófilo DANISCO'S Choozit MY800 (fermentos lácticos concentrados liofilizados para inoculación directa: *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii sub bulgaricus* y *Lactococcus lactis sub lactis*)

Métodos

Análisis de materias primas: Para valorar la calidad de la materia prima se realizaron los siguientes análisis por triplicado: en el lactosuero, acidez (A.O.A.C. 947.05/90), pH (A.O.A.C. 981.12/90), sólidos solubles (A.O.A.C. 932.12/90), sólidos totales (A.O.A.C. 925.105/90), proteína (A.O.A.C. 920.05/90), extracto etéreo (A.O.A.C. 989.04/90) y lactosa (FIL 28 A/74). A la pulpa comercial de maracuyá se le determinó pH (AOAC 981.12/90), acidez (Método 942.05/90) y sólidos solubles (A.O.A.C. 932.12/90).

Hidrólisis del lactosuero: El lactosuero fue filtrado, pasteurizado a 70°C/30 minutos, enfriado hasta $6 \pm 2^\circ\text{C}$ y caracterizado nuevamente. Luego se adicionó el estabilizante tripolifosfato de sodio (0,04%) y se dividió el lactosuero en recipientes de vidrio esterilizados para adicionarle inmediatamente la enzima (β - galactosidasa) en concentraciones de: 4,4, 2,8, 1,2 y 0 mL/L. De esta manera se obtuvieron los cuatro tratamientos con sus tres repeticiones, siendo la concentración de 0mL/L el Control. La hidrólisis se realizó en baño de maría a 6 °C/10 horas con agitación manual, tomando muestras a las 0; 3,5; 7 y 10 horas para realizar análisis de pH y acidez. Para determinar el porcentaje de hidrólisis del lactosuero, se tomaron muestras de cada tratamiento al inicio y al final del proceso de hidrólisis (a las 0 y 10 horas), se sometieron a un tratamiento térmico de 85 °C/1 minuto para inhibir la enzima, se refrigeraron a 4 °C y se realizó su análisis.

Formulación de la bebida: Para la formulación de la bebida deslactosada y fermentada se basó en la caracterización de las materias primas (pulpa pasteurizada de maracuyá y lactosuero hidrolizado). Se elaboraron cinco tratamientos con diferentes porcentajes de pulpa de maracuyá (5; 7,5; 10; 12 y 15%) y un valor final de 14 °Brix.

Prueba sensorial: Los tratamientos se evaluaron sensorialmente por medio de una prueba de ordenamiento-preferencia, utilizando 59 catadores consumidores, utilizando la nota 1 para la más preferida y 5 para la menos preferida. Las 5 muestras se codificaron con números de tres dígitos y presentadas al azar en vasos plásticos blancos transparentes con capacidad de 30 mL.

Análisis estadístico: Para la evaluación de los resultados de la caracterización bromatológica y fisicoquímica del lactosuero se utilizó un diseño completamente al azar con 3 tipos de lactosuero (fresco, fermentado e hidrolizado) y 3 repeticiones, totalizando 9 unidades experimentales. Para comparar las medias de los análisis bromatológico y fisicoquímico se utilizó un análisis de varianza (ANOVA) y el test de Tukey al 5%. Los datos de la prueba sensorial ordenamiento-preferencia de la bebida fueron analizados por medio de una prueba de Friedman ($p \leq 0,05$). El análisis estadístico se realizó utilizando el paquete Statistical Analysis System (SAS) versión 9.1 licenciado por la Universidad de Córdoba.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis de las materias primas: Los resultados de la caracterización bromatológica y fisicoquímica del lactosuero fresco y la pulpa comercial se presentan en la Tabla 1.

Por medio de la Tabla 1 es observado que no hubo variación en la composición fisicoquímica y bromatológica del lactosuero (fresco, pasteurizado e hidrolizado), excepto para pH y sólidos totales ($p \leq 0,05$). En el lactosuero pasteurizado no se detectó variación ($p \geq 0,05$) en las características de acidez, pH, proteína y materia grasa con relación al lactosuero fresco, sin embargo, se observó un aumento en el contenido de sólidos totales, lo cual podría deberse a la fermentación de la lactosa por microorganismos presentes, reflejándose en el incremento de sólidos totales, pero no lo suficiente para alterar el pH y la acidez.

Todos los resultados estuvieron dentro de los parámetros establecidos en el artículo 52 de la Resolución 2310/1986 del Ministerio de Salud de Colombia. Los resultados de pH y acidez fueron similares a los obtenidos por Flórez y Peña (2003), de 6,7 y 0,09% y a los obtenidos por Londoño et al. (2008) de 6,47 y 0,08%; los sólidos totales fueron inferiores a los reportados por Londoño et al. (2008); el porcentaje de proteína concuerda con el reportado por Londoño et al. (2008) de 0,96%, pero es mayor al reportado por Flórez y Peña (2003) de 0,83%. La cantidad de lactosa reportada es más alta que la de Londoño et al. (2008) de 4,4%, pero inferior a la obtenida por Flórez y Peña de 4,69%. Las diferencias encontradas entre los resultados de esta investigación y los obtenidos por Flórez y Peña (2003) y Londoño et al. (2008) se deben a las diferencias entre las materias primas utilizadas, las condiciones ambientales y locales como por ejemplo el ordeño y clima, lo cual afectan la composición de la leche y sus características microbiológicas (FAO (1998), Castro (2002)). Comparando con los resultados obtenidos por Londoño et al. (2008), el pH y la acidez de la pulpa de maracuyá fueron ligeramente inferiores, mientras que los sólidos solubles presentaron un valor mucho menor (21 °Brix). Esta diferencia en los sólidos solubles se debe probablemente al grado de

madurez de la fruta seleccionada, ya que la pulpa empleada en esta investigación fue pulpa comercial pasteurizada y estandarizada ($11,67 \pm 0,58$ °Brix), que cumple con la Norma Técnica Colombiana (NTC) 5468 de 2007 para jugos y zumos de fruta, la cual establece que la cantidad de sólidos solubles para los jugos comerciales de maracuyá debe estar entre 12 y 13 °Brix (NTC, 2008).

Hidrólisis del lactosuero: La acidez y la materia grasa del lactosuero hidrolizado permanecieron constantes con relación al lactosuero fresco, la proteína y el pH presentaron una disminución del 0,02% y del 0,05% respectivamente; mientras que los sólidos totales aumentaron en un 1,37% debido al proceso de hidrólisis de la lactosa, la cual se produce galactosa y glucosa. La Figura 1 presenta el comportamiento del pH y la acidez de los tratamientos durante la hidrólisis, observándose que hay significancia ($p \leq 0,05$) entre el tiempo de hidrólisis y el pH, ya que todos los tratamientos presentan una tendencia a disminuir el pH durante el proceso de hidrólisis.

Los resultados de la hidrólisis revelaron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los niveles de enzima adicionada y el pH del lactosuero, observándose dos grupos homogéneos, el primero conformado por los tratamientos T1 (4,4 mL/L), T2 (2,8 mL/L) y el Control (0,0 mL/L); y el segundo grupo conformado por el tratamiento T3 (1,2 mL/L). También se encontraron diferentes valores en el pH al inicio de los experimentos (0 horas), a pesar de haber utilizado el mismo lactosuero para todos los tratamientos, lo cual podría deberse a la adición de enzima. Ninguno de los tratamientos empleados tuvo una variación de pH superior a 0,1 atribuido a la adición del estabilizante utilizado (tripolifosfato de sodio), que actuó como regulador de pH (buffer); este estabilizante es permitido legalmente según la NTC 3856/2004 para productos lácteos y la norma general para aditivos alimentarios del Codex (1995) y NTC (2004). El tiempo de hidrólisis presentó significancia ($p \leq 0,05$) sobre la acidez, solamente durante las primeras 3,5 horas de hidrólisis; sin embargo, se observó en el tratamiento T2 (2,8 mL/L) un valor de acidez ligeramente inferior a las 0 horas. Así mismo, se pudo corroborar la relación inversa entre los resultados de la acidez y el pH.

Formulación de la bebida: Los resultados de la caracterización de la hidrólisis del tratamiento seleccionado (T3) para el proceso de hidrólisis, se presentan en la Tabla 2. La acidez y el porcentaje de grasa del lactosuero hidrolizado permanecieron constantes con relación al lactosuero fresco, mientras que los sólidos totales aumentaron en un 1,37% debido al proceso de hidrólisis de la lactosa, en el cual se produce galactosa y glucosa. La proteína presentó una disminución del 0,02% y el pH una disminución de 0,05.

En la formulación de las bebidas se estableció que debían tener una concentración

final de 14 °Brix, y se tuvo en cuenta además el aumento que genera el proceso de fermentación; por lo cual luego de pasteurizar la mezcla, se realizó la fermentación hasta alcanzar un pH de 5,8. Los resultados de los parámetros fisicoquímicos y bromatológicos de la bebida sin pulpa pasteurizada y fermentada se observan en la Tabla 2.

La bebida pasteurizada sin pulpa, elaborada a partir de lactosuero hidrolizado presentó un aumento de sólidos totales del 5,78% y un aumento de sólidos solubles del 6,20%, debido a la sacarosa adicionada. También se presentó una disminución de la proteína del 0,02% y una disminución de la materia grasa del 0,2%, ya que al adicionar otros sólidos estos componentes disminuyen proporcionalmente; sin embargo, características como el pH y la acidez permanecieron constantes.

La bebida fermentada sin pulpa presentó un incremento de sólidos totales (0,3%), sólidos solubles (0,16%) y acidez (0,04%) y una disminución del pH (10,58%), debido a la fermentación de los azúcares presentes (glucosa, galactosa y restos de lactosa) por las bacterias. La grasa disminuyó levemente en un 0,03%, mientras que la proteína se incrementó en un 0,26% comparada con la bebida pasteurizada.

Análisis sensorial: La Tabla 3 presenta los resultados de la prueba sensorial realizada a las bebidas saborizadas con pulpa de maracuyá. La bebida con 5% de pulpa fue la menos preferida y la de 10% de pulpa de maracuyá fue la más preferida ($p \leq 0,05$), mientras que las bebidas con 7,5; 12,5 y 15% no presentaron diferencias significativas ($p \geq 0,05$). Los catadores comentaron que les gustó la combinación de la bebida láctea con sabor a maracuyá, calificándolo de novedoso e interesante, al utilizar y agregar valor a un subproducto de la industria quesera. Con base en lo anterior, se seleccionó la bebida de lactosuero deslactosado y fermentado con 10% de pulpa de maracuyá.

Los catadores declararon que les gustó la combinación de un derivado lácteo con sabor a maracuyá, les pareció un producto muy bueno, novedoso e interesante desarrollado a partir de un subproducto con mejores características y un mayor valor agregado.

Varios estudios (Espírito Santo et al. (2010), Chóez Alcívar (2011), Sepúlveda et al., 2002), Guedes et al., 2013), Florentino (2010)) utilizando el lactosuero en la elaboración de bebidas encontraron la existencia de un potencial comercial de esta bebida observado por medio de un análisis sensorial.

CONCLUSIONES

El tratamiento seleccionado fue el que contenía la concentración más baja de enzima β -galactosidasa favorecido por el bajo costo de producción. La bebida más preferida por los

consumidores fue la que aquella donde la pulpa de maracuyá aportó el 10% de los sólidos solubles.

BIBLIOGRAFÍA

Aider, M., Halleux, D., Melnikova, I. 2009. Skim acidic milk whey cryoconcentration and assessment of its functional properties: Impact of processing conditions. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 10(3): 334-341.

Association Of Official Analytical Chemists. *Official Methods of Analysis*. 16ed. Washington: AOAC, 1990. 1360 p.

Castro A. 2002. *Ganadería de leche un enfoque empresarial: producción bovina*. Euned, Costa Rica.

Chóez Alcívar, J. 2011. *Elaboración de una bebida hidratante a base de lactosuero*. Disponible: www.dspace.espol.edu.ec. Acceso octubre de 2013.

CODEX. Norma general del codex para los aditivos alimentarios. 1995. http://www.codexalimentarius.net/gsfonline/CXS_192s.p.

Espírito Santo, E.P., Silva, R.C., Soares, F.A.S.M., Anjos, D., Gioielli, L.A., oliveira, M.N. 2010. Açai pulp addition improves fatty acid profile and probiotic viability in yoghurt. *International Dairy Journal*. 20(6):415-422.

FAO. *Procesamiento de lácteos*. 1998. ITDG.

Florentino, E. R., Florêncio, I. M., Araújo, A. dos S. 2010. Utilização do soro como substrato para produção de aguardente: estudo cinético da produção de etanol. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*. 5(1):7-25.

Flórez I., Peña C. 2003. Utilización del lactosuero de queso fresco en la elaboración de una bebida, con adición de pulpa de maracuyá (*Passiflora edulis*) y diferentes mezclas de carboximetilcelulasa (CMC), enriquecida con vitaminas A y D. Tesis Ingeniero Agrícola y de Alimentos), Univ. Nacional de Medellín y de Córdoba.

Guedes, A.F.L.M., Machado, E.C.L., Fonseca, M.C., Andrade, S.A.C., Stamford, T.L.M. 2013. Aproveitamento de soro lácteo na formulação de bebidas com frutas e hortaliças. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec*. 65(4):1231-1238.

Haraguchi, F; Abreu, W. y De Paula, H. 2006. Proteínas do soro de leite: composição, propriedades nutricionais, aplicações no esporte e benefícios para a saúde humana. *Revista de Nutrição* 14(9): 479-488.

Londoño M., Sepúlveda J., Hernández A., Parra J. 2008. Bebida fermentada de suero de queso fresco inoculada con *Lactobacillus casei*. *Rev. Fac. Nacional Agropecuarias de Medellín*, 61(1):409-442.

Norma Técnica Colombiana (NTC) 5468. 2008. Zumos (jugos), néctares, purés (pulpas) y concentrados de frutas. Ed. Icontec, Colombia.

Norma Técnica Colombiana (NTC) 3856. 2004. Productos lácteos. Leche UHT, larga vida y leche ultrapasteurizada. Ed. Icontec, Colombia.

Parra, R. A. (2009). Lactosuero: Importancia en la industria de alimentos. *RFNAM*. 62(1).

Samartín, S. 2003. Características de la función inmune celular en pacientes con alergia o con

intolerancia a las proteínas de la leche de vaca: estudio comparativo. Tesis Doctor en Farmacia, Universidad Complutense de Madrid, España.

Sepúlveda, J., Flórez, L., Peña, C. 2002. Utilización de lactosuero de queso fresco en la elaboración de una bebida fermentada con adición de pulpa maracuyá (*Passiflora edulis*) variedad púrpura y carbóximetil celulosa (CMC), enriquecida con vitaminas A y D. *Rev.Fac.Nal.Agr.Medellín*. 55(2):1633-1674.

Tabla 1. Parámetros fisicoquímicos y bromatológicos del lactosuero y la pulpa.

ANÁLISIS REALIZADO	LACTOSUERO* FRESCO	PULPA DE * MARACUYA	LACTOSUERO * PASTEURIZADO	LACTOSUERO * HIDROLIZADO
Acidez (% ácido láctico)	0,11 ^a ± 0,01	2,33 ± 0,15	0,11 ^a ± 0,01	0,11 ^a ± 0,01
pH	6,58 ^a ± 0,01	2,51 ± 0,01	6,58 ^a ± 0,01	6,53 ^b ± 0,01
Sólidos solubles	-----	11,67 ± 0,58	-----	7,47 ± 0,12
Sólidos totales (%)	6,83 ^a ± 0,57	-----	7,15 ^b ± 0,14	8,20 ^c ± 0,21
Proteína (%)	0,98 ^a ± 0,01	-----	0,98 ^a ± 0,02	0,96 ^a ± 0,20
Materia grasa (%)	0,40 ^a ± 0,00	-----	0,40 ^a ± 0,00	0,40 ^a ± 0,00
Lactosa (%)	4,54 ^a ± 0,02	-----	4,53 ^a ± 0,08	-----

* Media de 3 repeticiones ± desviación estándar.

** Medias con misma letra en la línea no difieren entre sí al nivel del 5% de probabilidad para el test de Tukey.

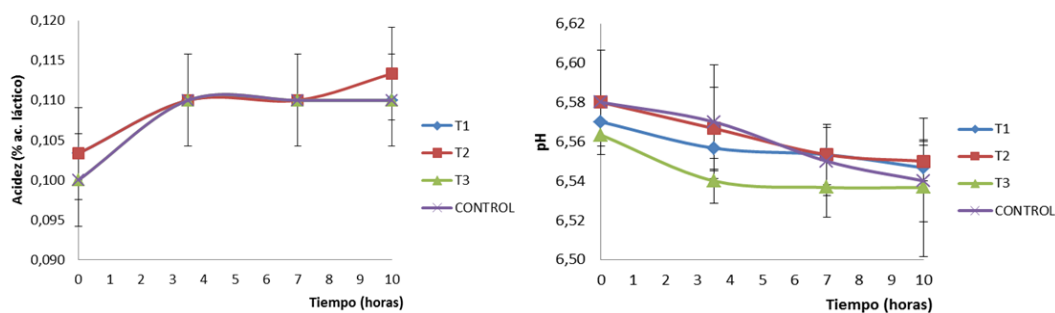


Figura 1. Comportamiento de la acidez y el pH durante la hidrólisis.

Tabla 2. Parámetros fisicoquímicos y bromatológicos de la bebida sin pulpa.

CARACTERÍSTICA	B. PASTEURIZADA*	B. FERMENTADA*
Acidez (% ácido láctico)	0,11 ± 0,01	0,15 ± 0,01
pH	6,52 ± 0,01	5,83 ± 0,06
Sólidos totales (%)	13,98 ± 0,11	14,28 ± 0,11
Sólidos solubles (%)	13,67 ± 0,35	13,83 ± 0,29
Proteína (%)	0,94 ± 0,02	1,20 ± 0,09
Materia grasa (%)	0,20 ± 0,00	0,17 ± 0,06

* Media de 3 repeticiones ± Desviación estándar.

Tabla 3. Resultados de la prueba sensorial de ordenamiento-preferencia.

PULPA (%)	RESULTADO*
5	219 ^a
7,5	181 ^{ab}
10	156 ^b
12,5	188 ^{ab}
15	172 ^{ab}

* Medias con misma letra no difieren entre sí al nivel del 5% de probabilidad para el test de Friedman (dms = 47, 6).

MICROPARTÍCULAS LIPÍDICAS SÓLIDAS CONTENDO ÁCIDO ASCÓRBICO: PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO

Tanara Sartori, Miriam Dupas Hubinger e Florencia Cecilia Menegalli*

Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Departamento de Engenharia de Alimentos, Campinas, SP, Brasil. e-mail: fcm@fea.unicamp.br

1.INTRODUÇÃO

A vitamina C é um composto bioativo conhecido historicamente por sua função nutricional benéfica à saúde. Esta vitamina inclui um grupo de compostos que exibem a atividade biológica do ácido ascórbico, aditivo alimentar muito utilizado como antioxidante, por promover proteção das qualidades sensoriais e nutritivas dos alimentos. Esse aditivo, porém, apresenta alta instabilidade e reatividade, degradando-se rapidamente por diferentes mecanismos (Abbas et al., 2012).

O método mais utilizado para a estabilização de compostos sensíveis e para a liberação controlada de componentes ativos, na indústria de alimentos tem sido a microencapsulação, a qual consiste no revestimento de substâncias (recheio) por uma membrana (material de parede). (Desai et al., 2006).

A técnica de microencapsulação apresenta várias vantagens, dentre as quais se destacam a proteção ao oxigênio e à umidade, resultando em maior estabilidade, aumento da biodisponibilidade e liberação controlada do recheio, e a redução da higroscopicidade de produtos hidrofílicos, pela encapsulação em materiais de parede hidrofóbicos. A liberação controlada permite superar tanto a utilização ineficiente, quanto a perda dos aditivos durante as etapas do processamento e o armazenamento do produto (Abbas et al., 2012).

O *spray chilling* é uma técnica de microencapsulação simples e de baixo custo, a qual utiliza compostos hidrofóbicos como material de parede. Consequentemente, esta técnica tem se destacado na microencapsulação de materiais hidrofílicos, tais como, vitaminas, enzimas, acidulantes e alguns *flavors* (Anal, 2010).

Neste contexto, o objetivo do trabalho foi produzir e caracterizar micropartículas lipídicas contendo ácido ascórbico, por *spray chilling*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Produção das micropartículas lipídicas contendo ácido ascórbico

A produção das micropartículas lipídicas foi realizada utilizando como material de parede misturas de ácido láurico (AL), saturado, e ácido oleico (AO), insaturado, em diferentes proporções (Tabela 1). Como material de recheio foi utilizada uma solução de ácido ascórbico 30 % (p/p), e a relação entre material de parede (AG) e material de recheio (AA) variou conforme descrito na Tabela 1. O surfactante utilizado foi o GRINSTED® PGPR 90 - Danisco, gentilmente cedido pela MasterSense Ing. Alim. Ltda. Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

A produção das micropartículas lipídicas foi realizada seguindo a metodologia descrita por Chambi et al. (2008), com algumas adaptações. As misturas de ácidos graxos foram aquecidas a uma temperatura 10 °C acima dos pontos de fusão de cada mistura de AL e AO (70/30: 41,6 °C; 80/20: 45,7 °C e 90/10: 48 °C) determinados por calorimetria diferencial de varredura (DSC). Após a completa fusão da mistura adicionou-se 5 % (p/p_{AG}) do surfactante e a solução de ácido ascórbico 30 % (p/p) na proporção respectiva de cada ensaio (Tabela 1), submetendo cada mistura a homogeneização em ultraturrax (T 10 basic – Ika) a 30.000 rpm por 5 min. As emulsões formadas foram atomizadas em um atomizador duplo fluido com diâmetro do bico aspersor de 0,7 mm utilizando o *spray dryer* Büchi-B290 com módulo de *spray chilling* (Büchi, Uster, Switzerland). A vazão de alimentação da emulsão foi de 8,8 mL/min, a vazão do ar de atomização utilizada foi de 660 L/h, a vazão do aspirador foi mantida a 35 m³/h e a temperatura de entrada na câmara foi resfriada a 7 °C por um desumidificador Büchi B296 (Büchi, Uster, Suíça). As partículas formadas foram coletadas e armazenadas a 10 °C.

2.2 Caracterização das micropartículas lipídicas

A determinação da eficiência de encapsulação total (ET) foi realizada seguindo a metodologia descrita por Leonel et al. (2010), com algumas adaptações, a partir de 100 mg de micropartículas, 10 mL de clorofórmio e 10 mL de água. A determinação da quantidade de ácido ascórbico presente foi determinada na fase aquosa, utilizando o método 967.21 da AOAC (1997), método de titulação com 2, 6 – diclorofenolindofenol, com as modificações descritas por Benassi e Antunes (1988). A ET das micropartículas produzidas foi definida como a razão entre a quantidade total de ácido ascórbico (AA_T) presente na amostra e a quantidade inicial adicionada à emulsão (AA₀) (Equação 1).

A determinação da quantidade de ácido ascórbico superficial das partículas (AA_S) foi realizada conforme metodologia usada por Ribeiro et al. (2012), com algumas modificações e a quantidade de ácido ascórbico foi determinada no filtrado.

A eficiência de encapsulação efetiva (EE) foi calculada subtraindo-se a quantidade de ácido ascórbico superficial (AA_S) da quantidade total de ácido ascórbico (AA_T). O valor obtido foi comparado à quantidade inicialmente adicionada à emulsão para a produção das micropartículas (AA_0). O quociente expresso em porcentagem representa o valor de EE (Equação 2).

$$ET(\%) = \frac{AA_T}{AA_0} * 100 \quad (1)$$

$$EE(\%) = \frac{AA_T - AA_S}{AA_0} * 100 \quad (2)$$

A distribuição de tamanho das partículas foi determinada por difração a laser através do Mastersizer S (Malvern Instruments, Malvern, UK) após a dispersão das micropartículas em uma solução aquosa de Tween 20 0,5 %. O tamanho de partícula foi expresso como o diâmetro equivalente de volume dv (μm) definido pela Equação 3, em que v é o volume da partícula. A distribuição de tamanho foi determinada utilizando os parâmetros característicos $dv(0,1)$, $dv(0,5)$ e $dv(0,9)$, que são os diâmetros de volume equivalentes em 10 %, 50 % e 90 % do volume acumulado, respectivamente. Os diâmetros médios $D[3,2]$: diâmetro médio de área superficial ou diâmetro médio de Sauter, que representa a média dos diâmetros de esferas de área superficial igual a das partículas reais (Equação 4), e $D[4,3]$: diâmetro médio de volume ou diâmetro médio de De Brouckere, que representa a média dos diâmetros de esferas de volume igual ao das partículas reais (Equação 5), também foram determinados, onde f_N é a fração em base numérica de partículas de diâmetro dv (Fan et al., 1998).

$$dv = \left(\frac{6v}{\pi} \right)^{1/3} \quad (3)$$

$$D[3,2] = \frac{\int_0^{\infty} dv^3 f_N(dv) d(dv)}{\int_0^{\infty} dv^2 f_N(dv) d(dv)} \quad (4)$$

$$D[4,3] = \frac{\int_0^{\infty} dv^4 f_N(dv) d(dv)}{\int_0^{\infty} dv^3 f_N(dv) d(dv)} \quad (5)$$

A liberação do recheio das micropartículas lipídicas foi determinada no tempo inicial e a cada 30 min por duas horas, seguindo a metodologia descrita por Ribeiro et al. (2012), com algumas modificações. Todos os ensaios e as análises foram realizados em triplicata e os resultados foram analisados por análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey a nível de significância de 5 %.

3.RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Eficiência de encapsulação

A Tabela 1 apresenta os percentuais de eficiência de encapsulação total (ET) e efetiva (EE) e de ácido ascórbico superficial (AA_S) das micropartículas lipídicas produzidas. As micropartículas produzidas apresentaram altos valores de ET, variando entre $89 \pm 6 \%$ e $98 \pm 3 \%$, sem diferença estatisticamente significativa entre os experimentos ($p > 0,05$). Gamboa et al. (2011) produziram micropartículas lipídicas por *spray chilling* contendo α -tocoferol, e também foram observados valores de ET de até 95 %.

Os resultados de EE e AA_S mostraram que a quantidade de ácido oleico (AO) presente na mistura de ácidos graxos, utilizados como material de parede, tem influência positiva na capacidade de encapsulação da partícula, independente da proporção de material de parede e recheio utilizados, ou seja, nos experimentos contendo maiores quantidades de AO (30 %) altos valores de EE ($88 \pm 6 \%$) e baixas quantidades AA_S ($9 \pm 5 \%$) foram obtidos. Os experimentos contendo apenas 10 % do material de parede composto por AO apresentaram valores de EE abaixo de $67 \pm 4 \%$ e percentual de AA_S de até $37 \pm 4 \%$. Estes apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) dos experimentos contendo 30 % de AO como material de parede. Os ensaios contendo quantidade intermediária de AO na mistura (20 %) não apresentaram diferença significativa dos ensaios contendo 30 % ($p > 0,05$). A incorporação de lipídios líquidos em lipídios sólidos, a temperatura ambiente, resulta em uma grande perturbação na ordem do cristal. Assim, a matriz das micropartículas lipídicas resultantes apresenta imperfeições na estrutura cristalina e espaço suficiente para acomodar as moléculas de material de recheio, levando a uma capacidade maior de retenção deste (Hu et al., 2005).

3.2 Distribuição de tamanho e diâmetros médios das partículas

A Tabela 2 apresenta os diâmetros médios das micropartículas lipídicas produzidas nos 9 ensaios, mostrando que, assim como nos resultados de eficiência de encapsulação, a quantidade de AO presente na mistura de material de parede teve grande efeito no tamanho das partículas, visto que, com o aumento da concentração deste ácido graxo observa-se o aumento no diâmetro médio das partículas. Os valores de diâmetro médio de volume $D[4,3]$ das partículas com maior concentração de AO (30 %) no material de parede variaram de $45 \pm 14 \mu\text{m}$ a $67 \pm 3 \mu\text{m}$ ($p < 0,05$) e nas partículas com menor concentração de AO (10 %) de $18 \pm 1 \mu\text{m}$ a $24 \pm 5 \mu\text{m}$ ($p < 0,05$), sendo que o mesmo comportamento foi observado para o diâmetro médio de Sauter $D[3,2]$. Os ensaios com quantidade intermediária de AO (20 %), não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) dos demais ensaios. Ribeiro (2010) observou que maiores quantidades de AO na mistura de material de parede proporcionaram

um aumento no tamanho das partículas, justificando que o aumento na concentração deste ácido graxo provoca um aumento na viscosidade da emulsão atomizada e, quanto maior a viscosidade, maior o tamanho da partícula.

A Figura 1 (a, b e c) mostra a distribuição de tamanho das partículas, comparando as diferentes proporções entre os ácidos graxos (AL e AO) do material de parede em uma mesma proporção entre o material de parede (AG) e o material de recheio (AA). A partir dos gráficos observa-se que houve um deslocamento do pico para a direita com o aumento da concentração de AO na mistura, bem como o aumento da largura do pico, evidenciando a aglomeração e o aumento no tamanho das partículas nessas condições.

A distribuição de tamanho das partículas dos ensaios 1, 2 e 3 (30 % de AO) apresentou uma ampla faixa de diâmetros equivalentes de volume (dv) (Tabela 2), partindo de valores $dv(0,1)$ $5 \pm 3 \mu\text{m}$ até valores $dv(0,9)$ de $171 \pm 20 \mu\text{m}$. Essa ampla faixa de distribuição deve-se ao fato da presença de partículas aglomeradas à medida que a concentração de AO na mistura aumenta. Os ensaios com concentração intermediária (20 %) de AO na mistura de material de parede não apresentaram diferença significativa dos demais ensaios. Os ensaios com menor concentração de AO, ou seja, maior concentração de AL (saturado), apresentaram uma pequena faixa de distribuição de tamanho variando de $dv(0,1)$ de $7 \pm 1 \mu\text{m}$ a $dv(0,9)$ de $40 \pm 6 \mu\text{m}$. Alvim et al. (2013) produziram micropartículas lipídicas utilizando como material de parede misturas contendo o ácido esteárico (saturado) e notaram que com o aumento na concentração do lipídio saturado na mistura houve uma diminuição no tamanho das partículas produzidas por *spray chilling*.

3.3 Comportamento de liberação do recheio

A partir da Figura 2 é possível observar que as micropartículas de todos os ensaios apresentaram liberação instantânea, correspondente ao ácido ascórbico superficial, chamado efeito *burst* de liberação. Este fenômeno pode ser atribuído a um efeito de separação de fases durante a cristalização, visto que nessa etapa o lipídio cristaliza primeiro deixando o núcleo livre de material de recheio, levando a uma camada externa enriquecida de ingrediente ativo (Müller et al., 2002).

O perfil de liberação do material de recheio não apresentou diferença significativa entre os ensaios produzidos com a mesma proporção de AL e AO no material de parede ($p < 0,05$), ou seja, a proporção entre o material de parede e o material de recheio não apresentou efeito sobre o perfil de liberação das micropartículas produzidas. A maior taxa de liberação do recheio foi observada nos primeiros 30 min de reação para todos os ensaios. As micropartículas contendo maior proporção de AO (30 %) foram as que apresentaram maior

conteúdo de ácido ascórbico liberado nos 120 min, chegando a $93,3 \pm 0,1$ % nas partículas do ensaio 3. Comportamento semelhante foi observado nas partículas contendo menor quantidade de AO na mistura (10 %).

As partículas contendo 20 % de AO na mistura de material de parede foram as que apresentaram melhor retenção do recheio ao final dos 120 min de análise, sendo que as partículas do ensaio 5 tiveram apenas 37 ± 6 % do seu conteúdo liberado, mostrando diferença significativa ($p > 0,05$) dos ensaios com maior e menor concentração de AO. Hu et al. (2005) observaram que o aumento na quantidade de AO e a diminuição no tamanho da partícula (aumento da área superficial) são fatores que estão relacionados com maiores taxas de liberação do recheio.

4. CONCLUSÃO

A eficiência de encapsulação, a distribuição de tamanho e o comportamento de liberação do recheio das micropartículas lipídicas produzidas foram mais influenciados pela variação do teor de AO presente nas misturas de material de parede, que pela proporção de material de parede e material de recheio. Quanto maior a quantidade de AO presente, maior a eficiência de encapsulação, o diâmetro das partículas e a presença de aglomerados. Valores intermediários de AO no material de parede (20 %) proporcionaram liberação mais lenta do ácido ascórbico pelas partículas em meio aquoso.

REFERÊNCIAS

- abbas, S., Da Wei, C., Hayat, K. & Xiaoming, Z. 2012. Ascorbic Acid: Microencapsulation Techniques and Trends - A Review. *Food Reviews International*, 28, 343-374.
- Alvim, I. D., Souza, F. D. S. D., Koury, I. P., Jurt, T. & Dantas, F. B. H. 2013. Use of the spray chilling method to deliver hydrophobic components: physical characterization of microparticles. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 33, 34-39.
- Anal, A. K. 2010. Microencapsulation and application in delivery of bioactives in foods. *Innovative science: agriculture and food edition 1*, 34-40.
- AOAC 1997. *Official methods of analysis of the AOAC* Washington.
- Benassi, M. D. T. & Antunes, A. J. 1988. A comparison of metaphosphoric and oxalic acids as extractants solutions for the determination of vitamin C in selected vegetables. *Arquivos de Biologia e Tecnologia*, 31, 507-13.
- Chambi, H. N. M., Alvim, I. D., Barrera-Arellano, D. & Grosso, C. R. F. 2008. Solid lipid microparticles containing water-soluble compounds of different molecular mass: Production, characterisation and release profiles. *Food Research International*, 41, 229-236.

- Desai, K. G., Liu, C. & Park, H. J. 2006. Characteristics of vitamin C encapsulated tripolyphosphate-chitosan microspheres as affected by chitosan molecular weight. *Journal of Microencapsulation*, 23, 79-90.
- Fan, L.-S., Zhu, C., Fan, L.-S. & Zhu., C. 1998. *Size and Properties of Particles Principles of Gas-Solid Flows*, Cambridge University Press.
- Gamboa, O. D., Gonçalves, L. G. & Grosso, C. F. 2011. Microencapsulation of tocopherols in lipid matrix by spray chilling method. *Procedia Food Science*, 1, 1732-1739.
- Hu, F. Q., Jiang, S. P., Du, Y. Z., Yuan, H., Ye, Y. Q. & Zeng, S. 2005. Preparation and characterization of stearic acid nanostructured lipid carriers by solvent diffusion method in an aqueous system. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 45, 167-173.
- Leonel, A. J., Chambi, H. N. M., Barrera-Arellano, D., Pastore, H. O. & Grosso, C. R. F. 2010. Production and characterization of lipid microparticles produced by spray cooling encapsulating a low molar mass hydrophilic compound. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 30, 276-281.
- Müller, R. H., Radtke, M. & Wissing, S. A. 2002. Nanostructured lipid matrices for improved microencapsulation of drugs. *International Journal of Pharmaceutics*, 242, 121-128.
- Ribeiro, M. D. M. M. 2010. *Comportamento de misturas binárias lipídicas na produção de micropartículas por spray chilling e sua influência na liberação de recheio hidrofílico*. Mestre em Tecnologia de Alimentos. Dissertação, Universidade Estadual de Campinas.
- Ribeiro, M. D. M. M., Arellano, D. B. & Grosso, C. R. F. 2012. The effect of adding oleic acid in the production of stearic acid lipid microparticles with a hydrophilic core by a spray-cooling process. *Food Research International*, 47, 38-44.

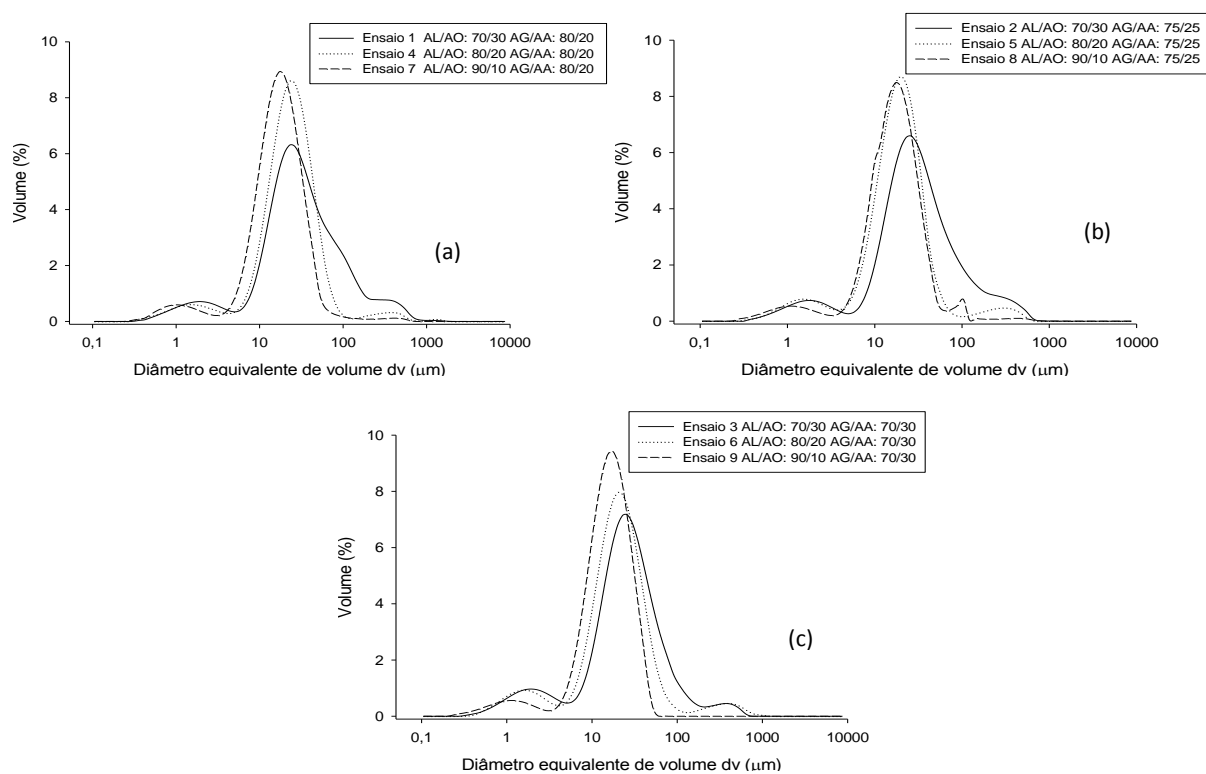


Figura 1 - Distribuição de tamanho das micropartículas produzidas nas diferentes proporções de ácidos graxos na mistura de material de parede e com proporção de AG/AA: 80/20, ensaios 1, 4 e 7 (a); AG/AA: 75/25, ensaios 2, 5 e 8 (b); e AG/AA: 70/30, ensaios 3, 6 e 9 (c).

Tabela 1 - Condições de produção das micropartículas e resultados de eficiências de encapsulação total e efetiva e ácido ascórbico superficial das micropartículas produzidas por *spray chilling*

Ensaio	AL/AO (p/p)	AG/AA (p/p)	Eficiência total (%)	Eficiência efetiva (%)	AA superficial (%)
1	70/30	80/20	97 ^a ± 3	88 ^d ± 6	9 ^a ± 5
2	70/30	75/25	95 ^a ± 3	85 ^{cd} ± 9	10 ^a ± 6
3	70/30	70/30	98 ^a ± 3	87 ^d ± 7	12 ^a ± 6
4	80/20	80/20	89 ^a ± 6	74 ^{abcd} ± 1	17 ^{ab} ± 5
5	80/20	75/25	93 ^a ± 3	80 ^{bcd} ± 4	13 ^{ab} ± 2
6	80/20	70/30	94 ^a ± 5	79 ^{bcd} ± 8	16 ^{ab} ± 4
7	90/10	80/20	94 ^a ± 5	67 ^{abc} ± 4	28 ^{bc} ± 5
8	90/10	75/25	93 ^a ± 1	58 ^a ± 3	37 ^c ± 4
9	90/10	70/30	97 ^a ± 5	63 ^{ab} ± 13	35 ^c ± 11

AL/AO: Ácido láurico/ácido oleico; AG: Mistura dos ácidos graxos (láurico e oleico); AA: Solução de ácido ascórbico 30% (p/p)

Letras diferentes, em uma mesma coluna, indicam diferença estatística significativa (p>0,05)

Tabela 2 - Diâmetros médios e distribuição de tamanho das micropartículas lipídicas

Ensaio	AL/AO (p/p)	AG/AA (p/p)	D[4,3] (µm)	D[3,2] (µm)	dv(0,1) (µm)	dv(0,5) (µm)	dv(0,9) (µm)
1	70/30	80/20	67 ^c ± 3	12 ^b ± 2	8 ^a ± 3	35 ^c ± 11	159 ^c ± 20
2	70/30	75/25	66 ^c ± 4	11 ^{ab} ± 2	8 ^a ± 2	31 ^{bc} ± 5	171 ^c ± 20
3	70/30	70/30	45 ^{bc} ± 14	8 ^{ab} ± 1	5 ^a ± 3	22 ^{abc} ± 2	96 ^b ± 41
4	80/20	80/20	38 ^{ab} ± 4	9,9 ^{ab} ± 0,8	8 ^a ± 1	24 ^{abc} ± 2	55 ^{ab} ± 4
5	80/20	75/25	33 ^{ab} ± 14	8,5 ^{ab} ± 0,8	6 ^a ± 2	20 ^{ab} ± 2	60 ^{ab} ± 35
6	80/20	70/30	40 ^{ab} ± 13	9 ^{ab} ± 3	5 ^a ± 4	22 ^{ab} ± 5	55 ^{ab} ± 20
7	90/10	80/20	24 ^{ab} ± 5	8,4 ^{ab} ± 0,9	7 ^a ± 1	18,1 ^a ± 0,9	40 ^{ab} ± 6
8	90/10	75/25	23 ^{ab} ± 3	8,0 ^{ab} ± 0,6	7 ^a ± 1	18 ^a ± 1	36 ^{ab} ± 1
9	90/10	70/30	18 ^a ± 1	7,5 ^a ± 0,5	6,7 ^a ± 0,7	17 ^a ± 1	33 ^a ± 2

Letras diferentes, em uma mesma coluna, indicam diferença estatística significativa (p>0,05)

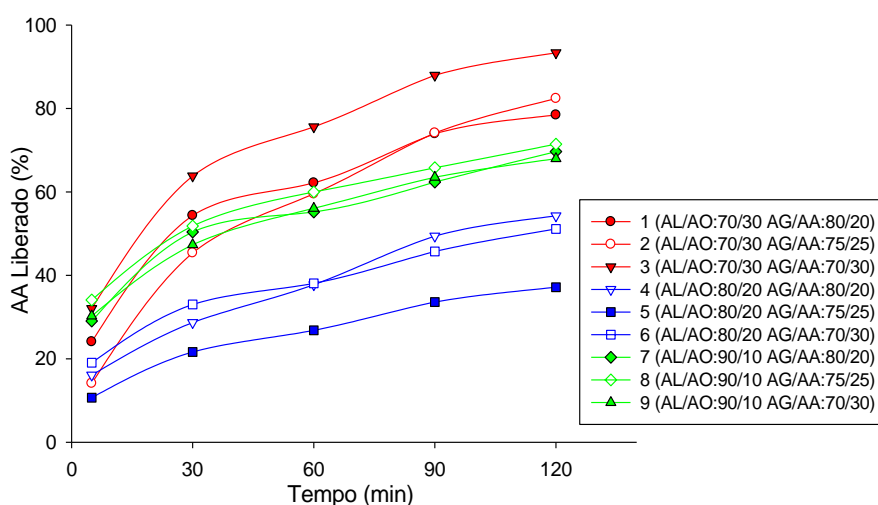


Figura 2 - Percentual de ácido ascórbico liberado pelas micropartículas lipídicas em meio aquoso, por 120 min

HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DO FARELO DA CASCA DE BANANA PARA PRODUÇÃO DE NANOFIBRAS DE CELULOSE

Tibolla, H.; Pelissari, F. M.; Menegalli, F. C. Heloisa Tibolla ^{1,*}, Franciele Maria Pelissari ², Florencia Cecilia Menegalli ¹

¹ Departamento de Engenharia de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, CEP 13083-862, Campinas-SP, Brasil. *E-mail: heloisatibolla@gmail.com

² Instituto de Ciência e Tecnologia, Engenharia de Alimentos, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Campus JK, CEP 39100-00, Diamantina-MG, Brasil.

1.INTRODUÇÃO

O crescente interesse no desenvolvimento de processos e produtos sustentáveis tem incentivado à exploração de celulose, recurso natural, renovável e biodegradável. A celulose apresenta características comparáveis aos polímeros sintéticos e tem potencial para substituí-los. Este é o componente principal das paredes celulares das fibras vegetais, o que torna este material ideal para produção de nanopartículas usadas como agente de reforço em compósitos, pois apresenta boa resistência mecânica, rigidez e alto grau de cristalinidade (SIQUEIRA et al., 2010a). O cultivo e industrialização da banana gera uma considerável quantidade de resíduos a base lignocelulósicas. Uma fonte pouco pesquisada é a casca da banana que além de ser uma fonte rica em celulose, seu processamento agregará valor a este subproduto (ELANTHIKKAL et al., 2010). O isolamento das nanofibras de celulose envolve uma série de processos. Diferentes métodos têm sido desenvolvidos desde a década de 80. Acredita-se que a hidrólise enzimática tem uma abordagem mais promissora por oferecer condições de hidrólise mais suaves e ambientalmente amigáveis, visto que não envolvem solventes ou reagentes químicos (SIQUEIRA et al., 2010a). Neste processo de hidrólise as enzimas xilanases são comumente usadas. A ação inicial destas é na hidrólise catalítica das frações hemicelulósicas presente na fibra vegetal. Após, atacam as ligações glicosídicas β -1,4 localizadas entre as unidades de glicose que formam a celulose, causando uma clivagem hidrolítica das mesmas. A eficiência da hidrólise enzimática depende de vários fatores, tais como o tempo de hidrólise (h), concentração de substrato (%), concentração de enzima (U/g), pH e temperatura (MEYABADI & DADASHIAN, 2012). O presente trabalho teve como objetivo produzir nanofibras de celulose (NFCs) por hidrólise enzimática com xilanase através de um planejamento fatorial fracionado 2^{4-1} com três pontos centrais, a partir da casca de banana da variedade “Terra” (*Musa paradisiaca*).

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Obtenção da Matéria-Prima e Produção de Nfcs

O farelo foi obtido a partir da casca de banana verde da variedade “Terra” (*M. Paradisiaca*). As cascas foram removidas manualmente e imersas em solução de metabissulfito de potássio 1%, durante 24 h. Após, foram dispostas em bandejas de alumínio e levadas a estufa de convecção forçada para secagem, por 24 h na temperatura de 60 °C. As cascas secas foram submetidas à moagem em moinho de facas (marca Marconi, mod. MA 340, SP-Brasil), obtendo-se um farelo, o qual foi submetido à lavagem com álcool etílico e, novamente, realizou-se uma secagem em estufa a 60 °C por 24 h. O material obtido foi peneirado de modo a obter micropartículas com tamanho final de 200 mesh. O farelo foi submetido a um pré-tratamento, para remoção das frações amorfas (hemicelulose e lignina). Foi tratado com solução alcalina de KOH 5 % na proporção de 1:20 (farelo:solução), sob agitação vigorosa por 14 h, em temperatura ambiente. Após, o substrato foi submetido a lavagens sucessivas com água deionizada e centrifugado (10.000 rpm, 5 °C, 15 min). A hidrólise enzimática foi realizada conforme o método adaptado de Pääkko et al. (2007). Este tratamento foi conduzido utilizando a enzima xilanase, a qual além de remover frações hemicelulósicas, tem capacidade de isolar NFCs. Os experimentos foram realizados empregando-se um planejamento fatorial fracionado 2^{4-1} com três pontos centrais, conforme matriz de experimentos mostrada na Tabela 1. Os fatores em estudo foram: temperatura, pH, concentração de enzima [E] e concentração de substrato [S]. A hidrólise foi conduzida em erlenmeyers de 250 mL contendo o substrato (concentração em experimento), adicionado de 50 mL de tampão acetato 0,1 M (pH em experimento) e levado a banho termostatizado (temperatura em experimento) por 10 min, para a adaptação do meio. Após, adicionou-se à mistura a enzima xilanase (concentração em experimento), permanecendo na temperatura em estudo, sob agitação (150 rpm), por 24 h. Passado o período de hidrólise, a temperatura da reação foi alterada para 80 °C, para ocorrer a desnaturação da enzima, em um período de 30 min. As suspensões foram centrifugadas (10.000 rpm, 5 °C, 15 min) e submetidas a lavagens sucessivas com água deionizada. Ao final destes processos obteve-se uma suspensão coloidal de NFCs. Os ensaios foram realizados em triplicata.

2.2 Caracterização Das Nanofibras De Celulose

A análise de grupos funcionais presentes nos diferentes tipos de nanofibras foi realizada por espectroscopia de absorção na região do infravermelho de 4000 a 650 cm^{-1} e com uma resolução de 4 cm^{-1} , com 20 varreduras (VICENTINI et al., 2005). A cristalinidade

do farelo e das NFCs foi determinada por difração de raios X (DRX). Os difratogramas foram obtidos à temperatura ambiente (25°C) sob ângulo 2θ variando de 5° a 70° em passos de 0,02°/seg, usando o software Diffrac Plus Evaluation 11, Release 2005. O índice de cristalinidade (I_{cr} , %) foi calculado empregando a Equação 1, seguindo o método proposto por Segal et al (1959). Nesse método, o I_{cr} é calculado a partir da razão de alturas entre a máxima intensidade do pico cristalino, localizado em 2θ entre 22-24° (I_{200}) e a intensidade de difração do material não cristalino, localizada em 2θ , 18°. (I_{non-cr}). A visualização das características morfológicas do farelo foi realizada através de um microscópio eletrônico de varredura (LEO, modelo LEO 440i, Cambridge, Inglaterra), operando a uma voltagem de 10 kV. A distribuição do tamanho e diâmetro médio das partículas do farelo foi analisada usando um aparelho com difração de laser (Laser Scattering Spectrometer Mastersizer 2000, MALVERN Instruments Ltda.,U.K). O diâmetro médio das partículas (DMP) foi determinado com base no diâmetro médio de uma esfera de mesmo volume da partícula (diâmetro médio de Brouckere $D_{4,3}$) conforme a Equação 2, o qual é geralmente utilizado para caracterizar partículas de pó.

$$I_{cr} = \frac{I_{200} - I_{non-cr}}{I_{200}} \times 100 \quad (1)$$

$$DMP_2 = D_{4,3} = \frac{n_1 D_1^4}{n_1 D_1^3} \quad (2)$$

A visualização da estrutura morfológica e determinação do diâmetro médio das NFCs foram realizadas pela técnica de microscopia eletrônica de transmissão (MET), empregando uma tensão de aceleração de 80 kV. Em suspensão aquosa neutra, a carga superficial, potencial zeta (PZ) e o comprimento das nanofibras foram analisados por um Zetasizer (Malvern Instruments, Ltda., U.K). Para cada tipo de nanofibra foram obtidas seis medidas do comprimento e seis medidas do potencial zeta, realizadas à temperatura ambiente (25 °C).

3.RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1.1 Morfologia, distribuição do tamanho e diâmetro médio do farelo

As características morfológicas por MEV estão apresentadas na Figura 1 (a). O farelo apresenta grânulos compactos e de diferentes tamanhos. Observa-se que os grânulos apresentam formato arredondado e, também formato oval elipsoide. Assim, o farelo pode ser definido por ter uma estrutura irregular. A análise de distribuição de tamanho de partícula mostra que há uma grande variação no diâmetro dos grânulos do farelo. Na Figura 2 pode-se observar que o tamanho é predominante na faixa de 13 a 26 μm . O farelo da casca de banana apresentou uma distribuição modal, com diâmetro médio de 22,4 μm .

3.1.2 Análise dos grupos funcionais do farelo e das NFCs

As amostras foram analisadas comparando os espectros de infravermelho do farelo não tratado (FNT), do farelo com tratamento alcalino (FTA) apresentados na Figura 3 e das nanofibras de celulose (NFCs) apresentados na Figura 4, verificando os grupos funcionais presentes na composição de cada. A ampla banda na região de 3311 cm^{-1} e 3364 cm^{-1} , que corresponde ao alongamento -OH , foi observada nos espectros de todas as amostras. De acordo com diferentes autores, esta banda é característica e específica da celulose (YANG et al., 2007; SIQUEIRA et al., 2010b). O FNT apresenta uma pequena banda na região de 2925 cm^{-1} e, este pico aparece com maior intensidade no FTA e nas NFCs, o qual é originário das vibrações do estiramento das ligações C-H, características da hemicelulose e celulose (CHERIAN et al., 2008). Nota-se que a celulose começa a aparecer com mais intensidade após os tratamentos realizados no farelo, ou seja, houve uma remoção de frações de lignina, conseqüente aumento da área cristalina da celulose. Isto pode ser também confirmado pelo fato de aparecer picos intensos na região de 1350 cm^{-1} , atribuídas à deformação C-H presente em celulose, nos espectros de FTA e NFCs e, ao contrário, observa-se um pico muito enfraquecido nesta região para o FNT. Nota-se que a etapa de deslignificação foi eficiente e removeu parte da lignina e da hemicelulose do farelo, visto que o FNT apresenta vibrações na banda de 1253 cm^{-1} (alongamento C=O do anel guaiacil), a qual não aparece para as amostras de FTA e NFCs (ZULUAGA et al., 2009). De acordo com Cherian et al (2008), as bandas nesta região (1253 cm^{-1}) são referentes a frações de hemicelulose. As bandas entre 1154 cm^{-1} e 1079 cm^{-1} observadas nos espectros de FNT, são drasticamente enfraquecidas para o FTA e quase nem são notadas nas amostras de NFCs. Estas regiões são originadas da presença de xilana associadas com hemicelulose, tal fato, explica que houve a remoção das frações hemicelulósicas a partir da hidrólise enzimática com xilanase (ZULUAGA et al., 2009). Em todos os espectros de NFCs e de FTA observam-se picos na região de 896 cm^{-1} , que conforme descrito por Alemdar & Sain (2008), indicam estruturas típicas de celulose. Esta banda não aparece para a amostra de FNT, porém, observa-se um pico na região próxima a 840 cm^{-1} que é característico dos grupos C-H de anéis aromáticos presentes na lignina (MARCOVICH et al., 1996).

3.1.3 Índice de cristalinidade do farelo e das NFCs

A cristalinidade do farelo (FNT e FTA) e das NFCs foram analisados e comparados entre si, para verificar a eficiência dos métodos aplicados. A partir dos resultados obtidos pode-se observar que o FNT apresenta um baixo índice de cristalinidade (15%), isto pode ser explicado devido presença de frações amorfas (hemicelulose e lignina) em resíduos

lignocelulósicos. Após o farelo ser submetido um pré-tratamento, a cristalinidade do mesmo aumentou consideravelmente (46,8%), confirmando a eficiência do tratamento alcalino na remoção de parte das regiões amorfas, aumentando a acessibilidade da enzima às fibras de celulose. Este método promove a ruptura da ligação de hidrogênio na estrutura da celulose aumentando a área superficial cristalina, além de operar reduzindo certa quantidade de lignina, ceras e óleos que recobrem a superfície externa da parede celular da fibra (ALEMDAR & SAIN, 2008). Todas as NFCs produzidas por hidrólise enzimática apresentaram maior índice de cristalinidade em relação ao FNT e ao FTA, variando entre 41,5% a 61,0%. A partir dos resultados obtidos através do planejamento fatorial fracionado 2^{4-1} , é possível notar que as amostras de NFCs não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) nos níveis de estudo. Os maiores efeitos observados foi dos fatores temperatura (2,87) e concentração de enzima (2,82), ou seja, ao passar estes valores do nível inferior (35 °C e 30 U/g, respectivamente) para o nível superior (55 °C e 70 U/g, respectivamente), é possível aumentar o índice de cristalinidade da amostra.

3.1.4 Morfologia e tamanho da partícula das NFCs

A presença de nanofibras de celulose foi confirmada pela análise MET. A Figura 1(b) apresenta a estrutura das NFCs obtidas a partir do planejamento fatorial fracionado 2^{4-1} . A imagem sugere que as frações amorfas foram removidas após o tratamento químico (lignina) e hidrólise enzimática com xilanase (hemicelulose). A dimensão das NFCs foi caracterizada quanto ao diâmetro (D), comprimento (L) e relação de aspecto (L/D). As NFCs obtidas por hidrólise enzimática apresentaram diâmetro variando entre 5,1 a 71,9 nm e comprimento de 615,0 a 3633,3 nm. A relação de aspecto varia na faixa de 41,0 a 242,2, encontrando o intervalo ideal para utilização como agente de reforço em compósitos. Estes resultados são similares ao encontrado para outras nanofibras de celulose obtidas por hidrólise enzimática, como a derivada de algodão (HASSAN et al., 2011).

2.3.2 Potencial zeta das NFCs

Em água neutra, todas as suspensões exibiram potencial zeta alto e negativo. Para as NFCs não houve diferença significativa ($p > 0,05$) nos níveis de estudo para o valor de PZ, o qual variou entre -21,2 e -29,5 mV. Porém, é possível observar que a temperatura exerce maior efeito (5,1) sobre o resultado. A temperatura e a concentração de substrato apresentam efeito positivo, enquanto o pH e a concentração de enzima apresentam efeito negativo. De acordo com (THOLSTRUP SEJERSEN et al., 2007), para partículas pequenas (nm) é necessário que o valor de PZ seja alto, pois este irá conferir estabilidade, ou seja, a suspensão coloidal resistirá à agregação e aumentará o grau de dispersão em compósitos.

4. CONCLUSÃO

Os estudos do presente trabalho, sobre a hidrólise enzimática com xilanase para obter nanofibras de celulose a partir de fontes vegetais, evidenciaram que estes biopolímeros são materiais promissores para a produção de nanocompósitos, devido a suas propriedades de reforço, além do seu caráter renovável e biodegradável. Diante da necessidade de desenvolver métodos de obtenção de celulose amigáveis com o meio ambiente, o emprego da hidrólise enzimática proporciona um processo mais suave em comparação com a hidrólise ácida, visto que não utiliza reagentes químicos. Apesar do uso de um tratamento alcalino na etapa de deslignificação, a concentração de KOH (5%) pode ser considerada baixa, não oferecendo riscos ambientais abusivos. Além disso, este foi eficaz na remoção de grande parte das frações amorfas presente na fibra, obtendo-se um substrato com maior área cristalina, passando de 15% (FNT) para 46,8% (FTA) o índice de cristalinidade. As nanofibras obtidas neste estudo apresentaram diâmetros entre 5,1 a 71,9 nm, evidenciando que os tratamentos enzimáticos desenvolvidos através do planejamento fatorial fracionado 2^{4-1} com três pontos centrais, foram eficazes para obtenção de fibras em tamanho nanométrico a partir de um subproduto agrícola (casca de banana). As nanopartículas isoladas da casca de banana podem ser consideradas um agente de reforço promissor quando aplicado em materiais compósitos de alto desempenho.

Tabela 1: Matriz de experimentos do Planejamento Fatorial Fracionado 2^{4-1} com três pontos centrais

Experimento	(X ₁) [*]	(X ₂) ^{**}	(X ₃) ^{***}	(X ₄) ^{****}
N1	-1 (35)	-1 (4,0)	-1 (30)	-1 (15)
N2	+1 (55)	-1 (4,0)	-1 (30)	+1 (35)
N3	-1 (35)	+1 (6,0)	-1 (30)	+1 (35)
N4	+1 (55)	+1 (6,0)	-1 (30)	-1 (15)
N5	-1 (35)	-1 (4,0)	+1 (70)	+1 (35)
N6	+1 (55)	-1 (4,0)	+1 (70)	-1 (15)
N7	-1 (35)	+1 (6,0)	+1 (70)	-1 (15)
N8	+1 (55)	+1 (6,0)	+1 (70)	+1 (35)
N9	0 (44)	0 (5,0)	0 (50)	0 (25)
N10	0 (45)	0 (5,0)	0 (50)	0 (25)
N11	0 (45)	0 (5,0)	0 (50)	0 (25)

*X1: Temperatura (°C); **X2: pH; ***X3: [E] (U/g), sendo U definido como quantidade de xilose liberada por minuto por mL de enzima; ****X4: [S] (%)

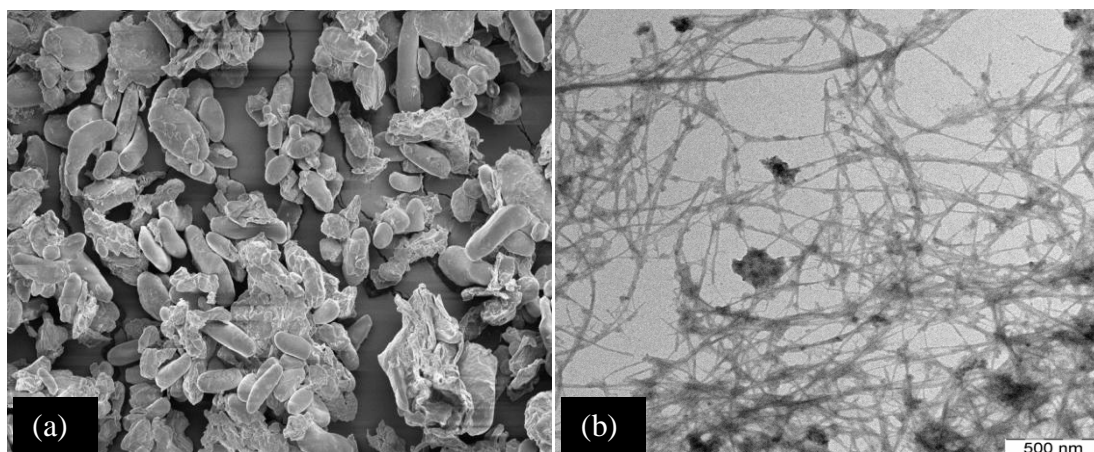


Figura 1 - Microestrutura do farelo da casca de banana verde (a); Imagem TEM das nanofibras de celulose obtidas por hidrólise enzimática (b)

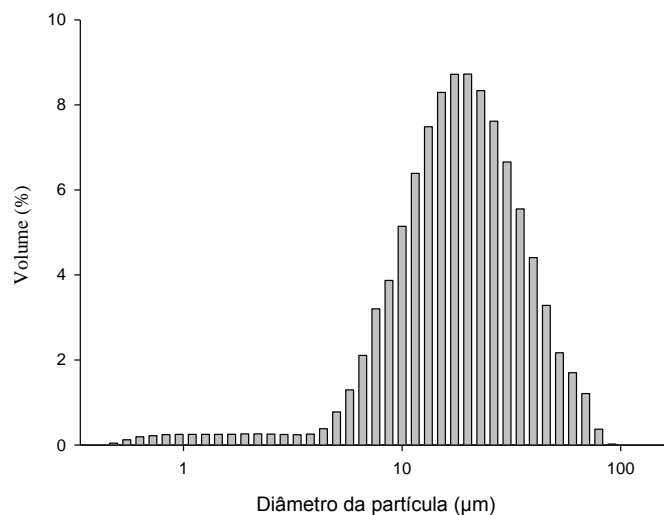


Figura 2 - Distribuição do tamanho do diâmetro dos grânulos do farelo da casca de banana

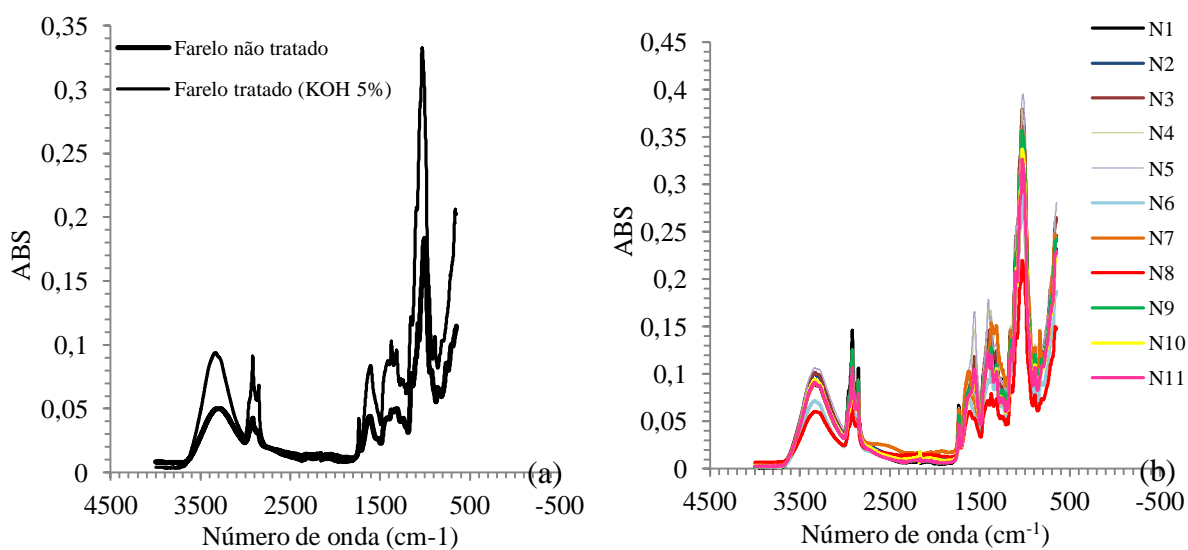


Figura 3 - Espectros de FTIR do farelo não tratado e do farelo tratado com KOH 5% (a) e das nanofibras de celulose (N1 ao N11) (b)

REFERÊNCIAS

- alemdar, A. & Sain, M. 2008. Biocomposites from wheat straw nanofibers: Morphology, thermal and mechanical properties. *Composites Science and Technology*, 68, 557-565.
- Cherian, B. M., Pothan, L. A., Nguyen-Chung, T., Mennig, G., Kottaisamy, M. & Thomas, S. 2008. A novel method for the synthesis of cellulose nanofibril whiskers from banana fibers and characterization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 5617-5627.
- Elanthikkal, S., Gopalakrishnapanicker, U., Varghese, S. & Guthrie, J. T. 2010. Cellulose microfibrils produced from banana plant wastes: Isolation and characterization. *Carbohydrate Polymers*, 80, 852-859.
- Hassan, M., Hassan, E. & Oksman, K. 2011. Effect of pretreatment of bagasse fibers on the properties of chitosan/microfibrillated cellulose nanocomposites. *Journal of Materials Science*, 46, 1732-1740.
- Marcovich, N. E., Reboledo, M. M. & Aranguren, M. I. 1996. FTIR spectroscopy applied to woodflour. *Composite Interfaces*, 4, 119-132.
- Meyabadi, T. F. & Dadashian, F. 2012. Optimization of Enzymatic Hydrolysis of Waste Cotton Fibers for Nanoparticles Production Using Response Surface Methodology. *Fibers and Polymers*, 13, 313-321.
- Pääkko, M., Ankerfors, M., Kosonen, H., Nykänen, A., Ahola, S., Österberg, M., Ruokolainen, J., Laine, J., Larsson, P. T., Ikkala, O. & Lindström, T. 2007. Enzymatic hydrolysis combined with mechanical shearing and high-pressure homogenization for nanoscale cellulose fibrils and strong gels. *Biomacromolecules*, 8, 1934-1941.
- Segal, L., Creely, J. J., Martin, A. E. & Conrad, C. M. 1959. An Empirical Method for Estimating the Degree of Crystallinity of Native Cellulose Using the X-ray Diffractometer. *Textile Research Journal*, 29, 786-794.
- Siqueira, G., Bras, J. & Dufresne, A. 2010a. Cellulosic Bionanocomposites: A Review of Preparation, Properties and Applications. *Polymers*, 2, 728-765.
- Siqueira, G., Bras, J. & Dufresne, A. 2010b. *Luffa cylindrica* as a lignocellulosic source of fiber, microfibrillated cellulose, and cellulose nanocrystals. *BioResources*, 5, 727-740.
- Tholstrup Sejersen, M., Salomonsen, T., Ipsen, R., Clark, R., Rolin, C. & Balling Engelsen, S. 2007. Zeta potential of pectin-stabilised casein aggregates in acidified milk drinks. *International Dairy Journal*, 17, 302-307.
- Vicentini, N. M., Dupuy, N., Leitzelman, M., Cereda, M. P. & Sobral, P. J. A. 2005. Prediction of cassava starch edible film properties by chemometric analysis of infrared spectra. *Spectroscopy Letters*, 38, 749-767.
- Yang, H., Yan, R., Chen, H., Lee, D. H. & Zheng, C. 2007. Characteristics of hemicellulose, cellulose and lignin pyrolysis. *Fuel*, 86, 1781-1788.
- Zuluaga, R., Putaux, J. L., Cruz, J., Vélez, J., Mondragon, I. & Gañán, P. 2009. Cellulose microfibrils from banana rachis: Effect of alkaline treatments on structural and morphological features. *Carbohydrate Polymers*, 76, 51-59.

PRODUÇÃO DE NANOFIBRAS DE CELULOSE A PARTIR DA CASCA DE BANANA POR HIDRÓLISE QUÍMICA E ENZIMÁTICA

Heloisa Tibolla ^{1,*}, Franciele Maria Pelissari ², Florencia Cecilia Menegalli ¹

¹ Departamento de Engenharia de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, CEP 13083-862, Campinas-SP, Brasil. *E-mail: heloisatibolla@gmail.com

² Instituto de Ciência e Tecnologia, Engenharia de Alimentos, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Campus JK, CEP 39100-00, Diamantina-MG, Brasil.

1.INTRODUÇÃO

Recentemente, diversas alternativas têm sido buscadas para minimizar o impacto ambiental causado pelos polímeros convencionais, uma delas é o uso de polímeros biodegradáveis. Dentre os polímeros naturais, as fibras vegetais têm sido amplamente utilizadas na produção de nanopartículas por serem potenciais fontes de celulose. São inúmeras as vantagens oferecidas pelas nanofibras de celulose (NFCs), visto que apresentam características comparáveis às fibras sintéticas possuindo grande potencial para substituí-las. A adição das NFCs promove melhorias nas propriedades mecânicas, térmicas e de permeabilidade de compósitos, além de oferecer vantagens econômicas e estratégicas (SIQUEIRA et al., 2009).

O cultivo e a industrialização da banana gera uma considerável quantidade de resíduos ricos em celulose (ELANTHIKKAL et al., 2010). Diante de tal fato, dentre as fibras celulósicas, o uso da casca de banana como matéria-prima para isolar NFCs mostra-se promissor.

O desafio atual é o desenvolvimento de novas técnicas de processamento para a obtenção das NFCs, visto que as condições de processo para atingir dimensões nanométricas afetam as características morfológicas das nanopartículas e conseqüentemente, seu desempenho como material de reforço em compósitos. O emprego de diversos métodos físicos, químicos, biológicos ou a combinação destes para a separação de NFCs tem sido avaliado (ROSA et al., 2010).

A tecnologia da hidrólise ácida possui uma longa história industrial e, recentemente, é a técnica que está sendo mais empregada. Este processo é mais comumente realizado com a utilização de ácido sulfúrico, devido à sua elevada resistência, que o torna essencial para a quebra das ligações glicosídicas existentes entre as cadeias de celulose e, além disso, proporciona a formação de suspensões aquosas de nanocristais mais estáveis, evitando sua

aglomeração (ZULUAGA et al., 2009). Porém, este método possui um número grande de inconvenientes, tais como a corrosão, modificação da superfície da celulose e a incompatibilidade com o meio ambiente por produzir resíduos químicos.

A hidrólise enzimática é um método que está em rápido desenvolvimento, ainda não é comercializada e pouco estudada, mas acredita-se que a hidrólise enzimática tem uma abordagem mais promissora e pode ser utilizada na separação das fibrilas de celulose, fornecendo condições de hidrólise mais suaves. Nesta técnica, as enzimas atacam as regiões amorfas das fibras lignocelulósicas, que possuem menor densidade e maior área de contato, causando uma clivagem hidrolítica das ligações glicosídicas β -1,4 localizadas entre as unidades de glicose que formam a celulose. As xilanases são enzimas hidrolíticas que catalisam aleatoriamente os compostos de hemicelulose presente na fibra vegetal (PÄÄKKO et al., 2007).

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi investigar o potencial da casca de banana para produção de NFCs, a partir de diferentes métodos (hidrólise química e enzimática), a fim de aplicá-las como agente de reforço em compósitos, além de proporcionar uma finalidade para este resíduo agroindustrial.

2.MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Materiais

O farelo foi obtido a partir da casca de banana verde da variedade “Terra” (*Musa Paradisiaca*). Todos os reagentes químicos utilizados neste trabalho foram de grau analítico.

2.2 Preparação do farelo

As bananas verdes foram lavadas e descascadas. As cascas foram imersas em solução de metabissulfito de potássio 1%, durante 24 h, para inibir a oxidação. A seguir, as cascas foram dispostas em bandejas de alumínio e submetidas à secagem em estufa de convecção forçada a 60 °C por 24 h. As cascas secas foram moídas em um moinho de facas (Marconi, modelo MA340, SP-Brasil) de modo a obter um farelo. Este farelo, por sua vez, foi submetido à lavagem com álcool etílico a fim de eliminar as frações lipídicas. O material foi novamente seco em estufa a 60 °C por 24 h, peneirado através de uma peneira de 200 mesh para eliminar as partículas maiores e estocado a 4 °C em frascos.

2.3 Produção de nanofibras de celulose

2.3.1 Hidrólise ácida

Nanofibras de celulose foram isoladas a partir do farelo da casca de banana usando o tratamento químico descrito por Andrade-Mahecha (2012) e Zuluaga et al. (2009), com

algumas modificações. O objetivo principal deste tratamento é eliminar componentes não celulósicos como pectinas, hemicelulose e lignina. Primeiramente o farelo foi tratado com uma solução de KOH 5% (proporção de 1:20) sob agitação mecânica à temperatura ambiente durante 14 h. O resíduo insolúvel foi então deslignificado com uma solução de NaClO₂ 1% e pH 5,0, ajustado com ácido acético 10%, a 70 °C por 1 h. O resíduo foi novamente submetido ao mesmo processo de branqueamento para uma deslignificação mais eficaz. Foi realizado um segundo tratamento com solução de KOH sob as mesmas condições que na primeira etapa. Finalmente, o resíduo insolúvel foi submetido à hidrólise ácida com uma solução de H₂SO₄ 1% a 80 °C por 1 h. A cada etapa do tratamento químico, o resíduo insolúvel foi neutralizado com solução alcalina ou ácida (KOH 5% ou ácido acético 10%), dependendo do pH, e lavado extensivamente com água deionizada utilizando centrifugação (10000 rpm, 5 °C, 20 min), até pH neutro. O resíduo final foi então diluído em água deionizada e a suspensão armazenada a 4 °C em recipiente.

2.3.2 Hidrólise enzimática

O farelo foi, primeiramente, tratado com solução alcalina de KOH 5 % na proporção de 1:20 (farelo:solução), por 14 h, sob agitação vigorosa e em temperatura ambiente. Após, o substrato foi submetido a lavagens sucessivas com água deionizada e centrifugado após cada lavagem (10.000 rpm, 5 °C, 15 min). A hidrólise enzimática foi realizada conforme o método adaptado de (PÄÄKKO et al., 2007). Para a remoção das frações hemicelulósicas, realizou-se um tratamento do substrato com enzima xilanase (50 U/g_{farelo}), sendo que U é definido como quantidade de xilose liberada por minuto por mL de enzima. Além de atacar as regiões amorfas, a enzima xilanase consegue atuar na clivagem das ligações glicosídicas β-1,4, isolando as NFCs. O substrato, na concentração de 25%, foi adicionado de tampão acetato pH 5,0, permanecendo sob agitação na temperatura de 45 °C por 24 h. Após, a suspensão foi submetida a banho termostatizado na temperatura de 80 °C por 30 minutos, para desnaturação da enzima e então, a polpa restante foi lavada com água deionizada e separada por centrifugação (10.000 rpm, 5 °C, 15 min). Ao final destes processos obteve-se uma suspensão coloidal.

2.4 Caracterização

A microestrutura do farelo da casca de banana foi avaliada por microscopia eletrônica de varredura (MEV) (JEOL, modelo JSM-5800LV, Japão) utilizando uma voltagem de aceleração de 10 kV.

A morfologia e o diâmetro das nanofibras de celulose foram investigados com um microscópio eletrônico de transmissão (MET) (Zeiss, modelo 902 CEM, Alemanha), utilizando uma voltagem de aceleração de 80 kV.

O tamanho das partículas do farelo foi determinado utilizando um analisador de difração a laser (Malvern Instruments Ltd., Mastersizer 2000 - modelo APA2000, Inglaterra), e a distribuição do tamanho de comprimento das nanofibras de celulose foram medidas com um analisador de espalhamento de luz para nanopartículas (Malvern Instruments Ltd., Zetasizer Nano Series - modelo Nano ZS, Inglaterra). Todos os experimentos foram realizados em triplicata e os resultados são apresentados como valores médios.

A análise de difração de raios-X (DRX) foi realizada utilizando um difratômetro (Siemens, modelo D5005, Alemanha). O índice de cristalinidade (I_c) das amostras foi quantitativamente estimado a partir dos dados da intensidade da difração seguindo o método de Segal et al. (1959).

Os espectros de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foram registrados em um espectrofotômetro (PerkinElmer, modelo Spectrum One, EUA) adaptado com um dispositivo de reflectância total atenuada.

3.RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Aparência das suspensões de nanofibras

A sequência das etapas realizadas na hidrólise química e enzimática para isolar as nanofibras de celulose da casca de banana encontra-se esquematizada na Figura 1. Observou-se que conforme o farelo foi passando pelas etapas do tratamento químico (Figura 1^a), a cor marrom inicial do material (etapa: 1º tratamento alcalino) mudou para castanho claro (etapa: 1º branqueamento), até que, finalmente, para uma cor branca (etapas: 2º branqueamento, 2º tratamento alcalino e hidrólise ácida). Já no tratamento enzimático, a cor marrom inicial do material (etapa: tratamento alcalino) mudou para castanho claro (etapa: hidrólise enzimática). Durante os tratamentos, componentes como amido, pectina e hemicelulose são hidrolisados pela ação da solução alcalina e da enzima xilanase, enquanto que o clorito de sódio (NaClO_2) permite a remoção de lignina e taninos, que produzem a cor marrom característica do farelo da casca de banana. Devido a não utilização de uma etapa de branqueamento, a suspensão das nanofibras obtidas por hidrólise enzimática apresentaram uma coloração final castanha clara, o que demonstra a presença de lignina nesta amostra. Contudo é importante ressaltar que o tratamento químico possui mais etapas do que o tratamento enzimático o que torna a

obtenção das nanofibras de celulose mais trabalhosa por esse método, além de gerar grandes quantidades de resíduos químicos.

3.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) e transmissão (MET)

Os tratamentos químico e enzimático promoveram uma mudança estrutural, bem como alterações químicas nas fibras. O MEV do farelo da casca de banana (Figura 2a) foi realizado para investigar a estrutura destas fibras. O farelo apresentou uma superfície irregular, com relevos e alguns resíduos da moagem. A presença de grânulos de amido devido ao contato da casca com a polpa de banana pode ser visto na microestrutura.

A presença de nanofibras foi confirmada pela análise de MET, como mostrado na Figura 2b e c. Estas imagens indicam visualmente a remoção dos materiais amorfos que cimentam em torno dos feixes de fibras (pectina, hemicelulose e lignina) após a realização dos tratamentos. As micrografias de MET das suspensões também revelaram que as nanofibras de celulose exibiram uma estrutura de rede clássica no qual observou-se a presença de filamentos celulósicos longos e emaranhados.

O diâmetro das fibras foi determinado por um programa de análise de imagem (ImageJ) utilizando as imagens de MET. Em geral, as nanofibras de celulose obtidas por hidrólise química e hidrólise enzimática apresentaram diâmetros de 10,9 e 14,9 nm, respectivamente, mostrando que ambos os tratamentos foram eficazes para o isolamento de fibras de banana na escala nanométrica.

3.3 Distribuição de tamanho de partícula

As nanofibras de celulose foram caracterizadas quanto ao diâmetro (D), comprimento (C) e relação de aspecto (C/D). As nanofibras isoladas da casca de banana por hidrólise química e hidrólise enzimática apresentaram diâmetro de 10,9 e 14,9 nm, comprimento de 454,9 e 2689,7 nm e relação de aspecto de 42,7 e 180,5, respectivamente. Os valores encontrados na relação de aspecto situam-se na faixa de comprimento de nanofibras que têm um grande potencial para ser utilizadas como agentes de reforço em compósitos, principalmente aquelas obtidas pelo método enzimático cujo valor foi maior.

Todas as amostras apresentaram uma distribuição modal e o farelo da casca de banana teve um diâmetro médio de 24,5 μm .

3.4 Difração de raios-X (DRX)

Observando a Figura 3a, constata-se que a celulose submetida aos tratamentos é mais cristalina do que as fibras de banana sem tratamento. A partir do padrão de difração de raios-X, fica evidente que o farelo apresenta uma grande porção amorfa. A presença de amido na difração de raios-X do farelo também pode ser verificada pelo típico pico padrão do tipo B

em $2\theta = 17^\circ$. O aumento na cristalinidade das nanofibras de celulose é devido à remoção parcial dos componentes amorfos, hemicelulose e lignina, durante o tratamento químico ou enzimático.

O padrão de difração das nanofibras de celulose apresentou dois grandes picos. Estes picos de difração em $2\theta = 16^\circ$ e $2\theta = 22^\circ$ são padrões típicos de celulose I e também uma indicação do alto grau de cristalinidade na estrutura das nanofibras (ROSA et al., 2010). Resultados semelhantes foram obtidos com nanofibras de celulose extraídas da casca de amoreira (LI et al., 2009).

O índice de cristalinidade (I_c) das amostras calculadas pelo método de Segal et al. (1959) foram: farelo = 15,0%, nanofibras por hidrólise química = 58,6% e nanofibras por hidrólise enzimática = 49,2%. Estes resultados confirmam que ambos os tratamentos afetaram o grau de cristalinidade das nanofibras de celulose, sendo a hidrólise química mais efetiva na remoção dos compostos amorfos presentes nas fibras. Em relação à amostra de farelo há um aumento de cerca de 300% na cristalinidade com o tratamento.

3.5 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A Figura 3b mostra os espectros de FTIR do farelo da casca de banana e das nanofibras de celulose obtidas pela hidrólise química e hidrólise enzimática. A tendência hidrofílica da fibra de banana e das nanofibras de celulose é refletida através das bandas de absorção na região de $3650-3000\text{ cm}^{-1}$, que está relacionada com os grupos -OH presentes nas suas composições. A banda a 2918 cm^{-1} é devida às vibrações dos grupos C-H alifáticos saturados da celulose e hemicelulose.

A banda em 1731 cm^{-1} presente no farelo é atribuída aos grupos éster acetil e urônicos de hemiceluloses e/ou a ligações éster dos grupos carboxilas presentes na lignina. Esta banda desapareceu com os tratamentos devido à remoção de parte das hemiceluloses e lignina. Adicionalmente, o desaparecimento das bandas em 1525 cm^{-1} (vibrações dos anéis aromáticos), 1238 cm^{-1} (anel guaiacil com estiramento de C=O) e 761 cm^{-1} (deformações C-H) nos espectros das nanofibras também indicam a remoção de grande parte da lignina (ZULUAGA et al., 2009).

A vibração dos grupos C-O-C do anel de piranose apresenta uma banda proeminente a 1022 cm^{-1} . O aumento da intensidade desta banda mostra o aumento do teor de celulose. A banda em 893 cm^{-1} nos espectros das amostras de nanofibras é típica da estrutura da celulose.

4.CONCLUSÃO

As nanopartículas isoladas da casca de banana podem ser consideradas um agente de reforço promissor quando aplicado em materiais compósitos de alto desempenho.

AGRADECIMENTOS

Os autores gostariam de agradecer o apoio financeiro concedido pela CAPES e o CNPq.

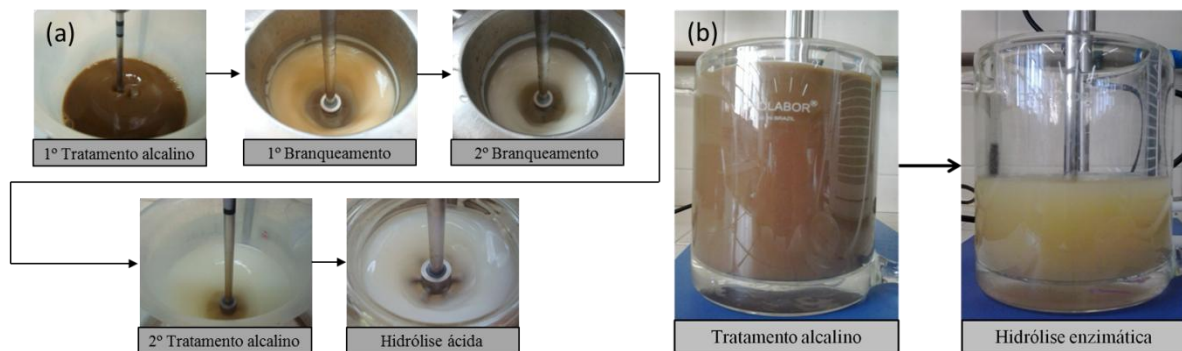


Figura 1. Fotos das etapas envolvidas para a obtenção de nanofibras de celulose da casca de banana: tratamento químico (a) e tratamento enzimático (b).

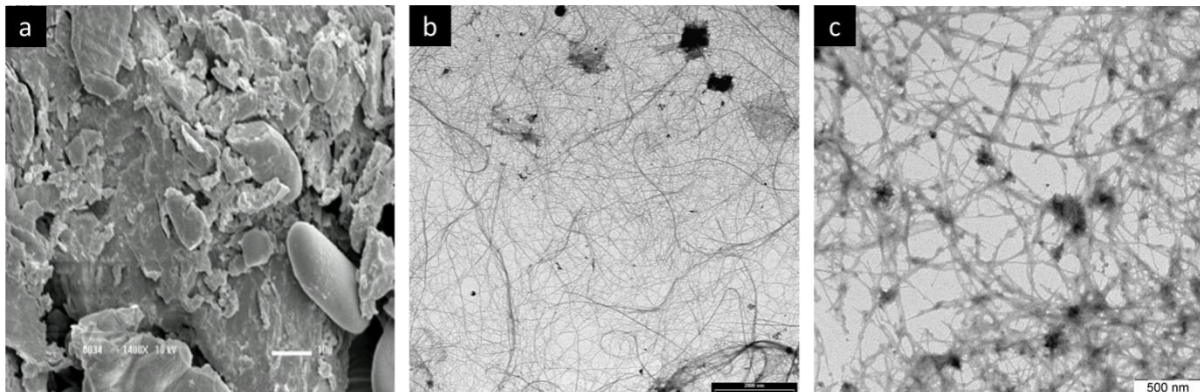


Figura 2. (a) MEV do farelo da casca de banana (1000x, escala = 10 µm). MET das nanofibras de celulose (1400x, escala = 2000 µm): tratamento químico (b) e tratamento enzimático (c).

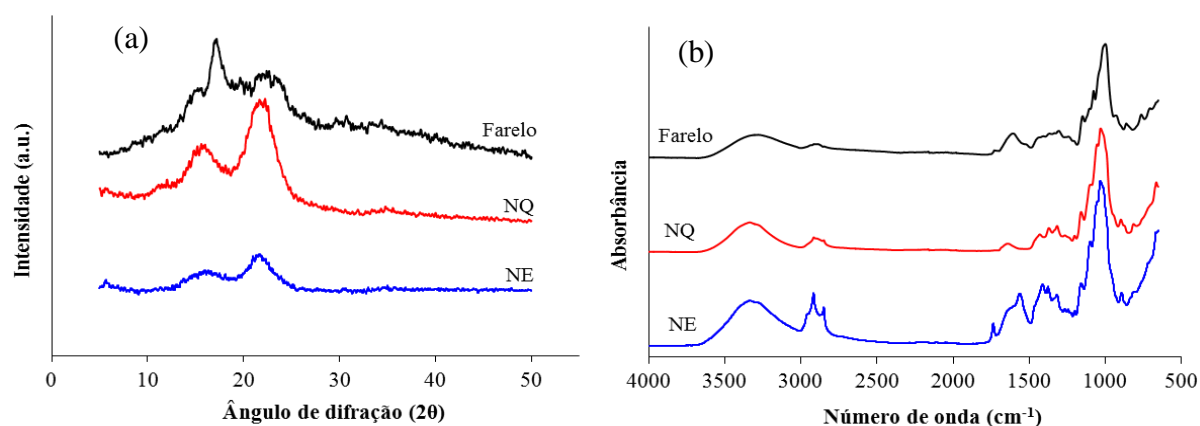


Figura 3. (a) Difrações de raios-X do farelo da casca de banana e das nanofibras de celulose obtidas por hidrólise química (NQ) e hidrólise enzimática (NE). (b) Espectros de FTIR do farelo da casca de banana e das nanofibras de celulose.

BIBLIOGRAFIA

Andrade-Mahecha, M.M. Microcompósitos, nanocompósitos e coberturas a base de materiais biodegradáveis obtidos a partir do biri (*Canna indica* L.). Tese de doutorado, Universidade Estadual de Campinas, 2011.

Elanthikkal, S.; Gopalakrishnapanicker, U.; Varghese, S.; Guthrie, J. T. Cellulose microfibrils produced from banana plant wastes: Isolation and characterization. *Carbohydrate Polymers*, v. 80, p. 852-859, 2010.

Li, R.; Fei, J.; Cai, Y.; Li, Y.; Feng, J.; Yao, J. Cellulose whiskers extracted from mulberry: A novel biomass production. *Carbohydrate Polymers*, v. 76, p. 94-99, 2009.

Pääkko, M., Ankerfors, M., Kosonen, h., Nykänen, A., Ahola, s., Osterberg, M., Ruokolainen, J., Laine, J., Larsson, P. T., Ikkala, O. & Lindström, T. 2007. Enzymatic hydrolysis combined with mechanical shearing and high-pressure homogenization for nanoscale cellulose fibrils and strong gels. *Biomacromolecules*, 8, 1934-1941.

Rosa, M.F.; Medeiros, E.S.; Malmonge, J.A.; Gregorski, K.S.; Wood, D.F.; Mattoso, L.H.C.; Glenn, G.; Orts, W.J.; Imam, S.H. Cellulose nanowhiskers from coconut husk fibers: Effect of preparation conditions on their thermal and morphological behavior. *Carbohydrate Polymers*, v. 81, p. 83-92, 2010.

Segal, L.; Creely, J.J.; Martin, A.E.; Conrad, C.M. An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using the X-ray diffractometer. *Text Res J*, v. 29, p. 786-794, 1959.

Siqueira, G.; Bras, J.; Dufresne, A. Cellulose whiskers versus microfibrils: Influence of the nature of the nanoparticle and its surface functionalization on the thermal and mechanical properties of nanocomposites. *Biomacromolecules*, v. 10, p. 425-432, 2008.

Zuluaga, R.; Putaux, J.L.; Cruz, J.; Vélez, J.; Mondragon, I.; Gañán, P. Cellulose microfibrils from banana rachis: Effect of alkaline treatments on structural and morphological features. *Carbohydrate Polymers*, v. 76, p. 51-59, 2009.

EFFECTO DE LA IMPREGNACIÓN A VACÍO Y LA TEMPERATURA DE SECADO SOBRE LOS COMPONENTES FUNCIONALES Y LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE UN SNACK OBTENIDO CON ZUMO DE ARÁNDANOS.

Castagnini J.M.⁽¹⁾, Betoret N.⁽¹⁾, Fito P.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo, Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, España.

1.INTRODUCCIÓN

El consumo de arándanos (*Vaccinium corymbosum*) despierta actualmente un gran interés debido a su elevada capacidad antioxidante relacionada con su contenido en antocianinas y fenoles totales. El consumo de alimentos antioxidantes parece ser de gran importancia para contrarrestar el estrés oxidativo asociado a enfermedades crónicas (Dai, Gupte, Gates, & Mumper, 2009). Se ha afirmado que los compuestos fenólicos son antioxidantes multifuncionales ya que pueden actuar como agentes reductores, antioxidantes donadores de protones y/o inactivadores de radicales libres (Rice-Evans, Miller, & Paganga, 1996).

Si bien en España la producción y el consumo permanecen reducidos (en 2011 se exportaron 1700 t de arándanos (FAO)), en Argentina es una actividad productiva de gran importancia para las provincias de Buenos Aires, Entre Ríos y Tucumán. En el año 2011 se exportaron 16000 t (Comité Argentino de Blueberries). Debido al excedente productivo que no puede ser comercializado para el mercado en fresco, existe una necesidad de encontrar alternativas industriales que consideren al arándano como ingrediente para la fabricación de nuevos productos.

La operación de impregnación a vacío combinada con el secado por aire caliente permite la obtención de una gama de productos funcionales naturales (Alzamora et al., 2005; E. Betoret, Betoret, Vidal, & Fito, 2011; E. Betoret, Betoret, et al., 2012; E. Betoret, Sentandreu, et al., 2012; N. Betoret et al., 2003; N. Betoret, Andrés, Seguí, & Fito, 2007; Fito et al., 2001; Hironaka et al., 2011; Schulze, Peth, Hubbermann, & Schwarz, 2012), en los que la incorporación del zumo de arándano puede aumentar en gran medida sus propiedades antioxidantes. En este sentido, el estudio del efecto de las operaciones de procesado sobre los componentes activos resulta fundamental debido a sus roles beneficiosos como micronutrientes (Skrede, Wrolstad, & Durst, 2000).

En el presente trabajo se valora la operación de impregnación de manzana con zumo de arándano, y se estudia el efecto de la operación de impregnación a vacío y el secado por aire caliente a diferentes temperaturas sobre el contenido en las principales antocianinas, delfidina, cianidina y malvidina, y la capacidad antioxidante del zumo de arándano incorporado a la estructura matricial de manzana fresca y posteriormente deshidratada.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Reactivos y estándares

Los solventes para cromatografía, metanol y acetonitrilo Multisolvente, grado HPLC se adquirieron en Scharlab S.L., ácido fórmico 98-100% en Scharlab S.L. Los estándares para el método cromatográfico: Cianidina-3-O-glucósido (Kuromanin chloride), Delfidina-3-O-glucósido (Myrtillin chloride), Malvidina-3-O-glucósido (Oenin chloride) se adquirieron en Extrasynthese S.A. Para determinar la capacidad antioxidante se utilizó el 2,2-Difenil-1-picrilhidrazil (DPPH•) de Aldrich (Sigma-Aldrich Co. LLC.) y el 2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) (ABTS) de Fluka (Sigma-Aldrich Co. LLC.). El reactivo de Folin-Ciocalteu y el ácido gálico monohidratado ($C_6H_2(OH)_3COOH \cdot H_2O$) se adquirieron en Scharlab S.L. El pack enzimático Viscozyme® L (Novozymes Corp.), es un complejo multi-enzimático de *Aspergillus aculeatus* que degrada las paredes celulares. Contiene β -glucanasas (endo-1,3(4)-) y actividades celulasas, hemicelulasas, y xilanasas, la temperatura óptima está comprendida entre 50-60°C.

2.2 Materia prima

El zumo se elaboró a partir de arándanos azules (*Vaccinium corymbosum*) congelados de calidad industrial procedentes de una cooperativa de Asturias, España. En primer lugar, se descongeló y trituró la fruta. Inmediatamente después, se realizó un tratamiento de despectinización enzimática adicionando 0.1% (p/p) del pack comercial Viscozyme® L. Este tratamiento se realizó a 50°C durante 2.5h. A continuación se separaron los sólidos por filtración con un tamiz de 0.5 mm y se realizó una pasteurización en un intercambiador de placas a 90°C-20s.

Para preparar el snack con zumo de arándano, se utilizaron manzanas de la variedad Granny Smith, adquiridas en el mercado local. Las manzanas se cortaron en discos de 5mm de espesor, 65mm de diámetro exterior y 20mm de diámetro interior.

2.3 Elaboración del snack enriquecido

En la Figura 1, se detalla el proceso de elaboración del snack. En primer lugar se aplicó la operación de impregnación a vacío. Para ello se utilizó una cámara de vacío (Heraeus vacuum oven, Thermo Fisher Scientific Inc.). Los discos de manzana se sumergieron en el zumo de arándanos y se aplicó una presión de 50mbar durante 10 minutos. A continuación se restauró la presión atmosférica manteniendo las rodajas sumergidas en el zumo durante 10 minutos más. Las manzanas impregnadas fueron secadas durante 28, 26 y 12 horas a 30, 40 y 50°C respectivamente, en un secador de bandejas CLW 750 TOP+ (Pol-Eko-Aparatura SP.J., Polonia) con flujo de aire transversal, velocidad del aire de 2 m/s, y una renovación de aire del 50%.

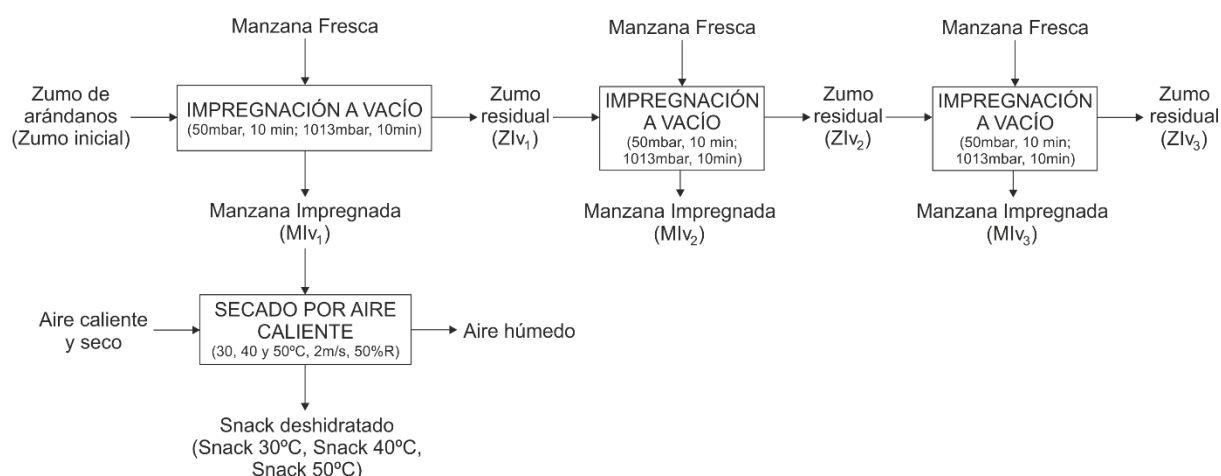


Figura 2. Diagrama del procedimiento experimental.

Además, se evaluó el efecto de la operación de impregnación en la calidad funcional del zumo de arándano. Como se observa en la Figura 1, con el mismo zumo se realizaron tres impregnaciones sucesivas. Después de cada etapa se extrajeron muestras de zumo para ser analizadas.

2.4 Contenido en antocianinas monoméricas totales

El contenido en antocianinas monoméricas totales del zumo de arándanos antes y después de cada impregnación se determinó mediante el método del pH diferencial de Giusti and Wrolstad (2001). Se utilizó un buffer pH 1.0 (KCl 0.025 M) y otro a pH 4.5 (CH₃COONa 0.4 M). El contenido en antocianinas se cuantificó utilizando el coeficiente de extinción molar para la cianidina-3-glucósido (26900L/mol·cm). Los resultados se expresaron en miligramos equivalentes de cianidina-3-glucosido por litro de zumo.

Para el caso de la determinación de antocianinas totales en el snack secado a 40°C, se realizó una extracción sólido-líquido con metanol acidificado con ácido clorhídrico al 1%. La extracción se realizó en tres etapas con agitación. La primera etapa se llevó a cabo con 10mL de solvente de extracción durante 30 minutos y la segunda y tercera con 5mL durante 15 minutos. Los sólidos se separaron mediante centrifugación a 14000 rpm durante 10min a 10°C.

2.5 Contenido en antocianinas específicas

Se determinó el contenido en cianidina, delfidina y malvidina en el zumo de arándano antes de la impregnación a vacío, en la manzana fresca y en las muestras de manzana impregnadas con zumo y deshidratadas a 30, 40 y 50 °C.

Para determinar el contenido de antocianinas en las muestras sólidas, estas fueron previamente liofilizadas durante 48h. Cada rodaja se trituró y se realizó una extracción sólido-líquido con metanol acidificado con 0,1% de ácido clorhídrico. La extracción se realizó en tres etapas con agitación. La primera etapa se llevó a cabo con 10mL de solvente de extracción durante 30 minutos y la segunda y tercera con 5mL durante 15 minutos. Los sólidos se separaron mediante centrifugación a 14000 rpm durante 10min a 10°C. Las muestras de zumo se centrifugaron a 14000 rpm durante 10 min a 10°C para separar las partículas sólidas. Tanto las muestras sólidas extraídas con metanol como las de zumo centrifugado se filtraron con filtros de jeringa de nylon de 0,45µm (Scharlab S.L.)

El contenido en antocianinas se determinó mediante un Sistema Alliance® HPLC (Módulo de separaciones 2695, Waters Co. Milford, Mass., E.E. U.U.) acoplado a un detector de arreglo de diodos (DAD 2996, Waters Co. Milford, Mass., E.E. U.U.). La separación cromatográfica se realizó por medio de una columna Luna II C18 de 250mmx4.6mm y 5µm (Phenomenex, Torrance, E.E. U.U.). Se utilizó el método cromatográfico de Cassano, Conidi, & Drioli, 2011. El volumen de inyección fue de 10µL. Las antocianinas fueron identificadas por medio de sus tiempos de retención y espectros característicos comparados con los de los estándares (Cianidina-3-O-glucosido, Delfidina-3-O-glucosido, Malvidina-3-O-glucosido). La cuantificación se realizó por medio de curvas de calibrado entre 5-300ppm. Los resultados se expresaron en mg de antocianina por 100g de producto seco.

2.6 Fenoles totales

El contenido en fenoles totales se determinó mediante el método de Folin-Ciocalteu (Waterhouse, 2002). Como estándar se utilizó ácido gálico monohidratado

($C_6H_2(OH)_3COOH \cdot H_2O$). Los resultados fueron expresados en equivalentes de ácido gálico por litro de zumo.

2.7 Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante del snack se determinó mediante el método de DPPH (Brand-Williams, Cuvelier, & Berset, 1995) y del ABTS (Re et al., 1999). El procedimiento de extracción se realizó de la misma manera que en la determinación del contenido en antocianinas totales. Los resultados se expresaron para las muestras sólidas en miligramos equivalentes de ácido cítrico y miligramos equivalentes de trolox por 100g de producto o 100g de materia seca, para el método de DPPH y ABTS respectivamente. En el caso de la capacidad antioxidante de zumos, se expresó en miligramos equivalentes por litro de zumo.

2.8 Análisis estadístico

Por medio del software Statgraphics Centurion v. 16.1.11. se realizaron análisis de las varianzas (ANOVA) para determinar las diferencias estadísticamente significativas con un nivel de confianza del 95% ($p < 0.5$).

3.RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Efecto de las etapas de impregnación sobre las propiedades funcionales del zumo.

Para utilizar la impregnación a vacío como un método para producir rodajas de manzana enriquecidas con zumo de arándanos es necesario que se cumpla la condición de que el zumo se introduzca en los poros y espacios intercelulares de la matriz de la manzana de manera homogénea (E. Betoret, Sentandreu, et al., 2012). Una impregnación a vacío homogénea significa que todos los componentes presentes en el líquido de impregnación se incorporan por igual en la matriz alimenticia. En este caso, es posible estimar mediante el modelo desarrollado por Fito et al. (1996), la cantidad de compuestos funcionales que se pueden introducir en la matriz de la manzana.

Se comprobó la homogeneidad de la impregnación a vacío analizando por espectrofotometría, el contenido de antocianinas monoméricas totales y fenoles totales del zumo de arándano durante 3 impregnaciones sucesivas. Adicionalmente se determinó la capacidad antioxidante como índice de degradación de las propiedades del zumo.

En la Tabla 1 se presentan los contenidos en antocianinas, fenoles y capacidad antioxidante del zumo después de cada etapa de impregnación a vacío.

Tabla 1. Propiedades funcionales del zumo de arándanos después de cada impregnación.

	Antocianinas	Fenoles totales	DPPH	ABTS
Zumo inicial	447.03±43.03 ^a	1979.8±307.7 ^a	1603.9±154.5 ^a	3499.24±181.14 ^a
Zumo Iv₁	443.7±28.5 ^a	1874±254 ^a	1604.0±165.6 ^a	3357.4±190.7 ^a
Zumo Iv₂	421.8±35.4 ^a	1690.84±211.16 ^a	1552.8±113.9 ^a	3317.7±80.8 ^a
Zumo Iv₃	404.4±23.9 ^a	1817.0±257.8 ^a	1522.20±135.07 ^a	3420.3±58.3 ^a

La concentración está expresada en mg cianidina-3-glucosido/L para las antocianinas; en mg GAE/L para los fenoles totales; en mg equivalentes de ácido ascórbico/L para la capacidad antioxidante por el método DPPH; en mg equivalentes de trolox/L para la capacidad antioxidante por el método ABTS.

Como se puede observar, no existen diferencias significativas para ninguno de los análisis realizados, pudiéndose afirmar que la impregnación se realiza de forma homogénea. Además, la capacidad antioxidante del zumo se mantiene en el mismo nivel tanto para la determinación con el radical DPPH como con el radical ABTS, no produciéndose una pérdida de calidad del líquido de impregnación.

Mediante el procedimiento experimental descrito por Fito et al., (1996) para la operación de impregnación a vacío, es posible determinar la cantidad de líquido incorporado y la deformación volumétrica de la muestra durante la operación (X (m³ de líquido incorporado/ m³ de muestra) y γ (m³ de variación de volumen/ m³ de muestra)). Cuando el proceso de impregnación ocurre de forma homogénea, con estos parámetros y las características fisicoquímicas de las disoluciones de impregnación es posible estimar, mediante la ecuación 1, el contenido de componentes funcionales que se incluirán en la matriz alimenticia porosa (Fito et al., 2001).

$$x_i^I = \frac{x_i^0 + X \frac{\rho^{IS}}{\rho^0} y_i}{1 + X \frac{\rho^{IS}}{\rho^0}} \quad \text{Ecuación 1}$$

Dónde: x_i^I : fracción másica del componente i en el producto impregnado, x_i^0 : fracción másica del componente i en la muestra sin impregnar, y_i : fracción másica del componente i en el líquido de impregnación, ρ^{IS} : densidad de la disolución de impregnación (1.06 g/cm³), ρ^0 : densidad de la muestra sin impregnar (0.813 g/cm³).

La impregnación de rodajas de manzana con zumo de arándano proporcionó un valor de $X=0.179\pm 0.005 \text{ m}^3$ zumo incorporado/ m^3 manzana fresca y un valor de $\gamma=-0.048\pm 0.013 \text{ m}^3$ variación de volumen/ m^3 manzana (Castagnini, Betoret, & Fito, 2012), resultando, para las antocianinas específicas (delfidina, cianidina y malvidina) el contenido teórico que se muestra, junto con el valor experimental determinado por HPLC en el líquido de impregnación y en las muestras impregnadas, en la tabla 2.

Tabla 2. Contenido en antocianinas individuales en el zumo y la manzana impregnada

	y_i (experimental)	x_i^T (teórico)	x_i^T (experimental)
Delfidina	$2.0\pm 0.2 \cdot 10^{-5}$	$3.81 \cdot 10^{-6}$	$4.03\pm 0.17 \cdot 10^{-6}$
Cianidina	$2.89\pm 1.3 \cdot 10^{-6}$	$5.30 \cdot 10^{-7}$	$4.1\pm 0.2 \cdot 10^{-6}$
Malvidina	$4.1\pm 0.4 \cdot 10^{-5}$	$7.72 \cdot 10^{-6}$	$7.6\pm 0.4 \cdot 10^{-6}$

En la tabla 2 se puede observar una gran similitud entre los valores estimados y los experimentales. Sólo en el caso de la cianidina, factores no controlados originan un valor experimental superior al valor teórico. La homogeneidad con la que ocurre la incorporación de líquido en el interior de los poros y espacios extracelulares de la manzana fresca, junto con la ausencia de efecto de la presión de vacío sobre ninguno de los componentes funcionales, demuestran la utilidad de la operación para la incorporación de zumo de arándano a rodajas de manzana, así como la posibilidad de estimar la composición del producto final de forma teórica.

3.2 Efecto de la temperatura de secado sobre las propiedades funcionales de las rodajas impregnadas.

Las frutas deshidratadas generalmente tienen un mayor contenido total en energía, mayor densidad nutricional, contenido en fibra y significativamente mayores capacidades antioxidantes comparadas con las frutas frescas, como consecuencia de la concentración que se produce durante el secado (Bennett et al., 2011). Sin embargo, el proceso de secado también puede dar lugar a pérdidas en el contenido total en polifenoles (Vinson, Zubik, Bose, Samman, & Proch, 2005).

El análisis por HPLC permite identificar, comprobar y cuantificar la incorporación de antocianinas en el snack.

En la Figura 3 se pueden observar los cromatogramas correspondientes al zumo, manzana fresca, manzana impregnada y snack secado a 30, 40 y 50°C. Se puede apreciar que

efectivamente el zumo de arándano se incluye en la matriz de la manzana y que todos los picos del zumo se reproducen en las muestras impregnadas y secadas con aire caliente.

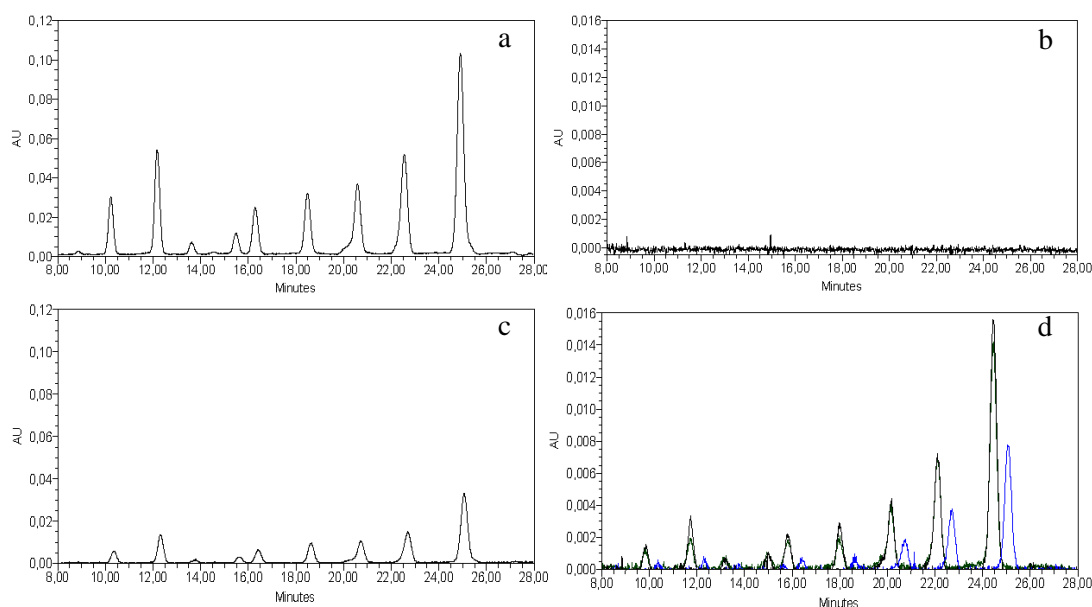


Figura 3. Cromatogramas de las muestras analizadas por HPLC. a. Zumo de arándanos pasteurizado; b. manzana fresca; c. manzana impregnada; d: Snack 30°C (verde), Snack 40°C (negro) y Snack 50°C (azúl)

Tabla 3. Contenido en antocianinas específicas determinadas por HPLC

mg/100g	Delfidina	Cianidina	Malvidina	Total
Zumo Pasteurizado (mg/L)	21.35±2.09	3.07±1.34	43.23±4.67	67.65
Manzana Impregnada	3.14±0.16	3.416±0.107	5.96±0.17	12.52
Manzana seca 30°C	1.30±0.14	0.0261±0.0116	1.99±0.15	3.32
Manzana seca 40°C	1.753±0.097	0.35±0.08	2.8±0.3	4.90
Manzana seca 50°C			2.855±0.107	2.86

En la tabla 3 se puede observar una disminución del contenido en antocianinas debido al efecto del aire caliente. La temperatura de 40°C es la que menor efecto tiene sobre el contenido en antocianinas. Los parámetros cinéticos de la degradación de las antocianinas en alimentos sólidos y semisólidos pueden depender de la estabilidad individual de la antocianina, además de la influencia de la composición, estructura, propiedades físico-químicas, presencia de otros compuestos tales como flavonas y / o ácidos orgánicos en el alimento (Patras, Brunton, O'Donnell, & Tiwari, 2010). La degradación térmica de las antocianinas ha sido extensamente estudiada para diversas frutas y sus productos procesados.

En el secado de frutas, el contenido en antocianinas totales de pasas de uva blanca sin semilla (*V. vinífera* L.) es menor que para las uvas frescas (Rababah et al., 2012). El secado al sol de arilos de granada produce pérdidas del orden del 83% del contenido total de antocianinas (Jaiswal, DerMarderosian, & Porter, 2010). Sin embargo, en uvas de las variedades Merlot y Syrah secadas a 40°C y a una humedad relativa constante del 20%, se han informado tanto decrementos como incrementos en el contenido individual de antocianinas (Marquez, Dueñas, Serratos, & Merida, 2012). Los incrementos en antocianinas individuales pueden explicarse debido al efecto de concentración provocado por la pérdida de agua por evaporación y por el efecto de la ruptura de las células de la piel de las uvas. El decremento en el contenido de antocianinas puede estar relacionado con las distintas reacciones en las que pueden intervenir las antocianinas, como polimerización, copigmentación, reacciones con taninos y productos de adición (Marquez et al., 2012). Adicionalmente, se han obtenido pérdidas del orden del 21-25% de fenoles totales, 30-43% de antocianinas totales y 50-60% de la actividad antioxidante en arándanos osmodeshidratados con soluciones de sacarosa, glucosa y fructosa y secados por aire caliente a 70°C (Giovannelli, Brambilla, & Sinelli, 2013).

Si se considera la sumatoria del contenido en estas tres antocianinas determinadas por HPLC, el proceso de secado provoca una disminución del 70, 56 y 75% para las temperaturas de 30, 40 y 50°C respectivamente.

Bueno et al., 2012 ha estimado el consumo recomendado de antocianinas en el rango de 12.5-250mg/día dependiendo de las diferencias nutricionales, sociales y culturales de las poblaciones estudiadas, así como también de las metodologías aplicadas. Teniendo en cuenta que el contenido total de antocianinas (espectrofotométrico) es de 54.1 ± 6.5 mg cianidinaa-3-glucosido/100g snack (40°C), una ración de 40g del snack aportaría 21.6mg de antocianinas por lo cual podría asumirse que el consumo de este alimento contribuye con una parte interesante de la ingesta diaria recomendada de antocianinas y fenoles.

Desde el punto de vista de la capacidad antioxidante, en la Figura 3 se puede observar que aunque existe una disminución en el contenido de antocianinas, el producto obtenido conserva una alta capacidad antioxidante. Esto se debe al efecto de concentración producido por el secado y a que estas “pérdidas” en antocianinas y fenoles totales, no significan necesariamente una pérdida sino también una reconversión química (Bennett et al., 2011). En este sentido, mientras que los polifenoles de frutas secas han demostrado ser biodisponibles (Vinson et al., 2005), la biodisponibilidad relativa de las formas no oxidadas frente a las oxidadas no ha sido sistemáticamente comparada.

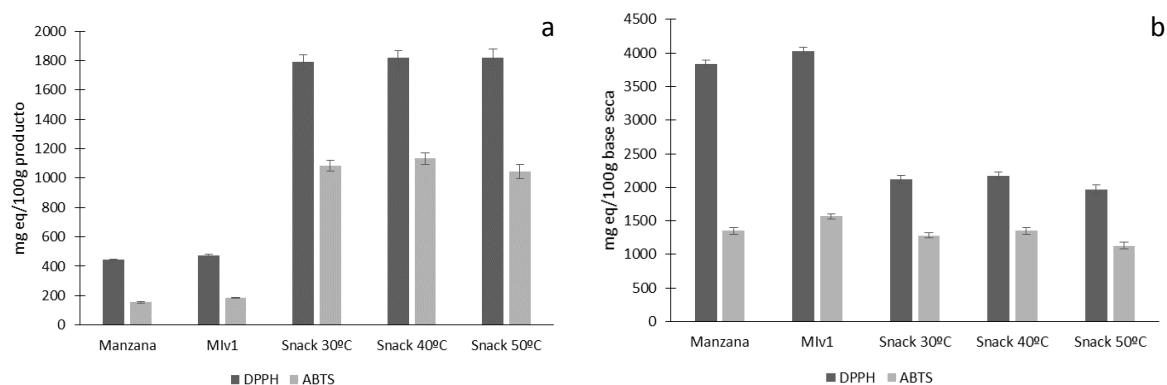


Figura 3. Capacidad antioxidante de las distintas muestras por 100g de producto (a) y por 100g de base seca (b). Concentración expresada en miligramos equivalentes de ácido ascórbico para el método del DPPH y miligramos equivalentes de trolox para el método del ABTS.

Las diferencias en cuanto a los resultados de capacidad antioxidante obtenidos por el método DPPH y ABTS se atribuyen a la diferente naturaleza de los compuestos antioxidantes contenidos en el zumo de arándano y la manzana y sus distintas capacidades para reaccionar con las especies radicales empleadas (Del Caro, Piga, Vacca, & Agabbio, 2004).

4.CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos indican que la operación de impregnación a vacío con zumo de arándano se realiza de manera homogénea, no produce degradación en las propiedades funcionales del zumo y permite incorporar la cantidad esperada de antocianinas, predicha por el modelo hidrodinámico. Si bien la operación de secado supone pérdidas del orden del 70 y 75% para las temperaturas de secado de 30 y 50°C, a 40°C se logra mantener alrededor de un 50% del contenido inicial de antocianinas determinadas por HPLC. Asimismo, desde el punto de vista de la capacidad antioxidante se observa que a 40°C es posible mantener un alto poder antioxidante en el producto final.

5.BIBLIOGRAFÍA

Alzamora, S. M., Salvatori, D., Tapia, M. S., López-Malo, A., Welti-Chanes, J., & Fito, P. (2005). Novel functional foods from vegetable matrices impregnated with biologically active compounds. *Journal of Food Engineering*, 67(1-2), 205–214. Retrieved November 4, 2013, from <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0260877404003474>

- Bennett, L. E., Jegasothy, H., Konczak, I., Frank, D., Sudharmarajan, S., & Clingeffer, P. R. (2011). Total polyphenolics and anti-oxidant properties of selected dried fruits and relationships to drying conditions. *Journal of Functional Foods*, 3(2), 115–124. Elsevier Ltd. Retrieved November 5, 2013, from <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1756464611000314>
- Betoret, E., Betoret, N., Arilla, A., Bennár, M., Barrera, C., Codoñer, P., & Fito, P. (2012). No invasive methodology to produce a probiotic low humid apple snack with potential effect against *Helicobacter pylori*. *Journal of Food Engineering*, 110(2), 289–293. Elsevier Ltd. Retrieved August 8, 2013, from <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0260877411002251>
- Betoret, E., Betoret, N., Vidal, D., & Fito, P. (2011). Functional foods development: Trends and technologies. *Trends in Food Science & Technology*, 22(9), 498–508. Elsevier Ltd. Retrieved November 5, 2013, from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224411000938>
- Betoret, E., Sentandreu, E., Betoret, N., Codoñer-Franch, P., Valls-Bellés, V., & Fito, P. (2012). Technological development and functional properties of an apple snack rich in flavonoid from mandarin juice. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 16, 298–304. Elsevier Ltd. Retrieved November 5, 2013, from <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1466856412000987>
- Betoret, N., Andrés, A., Seguí, L., & Fito, P. (2007). Application of safes (systematic approach to food engineering systems) methodology to dehydration of apple by combined methods. *Journal of Food Engineering*, 83(2), 186–192. Retrieved November 5, 2013, from <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0260877407001057>
- Betoret, N., Puente, L., Díaz, M. ., Pagán, M. ., García, M. ., Gras, M. ., Martínez-Monzó, J., et al. (2003). Development of probiotic-enriched dried fruits by vacuum impregnation. *Journal of Food Engineering*, 56(2-3), 273–277. Retrieved November 5, 2013, from <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0260877402002686>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25–30. Elsevier. Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643895800085>
- Bueno, J. M., Sáez-Plaza, P., Ramos-Escudero, F., Jiménez, A. M., Fett, R., & Asuero, A. G. (2012). Analysis and Antioxidant Capacity of Anthocyanin Pigments. Part II: Chemical Structure, Color, and Intake of Anthocyanins. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 42(2), 126–151. Retrieved November 12, 2013, from <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10408347.2011.632314>
- Del Caro, A., Piga, A., Vacca, V., & Agabbio, M. (2004). Changes of flavonoids, vitamin C and antioxidant capacity in minimally processed citrus segments and juices during storage. *Food Chemistry*, 84(1), 99–105. Retrieved April 28, 2013, from <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814603001808>
- Cassano, A., Conidi, C., & Drioli, E. (2011). Clarification and concentration of pomegranate juice (*Punica granatum* L.) using membrane processes. *Journal of Food Engineering*, 107(3-4), 366–373. Elsevier Ltd. Retrieved July 6, 2013, from <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0260877411003566>

- Castagnini, J. M., Betoret, N., & Fito, P. (2012). Effect of homogenization pressure on physical and functional properties of blueberry juice. Application to functional food development by vacuum impregnation. *International Conference of Food Science and Technology Innovation 2012 "FoodInnova-2012."* Hangzhou, China.
- Dai, J., Gupte, a, Gates, L., & Mumper, R. J. (2009). A comprehensive study of anthocyanin-containing extracts from selected blackberry cultivars: extraction methods, stability, anticancer properties and mechanisms. *Food and chemical toxicology an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 47(4), 837–847. Elsevier Ltd. Retrieved March 27, 2013, from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19709605>
- Fito, P., Andrés, A., Chiralt, A., & Pardo, P. (1996). Coupling of hydrodynamic mechanism and deformation-relaxation phenomena during vacuum treatments in solid porous food-liquid systems. *Journal of Food Engineering*, 27(3), 229–240. Retrieved August 9, 2013, from <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0260877495000054>
- Fito, P., Chiralt, A., Betoret, N., Gras, M., Cháfer, M., Martínez-Monzó, J., Andrés, A., et al. (2001). Vacuum impregnation and osmotic dehydration in matrix engineering. Application in functional fresh food development. *Journal of Food Engineering*, 49(2-3), 175–183. Retrieved November 14, 2013, from <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S026087740000220X>
- Giovanelli, G., Brambilla, A., & Sinelli, N. (2013). Effects of osmo-air dehydration treatments on chemical, antioxidant and morphological characteristics of blueberries. *LWT - Food Science and Technology*, 54(2), 577–584. Elsevier Ltd. Retrieved November 5, 2013, from <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0023643813002144>
- Giusti, M. M., & Wrolstad, R. E. (2001). Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry* (pp. 1–13). John Wiley & Sons, Inc. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.1002/0471142913.faf0102s00>
- Hironaka, K., Kikuchi, M., Koaze, H., Sato, T., Kojima, M., Yamamoto, K., Yasuda, K., et al. (2011). Ascorbic acid enrichment of whole potato tuber by vacuum-impregnation. *Food Chemistry*, 127(3), 1114–1118. Elsevier Ltd. Retrieved November 4, 2013, from <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814611002184>
- Jaiswal, V., DerMarderosian, A., & Porter, J. R. (2010). Anthocyanins and polyphenol oxidase from dried arils of pomegranate (*Punica granatum* L.). *Food Chemistry*, 118(1), 11–16. Elsevier Ltd. Retrieved November 12, 2013, from <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814609001551>
- Marquez, A., Dueñas, M., Serratos, M. P., & Merida, J. (2012). Formation of Vitisins and Anthocyanin-Flavanol Adducts during Red Grape Drying. *Journal of agricultural and food chemistry*. Retrieved November 12, 2013, from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22703561>
- Rababah, T. M., Al-u'datt, M., Almajwal, A., Brewer, S., Feng, H., Al-Mahasneh, M., Ereifej, K., et al. (2012). Evaluation of the nutraceutical, physiochemical and sensory properties of raisin jam. *Journal of food science*, 77(6), C609–13. Retrieved November 12, 2013, from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22582920>
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology & medicine*, 26(9-10), 1231–7. Elsevier Inc. Retrieved October 30, 2013, from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10381194>

Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., & Paganga, G. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*, 20(7), 933–956. Retrieved November 3, 2013, from <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0891584995022279>

Schulze, B., Peth, S., Hubbermann, E. M., & Schwarz, K. (2012). The influence of vacuum impregnation on the fortification of apple parenchyma with quercetin derivatives in combination with pore structures X-ray analysis. *Journal of Food Engineering*, 109(3), 380–387. Elsevier Ltd. Retrieved November 4, 2013, from <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S026087741100625X>

Skrede, G., Wrolstad, R. E., & Durst, R. W. (2000). Changes in Anthocyanins and Polyphenolics During Juice Processing of Highbush Blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.). *Journal of Food Science*, 65(2), 357–364. Blackwell Publishing Ltd. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.2000.tb16007.x>

Vinson, J. a, Zubik, L., Bose, P., Samman, N., & Proch, J. (2005). Dried Fruits: Excellent in Vitro and in Vivo Antioxidants. *Journal of the American College of Nutrition*, 24(1), 44–50. Retrieved November 5, 2013, from <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/07315724.2005.10719442>

Waterhouse, A. (2002). Determination of total phenolics. *Current protocols in food analytical chemistry*, 1–8. Retrieved November 4, 2013, from <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/0471142913.fai0101s06/summary>

UTILIZACIÓN DE ZUMO DE ARÁNDANO COMO INGREDIENTE EN EL DESARROLLO DE UN SNACK PROBIÓTICO

Castagnini, J.M.⁽¹⁾, Cerrudo, V.⁽¹⁾, Betoret, N.⁽¹⁾, Barrera, C.⁽¹⁾ and Fito, P.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo, Universitat Politècnica de València, Valencia, España.

1.INTRODUCCIÓN

Ante las nuevas tendencias en materia de nutrición, las investigaciones se hallan centradas en la identificación de compuestos biológicamente activos y en el desarrollo de alimentos que incorporen o aumenten su contenido en estos componentes beneficiosos.

Aunque actualmente las cifras de consumo de arándano en España, tanto en fresco como transformado en forma de mermeladas, zumos, jaleas, etc., distan mucho de las citadas para otros países, este fruto se está popularizando cada vez más por su elevado contenido en compuestos antioxidantes (fundamentalmente antocianinas y fenoles) y su efecto probado en la prevención de determinadas enfermedades.

Desde el año 2008, el laboratorio de Alimentos Funcionales del Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo (IU-IAD) de la Universitat Politècnica de València trabaja en el desarrollo de un snack funcional por incorporación de zumo de mandarina, inoculado y sin inocular con microorganismos probióticos, en la matriz porosa de láminas de manzana y posterior deshidratación, cuyos efectos beneficiosos para la salud han sido demostrados en diversos estudios (Betoret *et al.*, 2012; Codoñer-Franch *et al.*, 2013).

Es de la bondad de estos resultados, y de la colaboración con la Universidad Nacional de Entre Ríos (Argentina), cuando surge la idea de sustituir el zumo de mandarina por zumo de arándano y, de esta forma, dar salida al excedente de producción de arándano fresco producido en este país.

Es por esto que el objetivo de este trabajo consiste en utilizar zumo de arándano (*Vaccinium corymbosum*) para elaborar un snack de manzana (var. Granny Smith) con efecto probiótico y elevada capacidad antioxidante por aplicación de la técnica de impregnación a vacío.

2.MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Materia prima

Como matriz estructural para la impregnación a vacío se utilizaron manzanas (cv. Granny Smith) cortadas en discos de 5 mm de espesor, 65 mm de diámetro externo y 20 mm de diámetro interno, siguiendo la dirección del eje longitudinal.

Para la obtención del zumo de arándano se emplearon arándanos congelados de calidad industrial (mezcla de variedades Highblush del norte y Rabbit eye) adquiridos a granel (bolsas de 3 kg) en la cooperativa asturiana Asturian Berries (Asturias, España).

La cepa de cultivo puro de *Lactobacillus salivarius* spp. *salivarius* (CECT 4063) necesaria en este estudio fue suministrada por la Colección Española de Cultivos Tipo de la Universidad de Valencia (España). La reactivación de los viales que contenían la cepa se realizó mediante resuspensión e incubación en caldo MRS (Scharlau Chemie ®, Barcelona, España) a 37 °C durante 24 horas.

2.2 Líquido de impregnación

Como líquido de impregnación se empleó zumo de arándano obtenido en la planta piloto del Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA-CSIC) mediante trituración de los arándanos descongelados, tratamiento enzimático a 50 °C durante 2,5 horas con el pack comercial Viscozyme L (Novozymes Corp.), filtración con un tamiz de 0,4 mm de diámetro y pasteurización en un intercambiador de placas a 90 °C durante 20 segundos. Además, con la finalidad de reducir el tamaño de los sólidos presentes, parte del zumo pasteurizado se homogeneizó en un equipo a 150 MPa (Ariete NS 3006, GEA Niro Soavi). Tanto el zumo pasteurizado como el pasteurizado y homogeneizado se congelaron a -18 °C hasta el momento de su utilización.

En los ensayos llevados a cabo con el probiótico, el líquido de crecimiento y posterior líquido de impregnación se preparó añadiendo 5 g/L de levadura de cerveza a un 7% del total de zumo de arándano pasteurizado (Past) necesario en el proceso de elaboración del snack. Para evitar el excesivo oscurecimiento del medio, únicamente esta fracción se esterilizó a 121 °C durante 20 minutos. Una vez atemperada, se mezcló con el zumo restante, se ajustó el pH con bicarbonato de sodio a tres niveles diferentes (5,2, 5,7 y 6,2) y se inoculó con 4 mL/L del medio de crecimiento, previamente inoculado e incubado con el probiótico.

2.3 Impregnación a vacío

La impregnación a vacío de las muestras se llevó a cabo en un equipo construido a nivel de planta piloto (Fito *et al.*, 1996) que consta de una cámara de vacío, un brazo neumático, un compresor (COMBA, 1,5 HP de 25 L), una bomba de vacío de anillo líquido (SIHI LOHE 25007 BN131.010), un panel de control para controlar la presión de trabajo y mandos para manipular el brazo neumático. Además, para poder calcular la capacidad de impregnación de las muestras, se introdujo en la cámara de vacío una balanza electrónica (METTLER PJ3600 DeltaRange, con una precisión de 0,01 g) y se registró el peso de las láminas de manzana y de los diferentes líquidos de impregnación en diferentes instantes a lo largo del proceso, según el modelo matemático propuesto por Fito *et al.* (1996). En todos los ensayos de impregnación a vacío llevados a cabo, las muestras sumergidas en el líquido de impregnación (relación 20:1 entre la masa del líquido de impregnación y la de la fruta fresca) se sometieron a una presión de vacío de 50 mbar durante 10 minutos. Transcurrido este tiempo, se restauró la presión atmosférica (en torno a 1013 mbar), manteniéndose las muestras sumergidas en la disolución de impregnación durante 10 minutos más.

2.4 Secado convectivo

La operación de secado se llevó a cabo con aire a 30 °C durante 24 horas en un secador de bandejas (POL-EKO) con flujo transversal y renovación total del aire.

2.5 Recuento de viables

El contenido en probiótico de las muestras se midió por duplicado mediante el procedimiento de dilución en agua de peptona tamponada, siembra en placa con doble capa de agar MRS (Scharlau Chemie ®, Barcelona, España) para garantizar condiciones de micro anaerobiosis, incubación a 37 °C durante 24 horas y conteo de las placas con un número de colonias comprendido entre 30 y 300 ufc (ICMSF, 2000).

2.6 Determinaciones analíticas

El pH se midió con un potenciómetro con sistema autocalibrante y compensación automática de temperatura (METTLER TOLEDO SevenEasy).

El contenido en sólidos solubles se midió con un refractómetro termostatado a 20 °C (ABBE ATAGO, NAR T3, Japón), mediante la lectura directa del índice de refracción en °Brix.

La medida de densidad se realizó con un picnómetro de líquidos a 25 °C y utilizando agua destilada como líquido de referencia.

La humedad de las muestras se calculó a partir de la pérdida de peso que experimentan las mismas durante su secado en una estufa de vacío a 60 °C hasta alcanzar peso constante.

El contenido total en antocianinas monoméricas se analizó por el método del pH diferencial (Wrolstad, 1976) y se determinó de forma específica el contenido en la antocianina cianidina-3-glucósido, por ser la más abundante en la variedad de arándanos seleccionada.

El contenido en compuestos fenólicos totales se determinó según el método del reactivo Folin–Ciocalteu reportado para muestras de vino por Singleton y Rossi (1965).

La capacidad antioxidante se midió por el método del radical libre 2,2-Difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), reportado por Brand-Williams *et al.*, (1995).

La determinación de la capacidad antioxidante y de los contenidos totales en antocianinas monoméricas y en compuestos fenólicos de las muestras líquidas fue directa. En el caso de las muestras sólidas de manzana, fue necesario extraer previamente los compuestos con metanol acidificado al 1% con HCl.

3.RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De acuerdo a los valores de pH, Brix y densidad mostrados en la tabla 1 se puede afirmar que, si bien el pH del zumo de arándano pasteurizado obtenido en la planta piloto del IATA deberá corregirse con bicarbonato de sodio para el óptimo crecimiento del *Lactobacillus salivarius* spp. *salivarius*, el contenido en sólidos solubles y la densidad resultaron similares a los de otros zumos de frutas empleados como líquido de crecimiento de diferentes bacterias ácido-lácticas (Betoret *et al.*, 2003).

Por lo que respecta a su uso como líquido de impregnación, la fracción volumétrica de manzana impregnada con el zumo de arándano pasteurizado (X) tomó valores similares a los obtenidos en estudios previos para otros líquidos de impregnación (Betoret, 2002 y Betoret *et al.*, 2003) y, aunque aumentó significativamente al aplicar una presión de homogeneización de 150 MPa, se mantuvo en el rango comprendido entre 0,18 y 0,20 cm³/cm³. Además, tanto el contenido en antocianinas y en fenoles como la capacidad antioxidante del zumo de arándano pasteurizado permanecieron invariables tras la etapa de impregnación a vacío, pudiéndose concluir que los componentes del zumo que son responsables de sus propiedades nutricionales se impregnan en el tejido de manzana de forma homogénea.

Tabla 1. Caracterización físico-química y funcional del zumo de arándano.

pH	Brix (g/100 mL)	δ (g/cm ³)	X (cm ³ /cm ³)	Antocianinas (mg cianidin- 3-glucósido/L)	Fenoles (mg GAE/L)	Capacidad antioxidante (mg DPPH/mL)
3,05 (0,01)	16,0 (0,3)	1,072 (0,002)	0,179 (0,005)	250 (20)	1250 (40)	181 (30)

Valores entre paréntesis: desviación estándar.

Una vez comprobado que el zumo de arándano presenta buenas aptitudes para ser utilizado como medio de crecimiento y como líquido de impregnación, se estudió el grado de desarrollo del *Lactobacillus salivarius* spp. *salivarius* tras corregir el pH del zumo con diferentes concentraciones de bicarbonato de sodio (tabla 2).

Tabla 2. Efecto del pH sobre el crecimiento microbiano.

Bicarbonato de sodio (g Na ₂ CO ₃ /L)	pH	Contenido microbiano (ufc/mL)	Contenido microbiano (log ufc/mL)
4	5,20 (0,02)	5,8 (0,3) · 10 ⁷	7,76 (0,04)
5	5,70 (0,01)	9,7 (0,4) · 10 ⁷	7,98 (0,03)
6,7	6,20 (0,01)	1,13 (0,02) · 10 ⁸	8,05 (0,01)

Valores entre paréntesis: desviación estándar.

Como se puede observar, la mayor concentración del probiótico se alcanzó en el zumo de arándano cuyo pH se había ajustado hasta un valor de 6,2 y además resultó similar al valor máximo obtenido en un estudio previo, en el que se utilizaban zumos comerciales de mandarina y de piña y uva como medios de crecimiento (Betoret *et al.*, 2012).

Una vez seleccionada la disolución de impregnación óptima, se procedió a la incorporación del microorganismo probiótico a la matriz celular de rodajas de manzana mediante la técnica de impregnación a vacío. Con la finalidad de obtener productos más estables, las muestras de manzana impregnadas se secaron con aire a 30 °C durante 24 horas. En la tabla 3 se muestra el contenido microbiano, el contenido en antocianinas y fenoles y la capacidad antioxidante de las muestras de manzana impregnadas con el zumo de arándano pasteurizado e inoculado a pH 6,2 con *Lactobacillus salivarius* spp. *salivarius*, antes y después de su secado convectivo.

Tabla 3. Efecto del secado sobre el valor nutricional de láminas de manzana impregnadas con zumo de arándano pasteurizado e inoculado con *Lactobacillus salivarius* spp. *salivarius*.

	Manzana impregnada	Manzana deshidratada
x_w (g agua/g total)	0,8832 (0,0004)	0,2702 (0,0005)
a_w	0,991 (0,003)	0,546 (0,003)
Antocianinas (mg cianidin-3-glucósido/100 g)	4,04 (0,07)	20 (3)
Fenoles (mg GAE/100 g)	293 (3)	58 (3)
Capacidad antioxidante (mg DPPH/100 g)	3611 (43)	2265 (27)
Contenido microbiano (ufc/g)	1,83 (0,03) · 10 ⁸	9,22 (0,05) · 10 ⁷

Valores entre paréntesis: desviación estándar.

Por lo que respecta al contenido microbiano de las rodajas de manzana deshidratada, éste resultó, a pesar del notable descenso experimentado durante el secado, lo suficientemente elevado ($> 10^6$ bacterias vivas/g de producto) como para afirmar que se trata de un alimento probiótico (De Champs *et al.*, 2003).

En cuanto a la capacidad antioxidante, su descenso tras la etapa de secado convectivo no fue debido tanto a la pérdida de antocianinas (cuyo contenido resultó ligeramente superior en el producto deshidratado), como a la degradación de compuestos fenólicos. Y es que, a pesar que algunos autores afirman que el secado convectivo a temperaturas inferiores a 40 °C durante unas horas parece no tener un efecto significativo en la degradación térmica de los compuestos fenólicos (Rózek *et al.*, 2008), la realidad es que su concentración disminuyó drásticamente en las muestras de manzana deshidratadas. Es de esperar que otros compuestos, como el ácido ascórbico, más sensibles al calor y a la oxidación, también se hayan degradado durante la etapa de secado, contribuyendo en el descenso de la capacidad antioxidante de la manzana deshidratada.

En cualquier caso, el consumo de 100 g del snack obtenido proporciona cantidades de antocianinas entre 20 y 210 mg cianidin-3-glucósido/100 g y de fenoles entre 40 y 256 mg de GAE/100 g, que son los valores reportados para diferentes variedades de uva tinta (Revilla *et al.*, 2009), y tendría como valor añadido su efecto probiótico.

4. CONCLUSIONES

Ha sido posible obtener un crecimiento adecuado de una cepa con efecto probiótico en zumo de arándano pasteurizado, y utilizar la operación de impregnación a vacío para incorporarlo al interior de la estructura de manzana fresca. El snack de manzana obtenido cumple con los requisitos para ser considerado un alimento funcional, tanto por su contenido en probióticos como en compuestos con capacidad antioxidante (antocianinas y fenoles, fundamentalmente).

5. BIBLIOGRAFÍA

Betoret, N., Puente, L., Díaz, M.J., Pagán, M.J., García, M.J., Gras, M.L., Martínez-Monzó, J., y Fito, P. (2003). Development of probiotic-enriched dried fruits by vacuum impregnation. *Journal of Food Engineering* 56(2–3), 273-277.

Betoret, E., Betoret, N., Arilla, A., Bennár, M., Barrera, C., Codoñer, P. y Fito, P. (2012). No invasive methodology to produce a probiotic low humid apple snack with potential effect against *Helicobacter pylori*. *Journal of Food Engineering* 110(2), 289-293.

Brand-Williams W., Cuvelier M.E. y Berset C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT- Food Science and Technology* 28(1), 25-30.

Codoñer-Franch, P., Betoret, E., Betoret, N., López-Jaén, A.B., Valls-Bellés, V. y Fito, P. (2013). Dried apples enriched with mandarin juice by vacuum impregnation improve antioxidant capacity and decrease inflammation in obese children. *Nutrición Hospitalaria* 28(4), 1177-83.

Fito, P., Andrés, A., Chiralt, A. y Pardo, P. (1996). Coupling of hydrodynamic mechanism and deformation-relaxation phenomena during vacuum treatments in solid porous food-liquid systems. *Journal of Food Engineering* 27(3), 229-240.

Revilla E., Carrasco D., Benito A. y Arroyo-García R. (2009). La composición antocianica y la biodiversidad de las poblaciones naturales de *Vitis vinifera* L. spp *sylvestris*. Dirección URL consultada en agosto de 2012: <http://wine.uab.cat/Posters/p%2016%20Revilla%20%20Composici%F3n%20antocianica%20biodiversidad.pdf>.

Rózek A., Achaerandio I., Güell C., López F. y Ferrando M. (2008). Efecto del secado convectivo en la estabilidad de compuestos fenólicos añadidos a alimentos sólidos mediante deshidratación osmótica. En el libro del II Congreso Iberoamericano sobre Seguridad Alimentaria y V Congreso Español de Ingeniería de Alimentos (ISBN: 978-84-96736-57-3), celebrado en Barcelona (España), del 5 al 7 de noviembre de 2008.

Singleton V.L. y Rossi J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phospho-tungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16, 144-158.

Wrolstad, R.E. (1976). Color and pigment analyses in fruit products. *Agricultural Experiment Station, Oregon State University, Station Bulletin* 624, 1-17.

CONCENTRAÇÃO DE POLISSACARÍDEOS DO FUNGO *AGARICUS SUBRUFESCENS* ATRAVÉS DA NANOFILTRAÇÃO

Camelini, C.M. (Dr.)¹, Rezzadori, K. (Ms.)¹, Benedetti, S. (Ms.)¹, Proner, M.C. (Ms.)², Fogaça, L. (Ms.)², Azambuja, A. (Ms.)², Giachini, A. J. (Dr.)², Rossi, M. (Dr.)², Petrus, J.C.C. (Dr.)¹

¹Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Centro Tecnológico;

²Departamento de Microbiologia - Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC); Brasil

1. INTRODUÇÃO

Aos polissacarídeos, principalmente às β -glucanas, são atribuídas atividades biológicas anti-inflamatórias, antitumorais, antimutagênicas e antimicrobianas. As β -glucanas são consideradas modificadoras da resposta biológica (*Biological Response Modifier*), pois interagem e podem modificar a resposta imunológica do hospedeiro e regulam o biorritmo, prevenindo várias doenças (SILVEIRA *et al.*, 2012).

Muitos fungos contendo esses polissacarídeos, que estão localizados na estrutura de suas paredes celulares, pertencem ao filo *Basidiomycota*, inclusive a espécie *Agaricus subrufescens* Peck, que é amplamente consumido. Muito se estuda sobre suas propriedades nutricionais e medicinais, relacionadas aos polissacarídeos presentes em sua parede celular, ou ainda, aos componentes extracelulares secretados pelo fungo no meio de cultivo. A partir da biomassa miceliana de *A. subrufescens* foram obtidos polissacarídeos bioativos extraídos em solução aquosa, com massa molar de aproximadamente $310 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$, com a possibilidade de separação e/ou concentração desses polissacarídeos por meio de membranas microporosas (SILVEIRA *et al.*, 2012).

A aplicação da tecnologia de membranas em processos biotecnológicos tem sido utilizada na concentração e separação de compostos bioativos. A separação de polissacarídeos em função de sua massa molar, assim como de oligossacarídeos, pode ser utilizada para purificar extratos brutos (Silveira *et al.*, 2012; BOTELHO-CUNHA *et al.*, 2010). Esse processo é baseado no princípio da permeação seletiva de moléculas através de membranas. Além disso, os processos com membranas apresentam vantagens como o uso de baixas temperaturas, baixo consumo de energia e redução do impacto ambiental, devido à supressão do uso de solventes e da manutenção das propriedades creditadas a estes compostos.

O objetivo deste trabalho foi verificar a influência da pressão e da temperatura no fluxo permeado durante a concentração por nanofiltração dos polissacarídeos a partir do

extrato da biomassa miceliana de *A. subrufescens* e quantificar os fenômenos responsáveis pela redução do fluxo permeado.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Obtenção dos polissacarídeos

O extrato foi obtido a partir da biomassa de *A. subrufescens* (CBMAI 1449) cultivado em biorreator airlift, utilizando-se 5 L do meio de cultura MNM. O pH inicial foi 6 e a temperatura do cultivo foi mantida a 25 °C. Após o cultivo, o micélio foi separado por filtração. O processo de extração foi realizado nas seguintes etapas: a biomassa foi fragmentada e misturada em 10 L de água destilada (1:10/V:V). A mistura foi aquecida até 100 durante 1 h e depois filtrada. O filtrado (extrato) foi reservado e a torta reutilizada. Como segunda etapa foi adicionada 10 L de água destilada na torta e repetida a extração, totalizando 20 L de extrato.

2.2 Nanofiltração

A concentração do extrato aquoso foi realizada em um sistema de filtração tangencial utilizando-se uma unidade piloto mostrada na Figura 1, equipada com uma membrana de nanofiltração orgânica de Polifluoreto de Vinilideno (PVDF) com ponto molar de corte da ordem 150-300 g•mol⁻¹ e área filtrante útil de 0,9 m².

Os parâmetros de operação controlados durante o processo de nanofiltração foram temperatura de 35 ± 1°C e pressão transmembrana de 6 bar. Durante o processo, o fluxo permeado foi mensurado a cada 5 minutos e expresso em L.h⁻¹.m². A viabilidade do processo de nanofiltração foi avaliada de acordo com o teor de polissacarídeos, presentes no concentrado e no permeado, analisados por precipitação e por gel permeação HPLC-IR (elevada massa molar).

Figura 1 Fotografia da unidade piloto de nanofiltração tangencial



A eficiência do processo foi analisada pela porcentagem de retenção de polissacarídeos, que demonstra a capacidade da membrana de reter os compostos de interesse. A porcentagem de retenção dos polissacarídeos foi calculada de acordo com a Equação 1.

$$R(\%) = (1 - c_p / c_c) * 100 \quad (1)$$

onde o C_p é a concentração dos polissacarídeos totais no permeado e o C_c equivale a concentração de polissacarídeos totais no concentrado.

Antes de iniciar o processo de concentração, determinou-se o fluxo permeado utilizando-se água filtrada (J_w). O valor obtido para o fluxo permeado com água foi utilizado como referência para verificar a condição da membrana após o uso e a limpeza. O efeito da pressão sobre o fluxo permeado foi avaliado em sistema fechado e temperatura constante de 35°C. Foi investigado o efeito da temperatura - 25°C a 45°C, sobre o fluxo permeado, à pressão transmembrana de 6 bar. O cálculo da resistência total R_t , foi realizado utilizando-se o valor de fluxo final (J_f), o valor da viscosidade do permeado (μ_p) e a pressão transmembrana (P_t) utilizada no experimento. A resistência da membrana foi calculada utilizando o valor da viscosidade da água e o valor de fluxo medido com água no início do experimento, com a membrana limpa. A resistência devida ao *fouling* foi determinada considerando-se o fluxo de água filtrada que passa pela membrana após o processamento e retirada da camada polarizada por meio de enxágüe com água.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Nanofiltração dos extratos

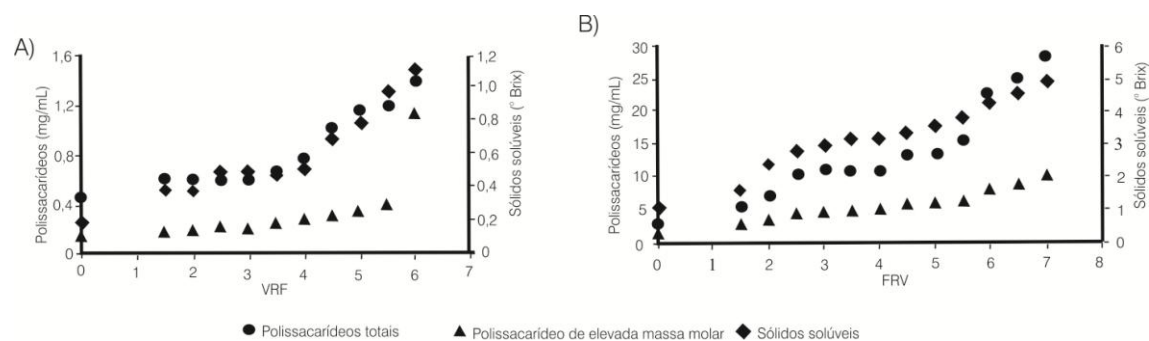
Após a nanofiltração, verificou-se um acréscimo de 82 e 92 % nos teores de polissacarídeos presentes no concentrado do micélio e no meio líquido, respectivamente. Entretanto, esses aumentos não foram proporcionais ao aumento dos fatores de redução de volume (FRV), indicando que parte dos polissacarídeos, possivelmente aqueles de menor massa molar, permeia a membrana.

As maiores porcentagens de retenção (98%) dos polissacarídeos, foram alcançadas nos FRV 6 e 7 para os extratos do concentrado do micélio e do meio líquido, respectivamente. O mecanismo responsável pela alta retenção dos polissacarídeos pela membrana de nanofiltração pode ser atribuído principalmente ao tamanho das moléculas e suas cargas elétricas (SILVEIRA *et al.*, 2012). Por outro lado, nos permeados não foram

detectados polissacarídeos nos diferentes valores de FRV, porém encontrou-se uma pequena quantidade de sólidos solúveis, possivelmente devido a hidrólise dos polissacarídeos em monossacarídeos, e também a glicose residual do meio de cultura e sais minerais.

A Figura 2 apresenta a correlação entre os sólidos solúveis e os polissacarídeos nos concentrados. Evidencia-se a relação entre eles e comportamento semelhante nos concentrados conforme os diferentes FRVs. CHAUD & SGARBIERI (2006) também correlacionaram glucanas solúveis em água obtidas a partir da parede celular de leveduras com o teor de sólidos solúveis.

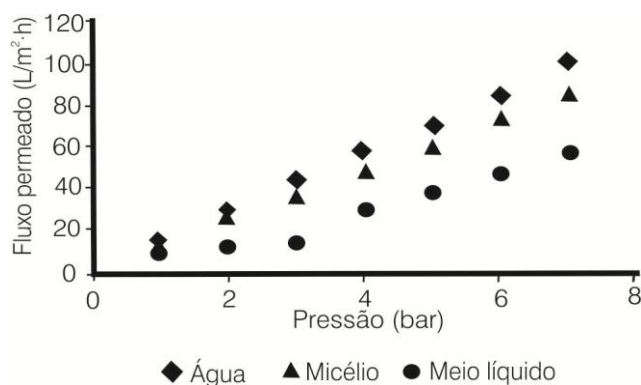
Figura 2 Correlação do teor de sólido solúveis (°Brix, ◆), polissacarídeos totais (●) e de elevada massa molar (▲) nos concentrados dos extratos do micélio (A) e meio líquido (B) de *A. subrufescens*



3.2. Influência da pressão e da temperatura no fluxo permeado

O efeito da pressão no fluxo permeado foi caracterizada em 35°C e à pressões de 1 a 7 bar. Os resultados estão expressos na Figura 3, onde os dados mostram o valor do fluxo permeado obtido com extrato e com água filtrada.

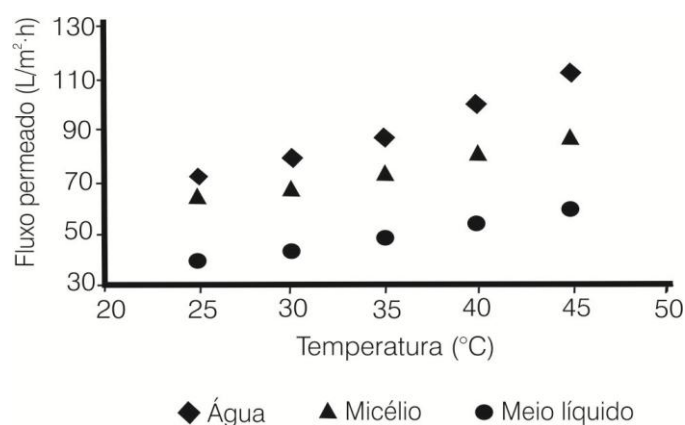
Figura 3 Fluxo permeado em função da pressão de processamento nos extratos do micélio e meio líquido.



A diferença entre o fluxo permeado de água e dos extratos confirma a incidência da formação da camada polarizada e do *fouling* na membrana sob as mesmas condições de temperatura e pressão. Estes fenômenos reduziram o fluxo permeado do extrato de *A. subrufescens* cerca de 40% na pressão de 7 bar. Normalmente, pressões maiores, na presença de sólidos solúveis, provocam um efeito de compactação sobre a membrana e a formação da camada gel, gerando um aumento no entupimento dos poros (Petrus, 1997).

A Figura 4 mostra o efeito da temperatura no fluxo permeado da água e dos extratos de *A. subrufescens*. Os ensaios foram realizados a pressão constante (6 bar), variando a temperatura de 25°C até 45°C. O aumento da temperatura de processamento de 25°C para 45°C resultou em um acréscimo de até 30% no fluxo do extrato, ou seja, em processos industriais onde é necessário menor tempo de processamento, um aumento de temperatura da solução pode ser empregada.

Figura 4 Fluxo permeado em função da temperatura do processamento dos extratos do micélio e do meio líquido.

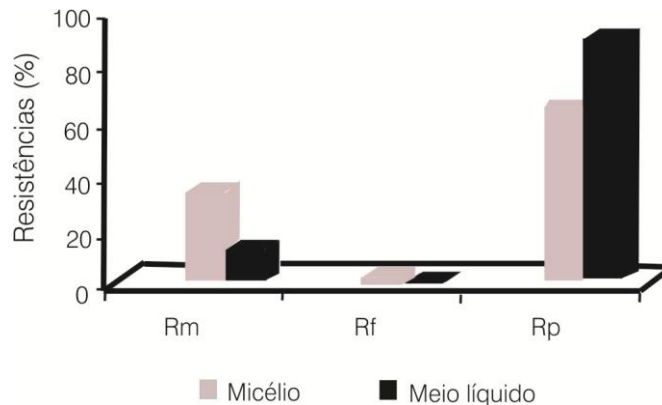


O limite de temperatura também deve ser sempre estabelecido em função da termoresistência da membrana e dos aspectos econômicos inerentes ao consumo de energia (FREITAS, 1995).

3.3. Determinação das resistências ao fluxo permeado

De acordo com a Figura 5 observa-se que a maior parte da resistência ao fluxo é causada pela camada polarizada de até 88 % para o meio de cultura.

Figura 5 - Influência da resistência da polarização por concentração (R_p), resistência da membrana (R_m) e resistência devido ao *fouling* (R_f) sobre o fluxo permeado.



Por outro lado, a resistência devido ao *fouling* foi responsável por no máximo 3,24 % da resistência total para o extrato do micélio. A maior influência da polarização por concentração pode ocorrer devido à presença de polissacarídeos, mas também aos sais e glicose do meio de cultura.

4. CONCLUSÃO

Através da nanofiltração foi possível concentrar até 7 vezes os polissacarídeos em relação ao extrato inicial do *A. subrufescens*. Nas condições utilizadas, fluxos permeados entre 60 e 80 L.h⁻¹.m² foram obtidos durante a nanofiltração. Verificou-se que 88% da resistência ao fluxo de massa através da membrana é devida à camada polarizada, enquanto a resistência devido ao *fouling* foi responsável por no máximo 3,24 % da resistência total para o extrato do micélio. Conclui-se que a nanofiltração pode ser utilizada para a concentração dos polissacarídeos, conseguindo-se fluxos permeados compatíveis com a realidade industrial.

REFERÊNCIAS

- Botelho-Cunha, V. A.; Mateus, M.; Petrus, J. C. C.; Pinho, M. N. Tailoring the enzymatic synthesis and nanofiltration fractionation of galacto-oligosaccharides. *Biochemical Engineering Journal*, v. 50, p. 29-36, 2010.
- Chaud, S. G.; Sgarbieri, V. C. Propriedades funcionais (tecnológicas) da parede celular de leveduras da fermentação alcoólica e das frações glicana, manana e glicoproteína. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 26, p. 369-379, 2006.
- Cheryan, M. *Ultrafiltration and microfiltration handbook*. Technomic, Lancaster, 1998.

- Chisti, M. Y. *Airlift Bioreactors*. Nova Iorque: Elsevier Applied Sciences, 1989. 345 p.
- Couto, S. R.; Sanromán, M. A. Application of solid-state fermentation to food industry: a review. *Journal of Food Process Engineering*, v. 76, n. 3, p. 291-302, 2006.
- Freitas, I. C. Estudo da clarificação de suco de laranja por ultrafiltração. Dissertação, Universidade Estadual de Campinas, 1995.
- Hölker, U.; Höfer, M.; Lenz, J. Biotechnological advantages of laboratory-scale solid-state fermentation with fungi. *Applied Microbiology Biotechnology*, v. 64, p. 175-186, 2004.
- Kunamneni, A; Prabhakar, T.; Jyothi, B.; Ellaiah, P. Investigation of continuous cyclodextrin glucanotransferase production by the alginate-immobilized cells of alkalophilic *Bacillus* sp. in an airlift reactor. *Enzyme and Microbial Technology*, v. 40, p. 1538-1542, 2007.
- Listiarini, K.; Chun, W.; Sun, D. D.; Leckie, J. O. Fouling mechanism and resistance analyses of systems containing sodium alginate, calcium, alum and their combination in dead-end fouling of nanofiltration membranes. *Journal Membrane Science*, v. 344, p. 244–251, 2009.
- Mulder, M. *Basic principles of membrane technology*, 2nd ed. Kluwer: Dordrecht, The Netherlands, 2000.
- Nienow, A.W. Hydrodynamics of stirred bioreactors. *Applied Mechanical Review*, v. 51, p. 3-32, 1998.
- Noble, R. D.; Stern, S. A. *Membrane separation technology: principles and applications*. Elsevier, Amsterdam, 1995.
- Petrus, J. C. C. Preparação, modificação e caracterização de membranas assimétricas para a clarificação de sucos de frutas. Tese, Universidade Estadual de Campinas, 1997.
- Silveira, D. B.; Álvaro, J. C.; Camelini, C. M.; Rossi, M. J.; Petrus, J. C. C.; Mendonça, M. M.; Pinto, A. R.; Zanetti, C. R. Mass separation and in vitro immunological activity of membrane-fractionated polysaccharides from fruiting body and mycelium of *Agaricus subrufescens*. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, v. 17, n. 4, p 804-811, 2012.

AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE QUELANTE DE FERRO DE PEPTÍDEOS DE SORO DE LEITE OBTIDOS COM DIFERENTES ENZIMAS

Caetano-Silva, M. E.¹; Pacheco, M. T. B.²; Netto, F. M.¹

¹ Departamento de Alimentos e Nutrição, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade de Campinas – UNICAMP. Rua Monteiro Lobato, 80, 13083-862 Campinas, SP, Brasil. E-mail: flavia@fea.unicamp.br

² Centro de Ciência e Qualidade de Alimentos, Instituto de Tecnologia de Alimentos – ITAL, Av. Brasil, 2880, 13070-178 Campinas, SP, Brasil.

1.INTRODUÇÃO

O ferro é um micronutriente essencial, componente intrínseco da hemoglobina, mioglobina e citocromos (Luo & Xie, 2012). Biologicamente, atua como regulador, ativador e controlador de várias reações enzimáticas (Ren et al., 2011), além de cofator de diversos processos celulares, tais como transporte de oxigênio e respiração celular (Puig et al., 2005). Sua deficiência é responsável por diversas doenças, sendo a anemia ferropriva um dos principais problemas nutricionais de âmbito mundial (FAO/WHO, 2007).

Muitos componentes da dieta podem comprometer a absorção de ferro e, portanto, vários estudos têm sido feitos para torná-lo mais biodisponível. A suplementação dietética com sais de ferro, comumente utilizada no tratamento da anemia, geralmente ocasionam efeitos colaterais, tais como dor de estômago, desconforto intestinal e diarreia. Esses sais geralmente apresentam baixa biodisponibilidade do mineral e, quando inseridos em alimentos podem acarretar alterações de sabor e aparência nos produtos, comprometendo a vida de prateleira e estabilidade oxidativa dos produtos em que são empregados (Dewey et al., 2002; Megías et al., 2007).

A biodisponibilidade de micronutrientes organicamente ligados, incluindo o ferro, é superior ao mineral livre, sendo mais bem absorvidos (Davis et al., 2008). Em determinadas condições, essa ligação promove a formação de quelatos. Estas estruturas em forma de anéis com o mineral disposto na posição central protegem os micronutrientes das reações químicas que ocorrem durante o processo digestivo, garantindo sua solubilidade no decorrer do trato gastrintestinal até sua absorção (Gligic et al., 2004).

Nesse sentido, vários estudos têm sido realizados com quelatos Fe-peptídeos com o objetivo de aumentar a absorção do ferro em alimentos enriquecidos com esse mineral (Chaud et al., 2002; Huang et al., 2011; Kim et al., 2007b; Lee & Song, 2009; Ren et al., 2011; Zhou et al., 2012). A obtenção de peptídeos quelantes de ferro a partir de hidrolisados

proteicos pode ser útil no aumento da biodisponibilidade do mineral, enquanto sua estabilidade mantém a qualidade e aparência do alimento (Megías et al., 2007).

As proteínas de soro de leite são uma fonte de grande interesse para obtenção de peptídeos quelantes de ferro (Kim et al., 2007b; Sugiarto et al., 2009; Zhou et al., 2012), pois apresentam elevado valor biológico, elevada digestibilidade e rápida absorção pelo organismo (Sgarbieri, 2004). O presente trabalho teve como objetivo a obtenção e o estudo da capacidade quelante de ferro de peptídeos do soro de leite, utilizando diferentes sistemas enzimáticos. Pretende-se, dessa forma, contribuir para obtenção de quelatos ferro-peptídeos, que poderão contribuir para elevar a biodisponibilidade deste micronutriente.

2.MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

Isolado proteico de soro de leite (IPS) foi obtido da empresa Glanbia Nutritionals (Kilkenny, Irlanda). A enzima flavourzyme (produzida por *Aspergillus oryzae*), foi gentilmente cedida pela empresa Novozymes® Latin America Ltda. (Araucária, PR, Brasil), e as enzimas alcalase (produzida por *Bacillus licheniformis*) e pancreatina de origem suína, foram adquiridas da Sigma-Aldrich® (St.Louis, MO, EUA).

2.2 Obtenção dos hidrolisados e frações

Os hidrolisados foram obtidos a partir da hidrólise enzimática de IPS sob condições de pH, temperatura e relação enzima:substrato (E/S) específicas para cada enzima: alcalase (pH 8,0, 60 °C e E/S 1%), pancreatina (pH 8,0, 40 °C e E/S 4%) e flavourzyme (pH 6,7, 55 °C e E/S 4%). A concentração de substrato foi de 10% (m/v) e as hidrólises realizadas em Titulador Automático modelo DL 21 Grafix (Mettler-Toledo, Schwerzenbach, Suíça), com sistema de agitação e aquecimento por meio de acoplamento com banho termostatizado. O grau de hidrólise (GH) foi definido pela Equação 1 (Adler-Nissen, 1986):

$$\text{Eq. 1: } GH (\%) = B \times N_b \times \frac{1/\alpha}{MP} \times \frac{1}{h_{tot}} \times 100$$

Em que: GH (%) = grau de hidrólise; B = consumo de base em mL; N_b = normalidade da base; $1/\alpha$ = média de grau de dissociação do grupo α -NH₂; MP = massa da proteína em g; h_{tot} = número total de ligações peptídicas no substrato proteico - 8,8 para proteína do soro de leite (Adler-Nissen, 1986).

Os hidrolisados foram fracionados em sistema de ultrafiltração Pellicon® (Millipore, Bedford, MA, EUA), com membrana de corte molecular de 5 kDa, e as frações obtidas, filtrado (H/f) e retido (H/r), foram liofilizadas.

2.3 Determinação do perfil aminoacídico e grupos amino livres

A determinação da composição dos aminoácidos totais e livres foi feita após derivatização com fenilisotiocianato (PITC) por CLAE-FR, de acordo com o método descrito por White *et al.* (1986) e Hagen *et al.* (1993), respectivamente. O teor de triptofano foi determinado pelo método descrito por Spies (1967).

A concentração de grupos amino livres foi determinada pelo método baseado na reação de o-oftaldialdeído (OPA), descrito por Nielsen e Dambmann (2001). O teor de grupos amino livres foi obtido pela Equação 2:

Eq. 2:

$$\text{Grupos amino livres} \left(\text{meqv} \frac{\text{NH}_2}{\text{g}} \text{ proteína} \right) = \frac{\text{Abs amostra} - \text{Abs branco}}{\text{Abs padrão} - \text{Abs branco}} \times 0,9516 \frac{\text{meqv}}{\text{L}} \times 0,1 \times \frac{100}{M} \times P$$

Em que: M = m amostra (g); P = % proteína na amostra; 0,1 = volume de amostra (L).

2.4 Avaliação do potencial de quelação das frações dos hidrolisados

A reação de quelação entre ferro e frações dos hidrolisados foi baseada na metodologia utilizada por alguns estudos de quelação Fe-peptídeos (Huang *et al.*, 2011; Lee & Song, 2009; Ren *et al.*, 2011; Zhou *et al.*, 2012), com proporção proteína:ferro de 40:1 (Zhou *et al.*, 2012). Uma solução contendo 4% de proteína teve o pH ajustado para 7,0 com NaOH, foi adicionada de 0,1% de ferro (FeCl₂.4H₂O) e o pH foi novamente ajustado para 7,0. A solução foi mantida sob agitação constante a 25±2 °C, durante 60 min, com ajuste de pH a cada 15 min. Após esse período, a solução foi centrifugada (5000x g/20 min) e o sobrenadante analisado quanto ao teor de ferro, pelo método colorimétrico da ortofenantrolina (Atkins, 1975), utilizando-se FeCl₂ como padrão. A curva padrão foi construída com concentrações entre 1-5 mg Fe/L.

2.5 Análise estatística

A análise estatística dos resultados foi feita utilizando-se o programa estatístico SPSS (SPSS 16.0, SPSS Inc., Chicago, IL), por análise de variância ANOVA e teste de Tukey, ao nível de 5% de significância.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Obtenção dos hidrolisados e frações

Foram utilizadas neste estudo três proteases de origens diferentes, assim como perfil de ação hidrolítica, uma vez que a ação específica de cada enzima influencia a composição final dos produtos de hidrólise, principalmente com relação ao tamanho médio dos peptídeos e exposição dos grupamentos laterais hidrofóbicos (Haque & Mozaffar, 1992). Essas diferenças de especificidade e ação hidrolítica podem influenciar em diversas características dos hidrolisados, incluindo a habilidade de seus peptídeos em quelar o ferro (Kim et al., 2007a).

A alcalase apresentou maior atividade hidrolítica desde os primeiros minutos de hidrólise. Para obtenção dos hidrolisados, o tempo de hidrólise foi definido em 105 min para a alcalase e 180 min para a pancreatina, tendo em vista a obtenção de GH semelhante para os hidrolisados, 16,8 e 16,4%, respectivamente. Contudo, com a enzima flavourzyme, o GH, 9,1% em 180 min, foi inferior ao obtido com as outras duas enzimas, em função da menor atividade hidrolítica dessa enzima, a qual não apresentou aumento expressivo do GH após 60 min de reação.

3.2 Perfil aminoacídico

De forma geral, as frações apresentaram composição aminoacídica semelhante. Todas as frações apresentaram altos teores de ácido aspártico e ácido glutâmico (resultados não mostrados), cujos grupos carboxílicos estão entre os principais sítios de ligação ao ferro (Chaud et al., 2002; Lv et al., 2009). Esse fato faz da proteína de soro de leite uma boa matéria-prima para obtenção de peptídeos com capacidade quelante de ferro, considerando-se que o processo de hidrólise pode favorecer a exposição de grupamentos desses aminoácidos para que se liguem ao mineral.

No entanto, embora a composição aminoacídica influencie na atividade quelante dos peptídeos, esta também depende de outros fatores, como estrutura do peptídeo, efeitos estéricos e MM (Carrasco-Castilla et al., 2012), além da presença desses sítios de ligação como aminoácidos livres ou peptídeos. Isso porque aminoácidos livres apresentam menor capacidade quelante de ferro em relação aos peptídeos (Huang et al., 2011). As frações mostraram baixos níveis de ácido aspártico e glutâmico livres (resultados não mostrados), sugerindo que os principais sítios de ligação de ferro estejam em sequências peptídicas.

A Figura 1 mostra os teores de aminoácidos livres e grupos amino livres de cada fração dos hidrolisados. Para a amostra HF/f, cerca de 60% dos grupos amino livres foram

provenientes dos aminoácidos livres. Esse perfil está de acordo com a maior atividade de exopeptidase dessa enzima (Nchienzia et al., 2010), o que pode reduzir sua capacidade quelante de ferro. A alcalase, por outro lado, tem atividade de endopeptidase (Smyth & FitzGerald, 1998), tendo gerado baixo teor de aminoácidos livres nas frações HA/f HA/r, correspondendo a apenas 5% dos seus grupos amino livres. O sistema enzimático pancreatina apresentou teor intermediário de aminoácidos livres (8,49 g/100g proteína), uma vez que possui tanto endopeptidases como exopeptidases (Yamamoto, 1975).

3.3 Avaliação do potencial de quelação das frações dos hidrolisados

O pH utilizado na reação de quelação foi 7,0 pois a ligação de coordenação entre peptídeo e metal é favorecida quando grupos ionizáveis doadores de elétrons presentes nos resíduos de aminoácidos do peptídeo ou proteína estão parcial ou totalmente desprotonados, ou seja, quando estão em condição na qual o valor de pH é igual ou superior ao do pKa dos grupos ionizáveis (Porath, 1990). O pH utilizado favorece a desprotonação da maior parte das cadeias laterais dos resíduos de ácido aspártico (pK β -COOH = 3,86) e glutâmico (pK γ -COOH = 4,25). Outros autores utilizaram o mesmo pH em estudos da capacidade quelante de ferro de peptídeos (Huang et al., 2011; Lee & Song, 2009; Sugiarto et al., 2009; Zhou et al., 2012). A capacidade quelante de ferro das frações é mostrada na Figura 2.

No ensaio controle, realizado apenas com FeCl₂, o sobrenadante apresentou teor de Fe inferior a 0,5% em relação ao inicialmente presente em solução, comprovando a insolubilidade do sal em pH 7,0. Com os retidos dos hidrolisados os valores de capacidade quelante de ferro (58,3-70,6%) foram superiores aos obtidos com os filtrados (37,4-51,5%). A fração HP/r apresentou a maior capacidade quelante (70,6%). Como parte do ferro foi mantida em solução nas análises com as amostras, sugere-se uma interação ferro-peptídeo, a qual impede o metal de se ligar à água, diminuindo assim a formação de hidróxidos férricos e aumentando a solubilidade do ferro (Zhu et al., 2009).

4. CONCLUSÃO

Os resultados indicam que a hidrólise do IPS com pancreatina é mais adequada para obtenção de peptídeos com capacidade quelante de ferro do que com alcalase ou flavorzyme, nas condições utilizadas neste estudo. A quelação Fe-peptídeo torna o ferro menos reativo, podendo resultar em redução dos efeitos colaterais provocados pelo ferro livre na mucosa gastrointestinal.

Para aprofundar os conhecimentos em relação à estrutura e estabilidade do quelato Fe-peptídeo, mais estudos são necessários. Porém, os resultados reportados no presente trabalho sugerem que hidrolisado de IPS com pancreatina pode ser usado para obtenção de quelatos ferro-peptídeos para fortificação de alimentos, além de potencialmente reduzir seus efeitos pró-oxidantes.

5.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adler-Nissen, J. (1986). *Enzymic Hydrolysis of Food Proteins*. New York: Elsevier Applied Science Publishers.

Atkins, R. C. (1975). Colorimetric determination of iron in vitamin supplement tablets. A general chemistry experiment. *Journal of Chemical Education*, 52(8), 550.

Carrasco-Castilla, J., Hernández-Álvarez, A. J., Jiménez-Martínez, C., et al. (2012). Antioxidant and metal chelating activities of *Phaseolus vulgaris* L. var. Jamapa protein isolates, phaseolin and lectin hydrolysates. *Food Chemistry*, 131(4), 1157-1164.

Chaud, M. V., Izumi, C., Nahaal, Z., et al. (2002). Iron derivatives from casein hydrolysates as a potential source in the treatment of iron deficiency. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(4), 871-877.

Davis, P. A., McDowell, L. R., Wilkinson, N. S., et al. (2008). Comparative effects of various dietary levels of Se as sodium selenite or Se yeast on blood, wool, and tissue Se concentrations of wether sheep. *Small Ruminant Research*, 74(1-3), 149-158.

Dewey, K. G., Domellöf, M., Cohen, R. J., et al. (2002). Iron supplementation affects growth and morbidity of breast-fed infants: results of a randomized trial in Sweden and Honduras. *The Journal of Nutrition*, 132(11), 3249-3255.

Assessing the Iron Status of Populations (2007).

Gligic, L., Palic, T., & Nikolovski, J. (2004). The beneficial effects of iron-enriched yeast *Saccharomyces cerevisiae* biomass in poultry breeding. *Folia Veterinaria*, 48(2), 104-107.

Hagen, S. R., Augustin, J., Grings, E., et al. (1993). Precolumn phenylisothiocyanate derivatization and liquid chromatography of free amino acids in biological samples. *Food Chemistry*, 46(3), 319-323.

Haque, Z. U., & Mozaffar, Z. (1992). Casein hydrolysate. II. Functional properties of peptides. *Food Hydrocolloids*, 5(6), 559-571.

Huang, G., Ren, Z., & Jiang, J. (2011). Separation of iron-binding peptides from shrimp processing by-products hydrolysates. *Food and Bioprocess Technology*, 4(8), 1527-1532.

Kim, S. B., Seo, I. S., Khan, M. A., et al. (2007a). Enzymatic hydrolysis of heated whey: iron-binding ability of peptides and antigenic protein fractions. *Journal of Dairy Science*, 90(9), 4033-4042.

Kim, S. B., Seo, I. S., Khan, M. A., et al. (2007b). Separation of iron-binding protein from whey through enzymatic hydrolysis. *International Dairy Journal*, 17(6), 625-631.

Lee, S.-H., & Song, K. B. (2009). Purification of an iron-binding nona-peptide from hydrolysates of porcine blood plasma protein. *Process Biochemistry*, 44(3), 378-381.

Luo, Y., & Xie, W. (2012). Effect of phytase treatment on iron bioavailability in faba bean (*Vicia faba* L.) flour. *Food Chemistry*, 134(3), 1251-1255.

- Lv, Y., Liu, Q., Bao, X., et al. (2009). Identification and characteristics of iron-chelating peptides from soybean protein hydrolysates using IMAC-Fe³⁺. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(11), 4593-4597.
- Megías, C., Pedroche, J., Yust, M. M., et al. (2007). Affinity purification of copper-chelating peptides from sunflower protein hydrolysates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(16), 6509-6514.
- Nchienza, H. A., Morawicki, R. O., & Gadang, V. P. (2010). Enzymatic hydrolysis of poultry meal with endo- and exopeptidases. *Poultry Science*, 89(10), 2273-2280.
- 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.
- Porath, J. (1990). Amino acid side chain interaction with chelate-liganded crosslinked dextran, agarose and TSK gel. A mini review of recent work. *Journal of Molecular Recognition*, 3(3), 123-127.
- Puig, S., Askeland, E., & Thiele, D. J. (2005). Coordinated remodeling of cellular metabolism during iron deficiency through targeted mRNA degradation. *Cell*, 120(1), 99-110.
- Ren, Z. Y., Huang, G. R., Jiang, J. X., et al. (2011). Preparation and characteristic of iron-binding peptides from shrimp processing discards hydrolysates. *Advance Journal of Food Science and Technology*, 3(5), 348-354.
- Sgarbieri, V. C. (2004). Propriedades fisiológicas-funcionais das proteínas do soro de leite. *Revista de Nutrição*, 17, 397-409.
- Smyth, M., & FitzGerald, R. J. (1998). Relationship between some characteristics of WPC hydrolysates and the enzyme complement in commercially available proteinase preparations. *International Dairy Journal*, 8(9), 819-827.
- Spies, J. R. (1967). Determination of tryptophan in proteins. *Analytical Chemistry*, 39(12), 1412-1416.
- Sugiarto, M., Ye, A., & Singh, H. (2009). Characterisation of binding of iron to sodium caseinate and whey protein isolate. *Food Chemistry*, 114(3), 1007-1013.
- White, J. A., Hart, R. J., & Fry, J. C. (1986). An evaluation of the waters pico-tag system for the amino-acid analysis of food materials. *The Journal of Automatic Chemistry*, 8(4), 170-177.
- Yamamoto, A. (1975). Proteolytic enzymes. In G. REED (Ed.), *Enzymes in Food Processing* (2 ed. ed., pp. 123-179). London: Academic Press.
- Zhou, J., Wang, X., Ai, T., et al. (2012). Preparation and characterization of β -lactoglobulin hydrolysate-iron complexes. *Journal of Dairy Science*, 95(8), 4230-4236.
- Zhu, L., Glahn, R. P., Nelson, D., et al. (2009). Comparing soluble ferric pyrophosphate to common iron salts and chelates as sources of bioavailable iron in a Caco-2 cell culture model. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(11), 5014-5019.

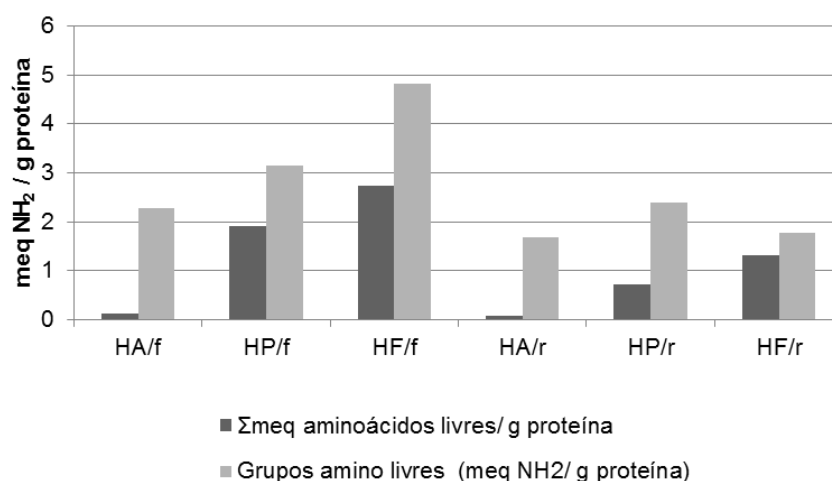


Figura 1. Teor de aminoácidos livres (Σ meq NH_2 /g proteína) e grupos amino livres (meq NH_2 /g proteína) das frações dos hidrolisados. Grupos amino livres: determinado pelo método OPA; Σ meq NH_2 /g proteína: calculado com base no equivalente de NH_2 de cada aminoácido.

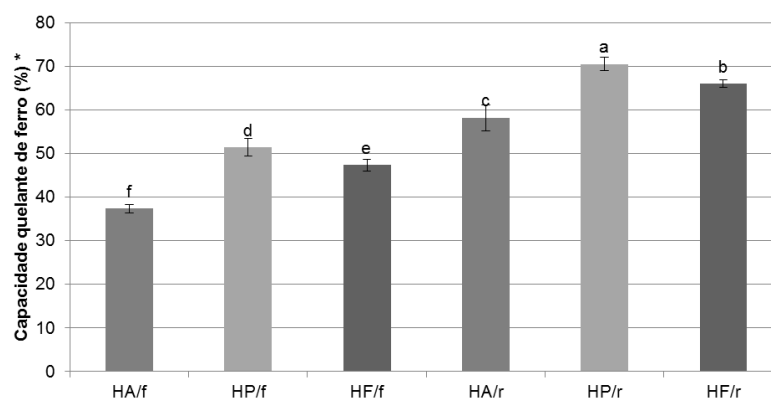


Figura 2. Capacidade quelante de ferro (%) das frações dos hidrolisados. HA/r e HA/f: retido (> 5 kDa) e filtrado (< 5 kDa) do hidrolisado com alcalase; HP/r e HP/f: retido (> 5 kDa) e filtrado (< 5 kDa) do hidrolisado com pancreatina; HF/r e HF/f: retido (> 5 kDa) e filtrado (< 5 kDa) do hidrolisado com flavourzyme. * teor de ferro solúvel no sobrenadante após reação de quelação em pH 7,0, em relação ao inicialmente adicionado; média de 6 determinações. Amostras com letras diferentes diferiram estatisticamente ($p < 0.05$).

ALMIDON DE PLATANO (*MUSA PARADISIACA* L.) ESTERIFICADO CON ACIDO CITRICO: CARACTERIZACION FISICOQUIMICA.**Sánchez-Rivera, M.M.,¹ Wang, Y.-J.,² Jinn, J.-R.,² Osorio-Díaz, P.,¹ Bello-Pérez, L.A.¹**¹ Centro de Desarrollo de Productos Bióticos, Instituto Politécnico Nacional, México.² Departamento de Ciencia de los Alimentos, Universidad de Arkansas, EE.UU.**INTRODUCCIÓN**

El almidón, principal fuente de carbohidratos en la dieta humana y ampliamente usado en la industria (Jyothi *et al.*, 2007; Xie & Liu, 2004), está constituido de dos polímeros de glucosa, la amilopectina ramificada y la amilosa lineal, (Ma *et al.*, 2009; Salam *et al.*, 2010). Con base a la velocidad de digestión, el almidón se clasifica en almidón de digestión rápida (ADR), almidón de digestión lenta (ADL) y almidón resistente (AR) (Zhang & Hamaker, 2012). El AR es la suma del almidón y productos de degradación del mismo no absorbidos en el intestino delgado de individuos sanos (EURESTA, 1992). El AR presenta beneficios fisiológicos similares a la fibra dietaria como reducción calórica, contribuye a evitar patologías como cáncer de colon, diabetes, obesidad y mejora el metabolismo del colesterol (Xie & Liu, 2004; Ma *et al.*, 2009; Fuentes-Zaragoza *et al.*, 2010). Como propiedades tecnológicas, el AR mejora la apariencia, textura y sensación en la boca al igual que las fibras convencionales. Algunos alimentos enriquecidos con AR son panes, pasteles, galletas y pastas (Fuentes-Zaragoza *et al.*, 2010). El AR se clasifica en cuatro tipos (AR1-4), almidón inaccesible físicamente (AR1), almidón granular (AR2), almidones altos en amilosa o amilosa retrogradada (AR3) y almidones químicamente modificados (AR4) (Xie *et al.*, 2006; Fuentes-Zaragoza *et al.*, 2010). Los almidones AR4 obtenidos por esterificación, se obtienen con ácidos como acético, cítrico y fórmico (Jyothi *et al.*, 2007). El ácido cítrico (AC), al igual que los otros ácidos, actúa como sustituyente de los grupos hidroxilo (OH-) de las moléculas de glucosa del almidón, al introducir grupos carboxilo y ésteres, los cuales contribuyen en reducir la digestibilidad enzimática (Jyothi *et al.*, 2007; Xie *et al.*, 2006) y en modificar las características funcionales (Shi *et al.*, 2007). Del grado de sustitución (GS), es decir, del número de sustituyentes en el almidón y de la relación amilosa:amilopectina, dependen las propiedades de gelatinización, retrogradación y formación de gel de los almidones (Tharanathan, 2005; Shi *et al.*, 2007; Salam *et al.*, 2010; Xie & Liu, 2004). El almidón citrato que se obtiene por esterificación con AC (nutricionalmente inofensivo) (Xie & Liu, 2004; Wepner *et al.*, 1999), es considerado una fuente de AR en la industria de alimentos (Chowdary & Enturi, 2011). Almidones de fuentes no convencionales, como

plátano inmaduro, podrían ser modificados por esterificación con AC, para producir ingredientes funcionales con alto contenido de AR (Casarrubias-Castillo *et al.*, 2012). El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto de la temperatura y el tiempo de reacción sobre el contenido de AR y el GS en el almidón de plátano (*Musa paradisiaca*), esterificado con AC y caracterizar fisicoquímicamente los almidones citratos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de almidones citratos

Se obtuvo el almidón nativo a partir de la harina de frutos inmaduros de plátano (*Musa paradisiaca* L.) (patente No. 5797,985, Whistler). Los almidones citratos (Xie & Liu, 2004) se obtuvieron al mezclar 60 mL de solución de AC (40 %, pH 3) con 60 g (b.s) de almidón nativo, dejando en un contenedor de aluminio (Al), 12 h a temperatura ambiente, cubiertos con Al. Después se calentó (60 °C/12 h) en una estufa (VWE, SHEL LAB); los sólidos removidos se dejaron dos horas más. La mezcla se molió en un mezclador (KRUPS, tipo F203) y se dividió en tres porciones; extendiendo cada una sobre contenedores de Al; cada porción se calentó en una estufa a 120 °C (3, 6 ó 9 h), se enfrió 10 minutos y se filtró al vacío con 2 L de agua destilada y filtros Whatman #1; después de secarse a temperatura ambiente, se molieron y tamizaron (200 US, 75 µm). Mismo procedimiento se usó para esterificar el almidón a 135 y 150 °C.

Digestibilidad *In Vitro*

En tubos de 50 mL se mezcló goma guar, almidón (0.5 g, bs) y 10 mL de agua destilada, se agitó 1 min y se dejó en baño de agua hirviendo (20 min); se enfriaron y se adicionaron 5 mL de pepsina en ácido clorhídrico 0.05 N, se incubó a 37 °C/30 min y se adicionaron 5 mL de regulador de acetato de sodio (0.1 M, pH 5.2, 100 mM CaCl₂). A intervalos de 1 min se adicionaron 5 mL de mezcla enzimática: 450 mg (cuatriplicado) de pancreatina en 20 mL de agua destilada, se agitó 10 min y se centrifugó (1500xg/10 min); 13.5 mL del sobrenadante se mezclaron con invertasa (401 unidades/mg) y amiloglucosidasa (140 unidades/mL) (Englyst *et al.*, 1992). Los tubos se dejaron en un baño con agua (GRANT OLS200), y en agitación (132 golpes/min) a 37 °C. A los 20 (G20) y 120 min (G120) se tomaron 0.5 mL (triplicado) y se transfirieron en tubos con etanol (20 mL, 66 % v/v). Los tubos G20 y G120 se agitaron 1 min y se centrifugaron para cuantificar glucosa (Kit GOD-POD, Megazyme). El almidón total (AT) se determinó con el Kit de Megazyme. Las

ecuaciones aplicadas fueron para $ADR=G20 \times 0.9$, $ADL=(G120-G20) \times 0.9$ y $AR=(AT)-(ADR+ADL)$.

Grado de sustitución (GS)

Una muestra (450 mg) se mezcló con 2 mL de agua destilada y 50 mL de KOH 1M, se agitó y se pasó a un baño de agua hirviendo (10 min), se enfrió, se ajustó el pH a 8.5 (ácido acético 3M) y se vertió en regulador de borato de sodio (25 mL, pH 8.5) e indicador (0.3 g; murexida:sulfato de sodio, 1:500, w/w) para aforar a 300 mL con agua destilada y titular con sulfato de cobre (0.05 M) (Shin *et al.*, 2007). Se determinó GS (Wuzbur, 1964), $GS = 162W/100M - (M-1)W$, donde W (% del sustituyente en peso) = [citrato unido (g)/muestra (g) – citrato unido (g)]x 100, y M = masa molar del sustituyente (174 g/mol); 162= PM de un anillo de glucosa (Shi *et al.*, 2007).

Calorimetría de barrido diferencial (CBD)

En el calorímetro de barrido diferencial *Pyris-1* (Perkin–Elmer, Norwalk, CT, USA) (Shin *et al.*, 2009) se calentaron cápsulas (*Perkin Elmer*) de alta presión de 30-180 °C, con 10 mg de muestra y 40 µL de agua destilada, previamente selladas herméticamente y equilibradas toda la noche a temperatura ambiente; la velocidad de calentamiento fue 10 C/min. Las transiciones térmicas (T_i , T_p y T_f) y la entalpia de gelatinización (ΔH_g) se calcularon con el Software *Pyris* versión 5.7.

Microscopia electrónica de barrido (MEB) y difracción de rayos X

En un microscopio electrónico de barrido (PHILIPS XL30 ESEM) con voltaje de aceleración de 10 kV se observó la superficie de los gránulos previamente recubiertos con una capa de oro de 20 nm. Los patrones de difracción de rayos X se obtuvieron en un difractómetro (PW1830, Phillips, Almelo, The Netherlands) con radiación de cobre (Cu Ka k = 1.5418 Å), operado a 40 mA y 45 kV. La medición se realizó a 2θ de 2-40°, con tamaño de paso de 0.05° y tiempo de conteo de 2 s.

Perfiles de viscosidad

En el analizador rápido de viscosidad (ARV) (RVA series-4, *Newport Scientific*, Sydney, Australia) (Jane *et al.*, 1999; AACC International 2000) las dispersiones de almidón (10% p/p) se equilibraron a 30 °C (1 min) y calentaron de 30-95 °C, (isotérmico 5.5 min a 95 °C) y se enfriaron a 50 °C (isotérmico 2 min a 50 °C); la velocidad de calentamiento-enfriamiento fue 6.0 °C/min.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Almidones citratos de plátano

Los almidones citratos de plátano, esterificados con 7-8 % de humedad (Xie & Liu, 2004) presentaron AR en un intervalo de 31.79-82.11%, más alto al nativo (19.61 %) después de una cocción de 20 min. El contenido más alto de AR como GS, se obtuvieron a 135 °C y 9 h de reacción (Tabla 1). La resistencia a la degradación enzimática que mostraron los almidones esterificados fue atribuido a los grupos funcionales debido a las uniones intermoleculares que producen en el almidón (Xie & Liu, 2004). Al incrementarse el tiempo y la temperatura de reacción, el AR se incrementó y el ADL y el ADR disminuyeron (Tabla 1). El GS se incrementó conforme aumentó el AR, indicativo del cambio estructural en los gránulos de almidón (Xie & Liu, 2004); la disminución del GS que se observó en los almidones esterificados a 150 °C, demostró disociación de grupos químicos introducidos (Xie & Liu, 2004), atribuido a una mayor deshidratación del AC durante la reacción (Tharanathan, 2005). Se ha demostrado que el tratamiento térmico y la hidrólisis ácida con AC, desramifican las moléculas del almidón, contribuyendo al incremento de AR (Zhao & Lin, 2009). Por otra parte, los grupos funcionales introducidos, contribuyeron en dar estabilidad a la estructura molecular durante la cocción.

Propiedades térmicas de gelatinización

El intervalo de temperatura de gelatinización (ITG) del almidón nativo fue de 72.52-82.02 °C, con T_p (77.49 °C) y ΔH (18.50 J/g), más alto que el ITG de los esterificados (Tabla 1); en los almidones modificados, la T_p y ΔH disminuyeron al incrementarse la temperatura y el tiempo de reacción.

Morfología de los gránulos y difracción de rayos X

Los gránulos nativos fueron alargados, ovalados e irregulares, con superficie lisa y densa (Millán-Testa *et al.*, 2005), mientras que los esterificados mostraron zonas erosionadas y colapsadas sobre la superficie (Figura 1). En gránulos de arroz esterificados con AC se observaron estructuras reasociadas y alteradas, así como formación de partículas grandes con forma irregular (Shin *et al.*, 2009). Los patrones de difracción de rayos X fueron tipo A, con intensidades en 2θ a 15°, 17°, 18° y 23° (Dexter, 1984; Oates, 1997; Whistler & Daniel, 1984), característico de gránulos intactos (Robin *et al.*, 1974; Hizukuri, 1986, Bello-Pérez *et al.*, 1998), con amilopectinas de cadenas más cortas que el tipo B; sin embargo, se observaron disminución en la intensidad de los picos de los almidones citratos (Figura 2), indicativo de

una disminución en el nivel de cristalinidad debido a la desorganización producida por la esterificación con AC (Xie *et al.*, 2006; Shi *et al.*, 2007).

Perfiles de viscosidad

Se observaron cambios en la viscosidad del almidón nativo (Bowers, 1992; Rasper, 1956; Thomas & Atwell, 1999) relacionado con el hinchamiento, rompimiento granular, solubilización y gelificación de polímeros (gelatinización) (Ziegler *et al.*, 1993; Yuan, 1993; Thomas & Atwell, 1999); sin embargo, los perfiles de los almidones citratos fueron planos (Figura 3), durante todo el proceso de calentamiento-cocción-enfriamiento; es decir, resistieron el hinchamiento, no incrementaron de volumen, no absorbieron agua, por lo que no gelatinizaron, debido a los enlaces intermoleculares producidos por los grupos funcionales introducidos (Xie & Liu, 2004).

Tabla 1. Grado de sustitución y propiedades térmicas y de digestibilidad de almidones citratos de plátano.

	GS	Fracciones del almidón			Propiedades térmicas			
		ADR	ADL	AR	Ti	Tp	Tf	ΔH
120°C/3h	0.049±0.01	71.27±1.24	10.24±0.025	18.49±0.02	56.51	65.38	73.09	11.19
120°C/6h	0.063±0.01	60.44±0.79	7.77±1.07	31.79±0.05	54.49	63.43	72.15	3.19
120°C/9h	0.084±0.01	44.42±0.83	9.87±0.32	45.71±0.90	54.06	60.76	70.85	2.22
135°C/3h	0.086±0.07	21.63±1.32	7.03±1.02	71.34±0.31	57.96	62.96	74.22	2.68
135°C/6h	0.107±0.07	17.62±0.85	2.69±0.45	79.69±0.40	53.71	65.12	78.44	2.35
135°C/9h	0.111±0.07	16.20±0.86	1.69±0.72	82.11±0.27	55.14	62.52	77.60	1.99
150°C/3h	0.073±0.14	19.36±0.86	6.65±0.56	73.99±0.41	56.48	63.47	70.62	1.64
150°C/6h	0.080±0.01	18.85±0.66	2.91±0.31	78.24±0.38	53.60	61.56	69.74	1.54
150°C/9h	0.075±0.01	18.10±0.64	1.46±0.48	80.44±0.55	54.92	62.92	66.70	1.01

GS = grado de sustitución; ADR= almidón de digestión rápida; ADL= almidón de digestión lenta; AR = almidón resistente; Ti (°C) = Temperatura de inicio; Tp (°C)= temperatura pico; Tf (°C) = temperatura final; ΔH (J/g) = entalpía.

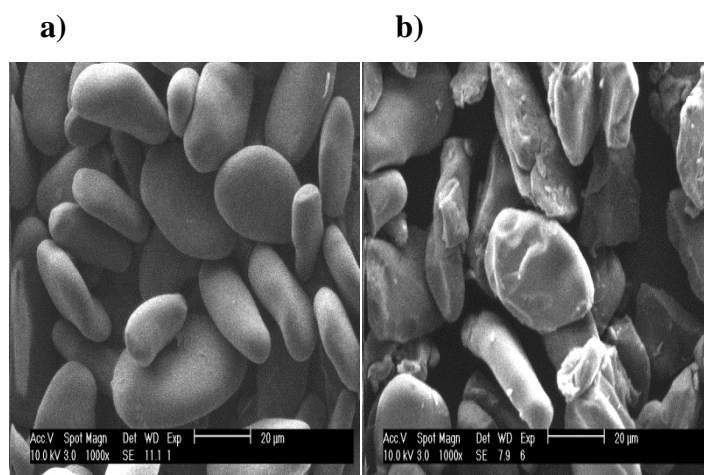


Figura 1. MEB de almidones de plátano nativo (a) y esterificado con AC (b).

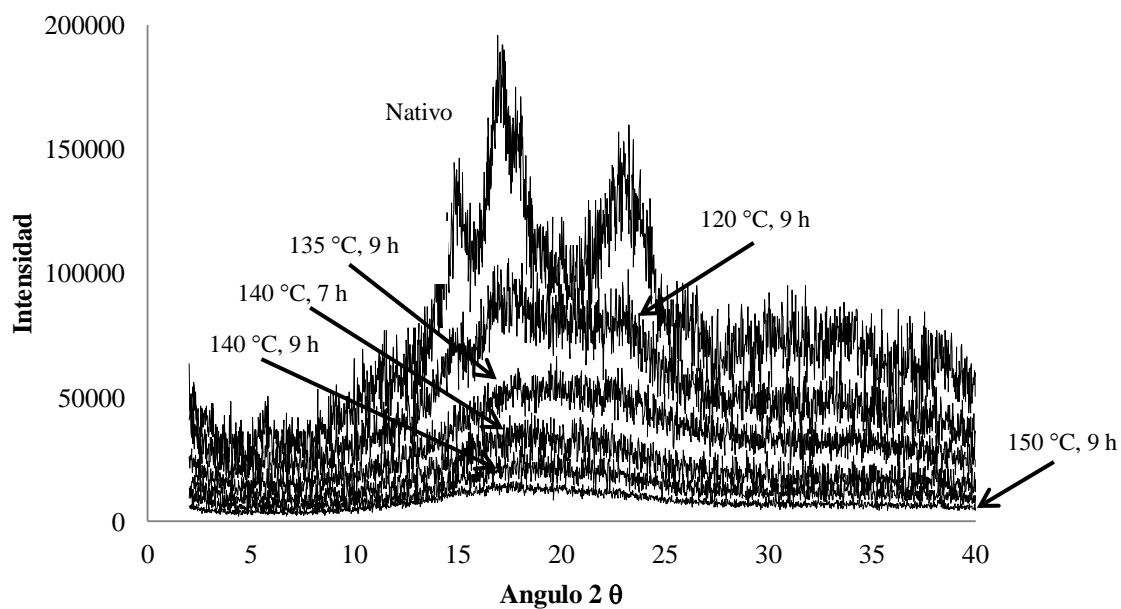


Figura 2. Patrones de difracción de rayos X de los almidones nativo y esterificados de plátano.

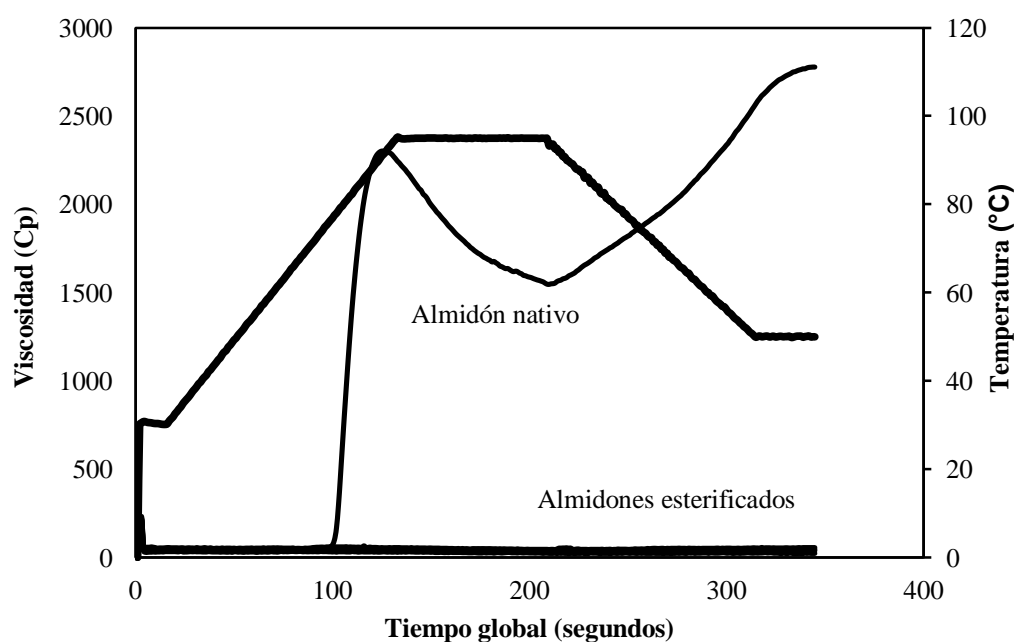


Figura 3. Perfiles de viscosidad de los almidones de plátano, nativo y esterificados.

CONCLUSIONES

La esterificación con AC a temperaturas elevadas incrementó el contenido de AR en el almidón nativo de plátano. El alto contenido de AR después de la cocción de 20 minutos y la resistencia a la digestibilidad enzimática que presentaron los gránulos esterificados, fue indicativo de la estabilidad de la estructura molecular producida por los grupos funcionales introducidos. El contenido más alto de AR se relacionó con el GS más elevado. El tratamiento térmico de esterificación con AC provocó zonas erosionadas y colapsadas sobre la superficie de los gránulos, disminución en las propiedades térmicas de gelatinización y en la cristalinidad; además, los gránulos esterificados y calentados en suficiente agua no gelatinizaron ni formaron geles.

AGRADECIMIENTOS

Al Instituto de Ciencia de los Alimentos de la Universidad de Arkansas, EE. UU. Al Instituto Politécnico Nacional, México; así como a la COFAA-IPN y EDI-IPN, por todo el apoyo económico recibido para la realización de este trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

- AACC International. 2000. Approved Methods of Analysis, 10th Ed. Vol. II. Method 44-15A, 46-19 and 61-02. AACC International, St. Paul, MN.
- Bello-Perez, L.A. *et al. Journal and Cereal Science*, 1998, 27, 267-278.
- Bowers, J. In: Food Theory and Applications. 2nd Ed. MacMillan Publishing Company. Printed in USA. 1992, p 81-96.
- Casarrubias-Castillo, *et al. Starch/Starke*, 2012, 64, 304–312.
- Chowdary, K.P.R & Enturi, V. *International Journal of Current Pharmaceutical Research*, 2011, 3(4), 110-114.
- Dexter, F. In: Starch Chemistry and Technology, 2nd Ed. (Eds. R.L. Whistler, J.N. BeMiller, E.F. Paschall). Academic Press, New York. 1984, p 200.
- Englyst, H.N. & Cummings, J.H. *American Journal of Clinical Nutrition*, 1986, 44, 42-50.
- Englyst, H.N. *et al. European Journal of Clinical Nutrition*, 1992, 46(2), 33-50.
- EURESTA. European FLAIR concerted action on resistant starch. EURESTA, 1992, Newsletter III, 7.
- Fuentes-Zaragoza, E. *et al. Food Research International*, 2010, 43, 931-942.
- Hizukuri, S. *Carbohydrate Research*, 1986, 147, 342-347.
- Jane, J. *et al. Cereal Chemistry*, 1999, 76(5), 629-632.
- Jyothi, A. *et al. Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2007, 87, 871-879.
- Ma, X. *et al. Carbohydrate Polymers*, 2009, 75, 1-8.
- Millán-Testa, *et al. Journal and Agriculture and Food Chemistry*, 2005, 53, 495-501.
- Oates, Ch. G. *Trends in Food Science and Technology*, 1997, 81, 375-382.
- Rasper, V. *Analytical Chemistry*, 1956, 28, 382.
- Robin, J.P. *et al. Cereal Chemistry*, 1974, 51, 389-406.
- Salam, A. *et al. Biomacromolecules*, 2010, 11, 1453-1459.
- Shi, R. *et al. Carbohydrate Polymers*, 2007, 69, 748-755.
- Shin, S. I. *et al. Carbohydrate Polymers*, 2009, 78, 588-595.
- Shin, S.I. *et al. Journal of Cereal Science*, 2007, 45, 24-33.
- Tharanathan, R. N. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2005, 45, 371-384.
- Thomas, D.J. & Atwell, W. A. In: Starches. Practical guide for the food industry. Eagan Press Handbook Series. St. Paul. Mn. USA. 1999, p 1-12.
- Wepner, B. *et al. Starch/Stärke*, 1999, 51 (10), 354-361.
- Wurzburg, O.B. In: Methods in carbohydrate chemistry, Whistler, R. L. (Ed.). Vol. IV. Academic Press, Inc. New York. 1964, p 286-288.
- Xie, X.S. & Liu, Q. *Starch/Stärke*, 2004, 56, 364-370.
- Xie, X. *et al. Food Research International*, 2006, 39, 332-341.
- Yuan, R.C. *et al. Cereal Chemistry*, 1993, 44, 2970-2976.

Zhang, P. & Hamaker, B.R. *Carbohydrate Polymers*, 2012, 87(2), 552-1558.

Zhao, X-H. & Lin, Y. *European Food Research*, 2009, 228, 1015-1021.

Ziegler, G. R. *et al. Cereal Chemistry*, 1993, 70(3), 247-251.

Wistler, R.L. & Daniel, J.R.. In: *Starch: Chemistry and Technology*. Whistler, R. L. BeMiller, J. N. & Phaschall, E. F. (Eds.). Academic Press, Inc. New York. 1984.

UTILIZACION DE CÁSCARA DE PIÑA EN EL DESARROLLO DE UNA BEBIDA TIPO CHICHA.

Liz Pérez¹, Elevina Pérez², Davdmary Cueto¹, Mariana Bastidas³

¹Laboratorio de Diseño y Desarrollo de Productos. DEVENALSA. Caracas, Venezuela. liz.perez@devenalsa.com, davdmary.cueto@devenalsa.com.

²Laboratorio de Granos Raíces y Tubérculos “*Dra. Mercedes Mosqueda*”. Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos. ICTA. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela. perezee@gmail.com.

³Escuela de Biología. Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela. marianabastidas3@gmail.com.

INTRODUCCIÓN.

La piña es uno de los rubros de mayor importancia y comercialización a nivel mundial. En Venezuela es una de las frutas de mayor consumo y preferencia en la mesa. Nutricionalmente una ración de jugos (155 cc), contiene cerca de 155-160 calorías, con una composición del 15% de azúcar y una acidez entre 0,4 – 0,7%, es una importante fuente de vitamina A y B, minerales y carbohidratos; adicionalmente contenido de Bromelina, enzima con propiedades digestivas, similares a la papaína. Guzmán Pérez, 2004.

La producción nacional de piña está estimada en 436, 590 tm cosechadas en una superficie de 21, 360 hectáreas y con un rendimiento de 20,440 Kg/Hectárea para el año 2012, FEDEAGRO, 2013. A nivel industrial el aprovechamiento de la piña está enfocado primordialmente a la pulpa comestible, los principales productos derivados y comercializados en el país incluyen Piña colada, refresco, compota, yoka, néctares, gelatinas, piña en almíbar, mermeladas y concentrados.

Entre un 50-55,5% correspondiente a la cáscara y corazón de la piña, lo cual, es desaprovechando y convertido en desecho. Se han desarrollado investigaciones de diversa índole para el aprovechamiento de la cascará, tal es el caso de Tejeda y col, 2010, produjeron bioetanol a partir de la fermentación alcohólica de jarabes glucosados derivados de cáscaras de naranja y piña, encontró un rendimiento de producción de 1mg de etanol por 1 gr de cascara de piña, la naranja obtuvo mayor rendimiento debido a la mayor presencia de azúcares reductores, siendo la relación de 8mg de etanol por 1 gr de cascara de naranja. De esta manera se refleja una de las tantas posibilidades de utilización de la cascara de frutas.

La cáscara de piña es una fuente potencial de fibra y potasio, importantes en la nutrición humana y de bromelina que es una enzima perteneciente a las proteasas, que muchos estudios han demostrado desempeña un rol importante en la patofisiología de muchas

enfermedades. Según Galarza, 2002, un extracto de corazón de la piña, tiene mayor efecto sobre el ablandamiento de carnes que extractos de cáscara y pulpa; esto puede indicar que el corazón de la piña contiene bromelina de mayor actividad enzimática que la de cualquier otra parte de la fruta. Propiedades similares le permiten actuar eficientemente sobre levaduras, lo que conlleva a que su uso se extienda a la industria panificadora. Moodie, P. 2001.

Desde el año 1950, se ha identificado que las prolaminas de los cereales trigo, cebada, centeno y avena, están relacionados con la enfermedad celíaca, afectando a las personas que los consumen en productos que hacen parte de la dieta diaria. En algunos estudios, se ha identificado que alrededor de un 3% de la población mundial sufren de celíaca, esta patología ha sido descrita como una enteropatía autoinmune que afecta el intestino delgado, atrofiando las vellosidades de la mucosa y generando mala absorción de los nutrientes, siendo este uno de los principales motivos para impulsar el desarrollo de productos libres de gluten-PFG, que respondan a las necesidades de consumidores con regímenes especiales alimentarios. Gallagher, 2009.

Las harinas compuestas y alternativas constituyen una opción para la formulación de alimentos para regímenes especiales, alimentos con valor agregado nutricional y la aplicación de materia primas innovadoras, León y Rosell, 2007. Las harinas de cereales, entre ellas el arroz y otros granos no convencionales tales como las leguminosas, musáceas, raíces y tubérculos, subproductos de la industria como las cascara de frutas entre otros, se perciben como potenciales ingredientes en el desarrollo de productos a nivel mundial. El objetivo de este trabajo fue desarrollar y caracterizar una mezcla en polvo para preparar una bebida tipo chicha a partir de cáscara de piña (24,7%) y harina de arroz. Se evaluaron las características físicas, reológicas y sensoriales de la bebida, por un panel de evaluadores no entrenados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia Prima

La Cáscara de piña fresca se secó en un deshidratador de bandeja a una temperatura de $65\pm 5^{\circ}\text{C}$ durante 5h, posteriormente molida hasta obtener un tamaño de partícula menor a 80 mesh. La harina de arroz cruda, fue adquirida en el mercado local.

Formulación de la bebida

La formulación se desarrolló en función de la aceptabilidad y palatividad de la mezcla de harina de arroz con diferentes porcentajes de cascara de piña, resultando sensorialmente

aceptable una incorporación de hasta un 24,7% de cascara de Piña, adicionalmente se incorporó a la mezcla canela en polvo y clavo de especia para aromatizar la mezcla.

Modo de preparación

La bebida fue preparada mezclando agua/formula polvo en relación 8:1, se homogenizó y llevo a cocción, al hervir se cocinó a fuego lento durante 15 minutos, luego se llevo a refrigeración, para servir en frio.

Caracterización proximal y fisicoquímica

Para la caracterización de la mezcla se determinó el porcentaje de humedad de acuerdo a la Norma Venezolana Covenin (NVC) 1553-80, porcentaje de proteína NVC 1195-80, el contenido de cenizas siguiendo el método AOAC (1997), No 925.09, el contenido de Fibra dietaría total de acuerdo a AOAC No 985.29. Todos los datos expresados como % en base seca, excepto la humedad. El pH y la acidez titulable se realizaron según las metodologías oficiales N° 02-52 y 02-31, respectivamente de la AACC, (2003). (Ácido Cítrico miliequivalentes de 0,07009).

Características funcionales

Se evaluó el Perfil de gelatinización a través del comportamiento amilográfico el cual fue realizado empleando un amilógrafo Brabender. Según metodología descrita en AACC 2000.

Evaluación Sensorial

Para la formulación de un nuevo producto debe tomarse en cuenta la demanda y necesidad del público consumidor, en este estudio se evaluó la aceptación de la bebida en un panelistas no entrenados. Se les aplico una prueba del tipo afectiva, donde se les pidió que probaran la bebida y que indicaran el grado de aceptación o rechazo, se les pidieron a los panelistas que evaluaran la bebida de acuerdo a su Color, olor, sabor, aroma y aceptación global mediante una escala hedónica establecida, donde el valor 1: Me disgusta 5: Me gusta, 7: Me gusta mucho.

Análisis Estadístico

Los análisis se realizaron por triplicado en dos baches, calculándose la media y la desviación estándar y fueron analizados mediante un análisis de varianza ANOVA de una vía. StartGrafic. Programa Estadístico.

RESULTADOS

Caracterización Proximal y fisicoquímica

El producto desarrollado es novedoso en el mercado, por ello para efectos de caracterización, decidimos establecer comparativamente los cambios que ocurren en las características de la harina de arroz cruda (Pérez, 2011), al incorporar cascara de piña. La caracterización de la mezcla se muestra en la Tabla 1, al igual que los valores base de la harina de arroz. Los resultados indican que la incorporación de la cascara de piña incrementa todos los constituyentes de manera significativa, excepto los carbohidratos que presenta una dilución de 80,26% en la harina de arroz a 77,07% en la mezcla, evidenciando una reducción del contenido calórico de la base de arroz, por el alto contenido de Fibra Dietaria presente en la Cascara de piña. Cañas y col, 2011.

La Fibra Dietaria tiene efectos benéficos para la salud humana, su ingestión se ha relacionado con la prevención de ciertas patologías como diabetes, alto colesterol, cáncer de colon y desórdenes gastrointestinales, entre otros Cañas y col, 2011. El aporte de fibra dietaria representa un 10,60%. La fibra dietaria (FD) se encuentra principalmente en las paredes de las células vegetales y ha sido definida por la Asociación Americana de la Química de los Cereales como la parte comestible de las plantas o carbohidratos análogos que son resistentes a la digestión y absorción en el intestino delgado, con una completa o parcial fermentación en el intestino grueso. Institute of Medicine, Food and Nutrition Board, 2001.

La bebida aporta 7,78% de proteína, un 2,08% de cenizas, representando un buen aporte en microelementos como Potasio, fósforo y calcio, pues se maneja la referencia del aporte de minerales en la cascara de piña. Los cuales son elementos importantes en reacciones metabólicas funcionales de los individuos. La incorporación de la cascara refleja un aumento de la acidez titulable y una disminución del pH, lo cual, le da la característica ácida y el gusto a la bebida tradicional Chicha andina, el ácido cítrico es el principal aportante de acidez en la bebida. El valor de humedad y a_w de la mezcla le confiere una buena estabilidad en anaquel.

En cuanto al color la mezcla, los parámetros L^* presento una reducción del 92,02 a 76,68, con intensidad de color azul b^* :17,45 y matiz rojo a^* : 5,45, la combinación de estos parámetros le confiere el color beige de la mezcla en polvo.

Características Funcionales

La temperatura inicial de gelatinización fue de 82°C para la harina de arroz y de 85,5 °C para la mezcla de chicha en polvo (Tabla 1). La incorporación de la cascara de piña permite que el granulo de almidón tolere una mayor temperatura durante el hinchamiento y antes de su ruptura, esto se refleja en el pico de viscosidad máxima, siendo 210 UB en la Harina de arroz (Figura 1A), 270 UB para la mezcla (Figura 1B).

La viscosidad medida a 90°C y (90°C X 30 min), refleja un aumento significativo en la mezcla, asociado a la rehidratación de las cascaras y sus fibra estructural, compuesta principalmente por polisacáridos, oligosacáridos y lignina, estructuras ricas en ácidos urónicos, que son solubles en agua caliente y que forman geles. Se observó un incremento de la viscosidad de la mezcla al enfriar de 90°C a 50°C, lo cual en almidones indica una baja estabilidad, pero en el producto desarrollado está característica es deseada, ya que, la bebida se sirve a bajas temperaturas. La viscosidad aparente (Figura 2), muestra el comportamiento de la mezcla como un fluido no newtoniano, con comportamiento pseudoplastico, ya que, su viscosidad aparente disminuye al aumentar la fuerza de corte.

Evaluación Sensorial

Los resultados de la evaluación sensorial (Figura 3), indica un grado de aceptación global, sabor y aroma fueron valorados con escalas 6, mostrando un agrado por los panelistas, sin embargo, el color fue el parámetro menor valorado. Los panelistas realizaron sugerencias y versiones para su modo de preparación recomendando la incorporación de hielo e inclusive trozos de piña fresca.

CONCLUSIONES

Es factible la utilización de la cascará en la formulación de alimentos novedosos, tradicionales y atractivos a los consumidores, con versátiles formas de preparación y consumo, adaptables a gustos particulares. El éxito de los productos innovadores elaborados a partir de materias primas no convencionales, deberá fortalecerse y apoyarse con campañas de educativas que den a conocer a los consumidores, los beneficios nutricionales de su ingesta, a los empresarios las ventajas económicas de trabajar con materias primas de bajo costo en el marco de un proyecto ecológicamente equilibrado.

BIBLIOGRAFIA

AACC. (2003). American Association of Cereal Chemist. Cereal Laboratory Approved Methods. Edition 10 Th. St. Paul, Mn. USA.

FEDEAGRO 2013. Confederación de Asociaciones de Productores Agropecuarios, <http://www.fedeagro.org/produccion/default.asp>; consulta Octubre, 2013.

Galarza., D.F. 2002. Efecto ablandador de extractos de cascara, pulpa y corazón de piña en el lomo (*Longissimus toracis*) y la mano de piedra (*Semitendinosus*) de res. Zamorano. Honduras.

Gallagher, E. 2009. Gluten-Free Food Science and Technology. United Kingdom. Blackwell Publishing Ltd: 42-43.

Guzmán Pérez José Eduardo. 2004. El Cultivo de La Piña. Editores Espasande, S.R.L. Caracas-Venezuela. Pág: 7,

León, A. Rosell, C. (2007) De tales harinas, tales panes. Argentina. Baéz Impresiones. Pág: 145.

Moodie, P. 2001. Enzimas Tradicionales para la Industria Panificadora. American Institute of Baking (AIB) de Manhattan, Kansas.

Pérez Liz, 2011. Elaboración de pastas con bajo contenido de fenilalanina, a base de harina de arroz (*Oriza sativa*) e hidrolizado proteico de amaranto (*Amaranthus dubius*). Trabajo Especial de Grado. Postgrado en Ciencia y Tecnología de Alimentos. ICTA. UCV. Caracas. Venezuela.

ANEXO

Tabla 1. Caracterización proximal, fisicoquímica y funcional de harina de arroz cruda y la mezcla en polvo bebida (chicha Andina).

<i>Parámetro</i>	<i>Harina de arroz (Pérez, 2011)</i>	<i>Mezcla chicha Andina</i>
<i>Caracterización Proximal y Fisicoquímica</i>		
Humedad (%)	10,26 ^a	11,27 ^b
Cenizas (%)	1,85 ^a	2,08 ^b
Proteína (%)	6,34 ^a	7,78 ^b
Grasa (%)	1,4 ^a	1,80 ^b
Carbohidratos totales ¹	80,26 ^a	77,07 ^b
Fibra Dietaria Total (%)	-	10,6 ^b
pH	6,15 ^a	3,9 ^b
aW		0,35
Acidez (%)	0,17 ^a	11,49 ^b
Color: L*	92,04 ^a	76,68 ^b
a*	0,41 ^a	5,05 ^b
b*	7,76 ^a	17,45 ^b
<i>Propiedades Funcionales</i>		
Temp. Inicial de gelatinización (°C)	82 ^a	85,55 ^b
Pico viscosidad máxima (UB)	210 ^a	271 ^b
Viscosidad 90°C	60 ^a	105 ^b
Viscosidad 90°C x 30 min	220 ^a	270 ^b
Viscosidad 50°C	240 ^a	713 ^b
Breackdow	30 ^a	2 ^b
Consistencia	.-10 ^a	164 ^b
Set back	20 ^a	443 ^b

¹calculados por diferencia

La misma letra en una misma fila indica que no hay diferencias significativas (P<0,05).

Figura 1. Viscosidad Aparente de la bebida (chicha Andina). (A, amilograma de la harina de arroz cruda), (B, amilograma la bebida (Chicha Andina))

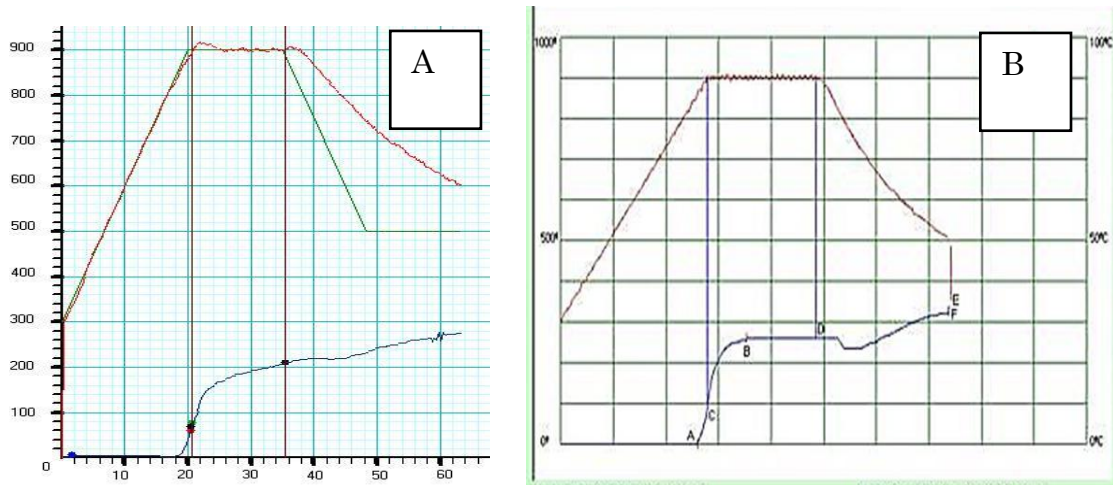


Figura 2. Viscosidad Aparente de la bebida (Chicha Andina).

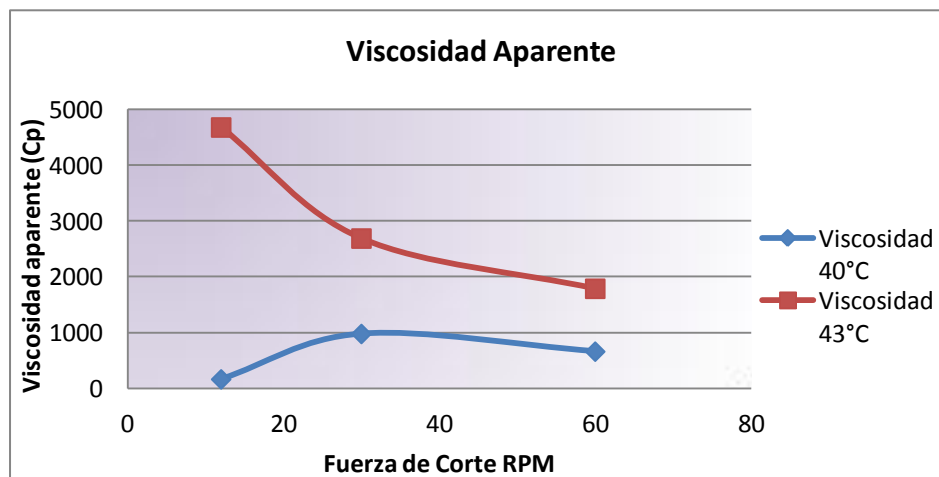
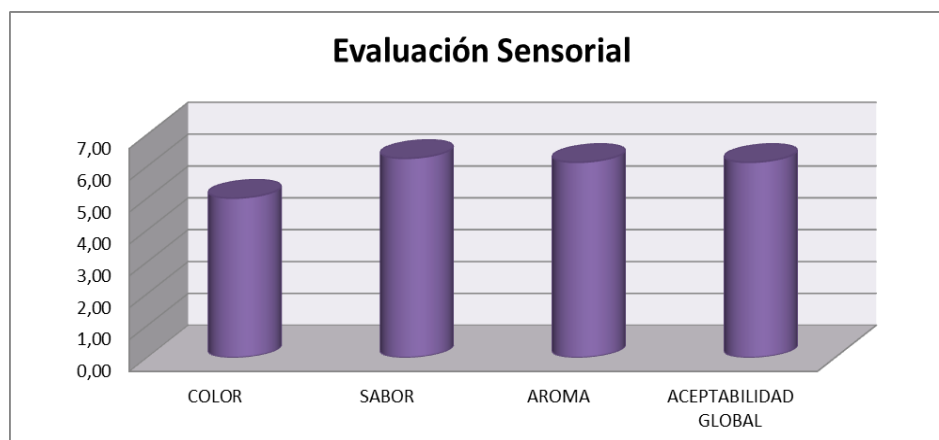


Figura 3. Evaluación Sensorial de la de la bebida (Chicha Andina)



VALIDACIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO PARA LA DETERMINACIÓN DE GLUCÓSIDOS MINORITARIOS PRESENTES EN LAS HOJAS DE *STEVIA REBAUDIANA* BERTONI CULTIVADAS EN EL SURESTE DE MÉXICO

Irma Aranda-González^{1*}, Yolanda Moguel-Ordoñez², Diana Cabrera-Amaro², David Betancur-Ancona¹

¹ Facultad de Ingeniería Química, Universidad Autónoma de Yucatán, Periférico Norte Km. 33.5, Tablaje Catastral 13615, Col. Chuburna de Hidalgo Inn. Mérida, Yucatán, C.P. 97203, *E-mail: mitocondri@yahoo.com

² Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Campo experimental Mocochoá, Carretera Mérida-Motul, Km. 25, C.P. 97454, Mocochoá, Yucatán

INTRODUCCIÓN

Stevia es un género de plantas nativas de regiones subtropicales y tropicales de Sudamérica y Centroamérica, de las cuales hay 407 especies. Una de sus especies es *Stevia rebaudiana* Bertoni, la cual es conocida en guaraní como ka'a he'ẽ ("hierba dulce"), y es la de mayor potencial edulcorante (Goyal, Samsher, & Goyal, 2009). Los compuestos responsables de la propiedad edulcorante de la planta, son los glucósidos diterpenos esteviósido, rebaudiósido A, C y D, así como Dulcósido A. Estos compuestos son glucósidos derivados del diterpeno esteviol (ácido ent-13-hidroxikaur-16-en-19-oico), los cuales se forman reemplazando el átomo de hidrógeno carboxilo con combinaciones de glucosa, xilosa y ramnosa para formar un éter (Chaturvedula, Upreti, & Prakash, 2011). El esteviol tiene dos grupos hidroxilo, uno unido al carbono 19 (C-19) y otro unido al carbono 13 (C-13), los cuales pueden ser glucosilados (Fig. 1).

En las variedades generalmente cultivadas los principales compuestos glucósidos de esteviol son cuatro: esteviósido, rebaudiósido A, dulcósido y rebaudiósido C, entre los cuales destacan en cantidad los primeros dos. En menor cantidad, se pueden encontrar el rebaudiósido C (1-2%) y dulcósido A (0.4-0.7 %), junto con estevolbiósido, rubusósido, rebaudiósido B, D, E y F (<0.4% cada uno de ellos) (Goyal et al., 2009; Jackson et al., 2009; Woelwer-Rieck, Lankes, Wawrzun, & Wüst, 2010). Todos estos compuestos glucósidos de esteviol tienen en mayor o menor medida, sabor dulce ya que se ha concluido que esta capacidad edulcorante depende si en el Carbono 13 ó 19 hay una unidad de azúcar o grupo carboxilo (Brandle & Telmer, 2007).

En 2007, el Comité de Expertos en Alimentación FAO/OMS en aditivos alimentarios (JECFA) recomendó que la mezcla de glucósidos de esteviol grado alimentario sean de al menos 95% de pureza. Además del esteviósido y el rebaudiósido A, los otros glucósidos

presentes en la mezcla y que son aceptados por la JECFA son Rebaudiósido C, dulcósido A, rubusósido, Esteviolbíosido y Rebaudiósido B (FDA, 2008).

Por lo anterior, se validó un método analítico por cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) y se cuantificaron glucósidos minoritarios presentes en dos variedades de *S. rebaudiana* (Morita II y Criolla), cultivadas en el sureste de México.

MATERIALES Y MÉTODOS

Condiciones cromatográficas

Se realizó la metodología recomendada por JECFA (2010) (JECFA, 2010). Las condiciones cromatográficas usadas fueron: se utilizó un equipo Agilent serie 100 con una columna Luna 5 μ C18(2) 100A (Phenomenex) de 250 mm de longitud, diámetro interno de 4.6 mm y tamaño de partícula de 5 μ m, la fase móvil fue una mezcla 32:68 de acetonitrilo y solución amortiguadora de sodio fosfato 10 mmol/L (pH 2.6), con un flujo isocrático de 1 mL/min y detector UV a 210 nm. Los resultados cromatográficos se analizaron con el programa Clarity versión 2.7.3.498 (2000-2009). Los estándares utilizados son: steviolbíosido (ASB-00019349), dulcósido A (ASB-00004949), rebaudiósido D (ASB-00018229), rebaudiósido C (ASB-00018228) y rebaudiósido B (ASB-00018227) todos de la marca Chromadex, los cuales se suspendieron en agua grado HPLC a una concentración de 1mg/mL, se filtraron con membrana de 0.45 μ m y se congelaron a -20 °C hasta su uso.

Parámetros de validación

Se construyeron curvas de calibración de 6 concentraciones (25, 50, 75, 100, 125 y 150 μ g/mL) de cada estándar y evaluadas por triplicado. Con estos análisis se calcularon los parámetros de validación de acuerdo a las guías de validación ICH (ICH, 2005): sensibilidad, linealidad, límite de detección (LDD), límite de cuantificación (LDC), exactitud y precisión para 5 de los glucósidos minoritarios derivados de esteviol, a saber: Esteviolbíosido, Dulcósido A, Rebaudiósido D, Rebaudiósido C y Rebaudiósido B.

Sensibilidad. Se definió como el cambio en la respuesta de un instrumento de medida dividido entre el cambio correspondiente del estímulo (EURACHEM, 1998) o en otras palabras, es la pendiente de la función de calibrado (Thompson, Ellison, & Wood, 2002).

Linealidad e Intervalo de trabajo. Definida como la habilidad del método (dentro de un rango determinado) de obtener resultados que son directamente proporcional a la concentración (cantidad) del analito (ICH, 2005), se calculó con la evaluación de 6 concentraciones de los estándares por triplicado, en un rango de concentraciones de 25-150

µg/mL. Para evaluar la linealidad, se elaboró una gráfica de la señal, como función de la concentración del analito y se calculó la regresión lineal por el método de mínimos cuadrados. Así mismo, se calculó el coeficiente de correlación, el intercepto en y, la pendiente de la regresión lineal, los intervalos de confianza de la pendiente y los intervalos de confianza del intercepto en y (ICH, 2005).

Límite de detección (LDD). Es la menor concentración de un analito en una muestra que puede ser detectada pero no necesariamente cuantificado como un valor exacto (ICH, 2005). Éste se determinó a través de la siguiente fórmula: $LDD = 3.3 \text{ (Desviación Estándar del Intercepto) / pendiente (S)}$ (ICH, 2005).

Límite de cuantificación (LDC). Es la menor concentración de un analito contenido en una muestra que puede ser determinada cuantitativamente con una precisión y exactitud aceptable (ICH, 2005). Éste se determinó a través de la siguiente fórmula: $LDC = 10 \text{ (Desviación Estándar del Intercepto) / pendiente (S)}$ (ICH, 2005).

Exactitud. Es el grado de concordancia entre un valor encontrado y aceptado convencionalmente. La exactitud del método se evaluó mediante la prueba de recuperación de muestras fortificadas con una concentración conocida del analito de interés dentro del intervalo de trabajo y evaluada por triplicado. Se reporta como porcentaje de recuperación (ICH, 2005).

Precisión. Se define como el grado de concordancia entre una serie de mediciones obtenidas de múltiples muestras de una muestra homogénea, bajo las condiciones prescritas. Se evaluó la repetitividad o precisión intra-día, la cual se expresa como desviación estándar relativa (% RSD) (ICH, 2005). Para ello, se prepararon 3 muestras y se analizaron por triplicado con el método cromatográfico descrito anteriormente.

Los análisis estadísticos se realizaron utilizando Statgraphics para evaluar la linealidad del sistema; los intervalos de confianza del intercepto en y e intervalos de confianza de la pendiente se calcularon por medio del programa GraphPad Prism version 5.00 y se utilizó Microsoft Office Excel para el análisis de límite de cuantificación y límite de detección.

Cuantificación de glucósidos minoritarios presentes en extracto de hojas de *Stevia rebaudiana* Bertoni variedad Criolla II y Morita

Se obtuvo el extracto de hojas de 2 variedades de *Stevia rebaudiana* B., denominadas Criolla II y Morita, cultivadas en la península de Yucatán. Las hojas obtenidas de cada

variedad fueron secadas a la sombra y pulverizadas en molino Willey con malla de 1mm y protegidas del sol para su uso posterior. El extracto se realizó siguiendo la metodología de Woelwer-Rieck y colaboradores (Woelwer-Rieck et al., 2010).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Validación del método cromatográfico

Una vez obtenidos los valores de área bajo el pico de las 6 concentraciones por triplicado de cada estándar, se elaboró una gráfica del área bajo el pico, como función de la concentración del analito y se calculó la regresión lineal por el método de mínimos cuadrados.

Como se observa en la tabla 1, se calcularon los parámetros de validación del modelo de regresión lineal simple para cada uno de los 5 estándares de glucósidos de esteviol minoritarios a 6 concentraciones por triplicado (25-150 $\mu\text{g/mL}$).

El porcentaje de recuperación de muestras fortificadas fue $100 \pm 10\%$ y la precisión tuvo una desviación estándar relativa $\leq 15\%$.

Para cada uno de los estándares se calcularon los intervalos de confianza al 95% de los valores predichos del área bajo el pico cromatográfico, así como los intervalos de confianza al 95% de las medias de varias observaciones para las concentraciones evaluadas (Tabla 2).

Dado que los coeficientes de correlación de las curvas estándar fueron superiores a 0.99, mientras que los de determinación fueron ≥ 0.98 , se puede concluir que la metodología analítica empleada fue lineal en el rango de concentración estudiada y por ende, el modelo usado para cuantificar el contenido de los glucósidos adecuado.

Cuantificación de glucósidos de esteviol

Simultáneamente con las curvas estándar construidas, se analizaron los extractos de ambas variedades de *S. rebaudiana* Bertoni para cuantificar los glucósidos derivados de esteviol presentes en ambas. Cada muestra se analizó por duplicado y se calculó la concentración a través de la ecuación de la recta de regresión lineal construida. En la tabla 3 se encuentran las concentraciones de glucósidos de esteviol presentes en cada variedad de *S. rebaudiana*. Cabe mencionar que, las concentraciones de los glucósidos determinados en los extractos de ambas variedades de la planta estuvieron muy por encima del límite de detección (LDD) y cuantificación (LDC), por lo que el análisis cuantitativo de estos es adecuado.

De los glucósidos minoritarios, no hay reportes previos de variedades cultivadas en la Península de Yucatán, México aunque para el caso del rebaudiósido C, el rebaudiósido B y Dulcósido A coinciden en los rangos publicados anteriormente (Goyal et al., 2009; Jackson et al., 2009; Woelwer-Rieck et al., 2010). Sin embargo, el contenido de esteviolbiónido encontrado en este proyecto fue ligeramente mayor a lo reportado por Jackson y colaboradores (Jackson et al., 2009).

CONCLUSIONES

El contenido de la mezcla de los glucósidos minoritarios por cada 100g de hojas secas de *S. rebaudiana* en la variedad Morita fue de aproximadamente 2.6g mientras que la variedad Criolla es de 2.9g. El método fue lineal, preciso, específico y exacto en el intervalo de concentraciones estudiadas. Ambas variedades cultivadas en la península de Yucatán tienen un contenido similar de glucósidos minoritarios por lo que podrían destinarse a la industria alimentaria.

BIBLIOGRAFÍA

- Brandle, J. E., & Telmer, P. G. (2007). Steviol glycoside biosynthesis. *Phytochemistry*, 68(14), 1855-1863. doi: S0031-9422(07)00093-3 [pii]
10.1016/j.phytochem.2007.02.010
- Chaturvedula, V. S., Upreti, M., & Prakash, I. (2011). Diterpene glycosides from Stevia rebaudiana. *Molecules*, 16(5), 3552-3562. doi: molecules16053552 [pii]
10.3390/molecules16053552
- EURACHEM. (1998). The fitness for purpose of analytical methods. A Laboratory Guide to method validation and related topics. Also available from the EURACHEM Secretariat and Web site.
- FDA. (2008). *GRAS assessment*.
- Goyal, S. K., Samsher, & Goyal, R. K. (2009). Stevia (*Stevia rebaudiana*) a bio-sweetener: a review. *Int J Food Sci Nutr*, 61(1), 1-10. doi: 10.3109/09637480903193049
- ICH. (2005). Harmonized tripartite guideline validation on analytical procedures: text and methodology *International Conference on Harmonization Q2(R1)*.
- Jackson, A. U., Tata, A., Wu, C., Perry, R. H., Haas, G., West, L., & Cooks, R. G. (2009). Direct analysis of Stevia leaves for diterpene glycosides by desorption electrospray ionization mass spectrometry. *Analyst*, 134(5), 867-874. doi: 10.1039/b823511b
- JECFA. (2010). Steviol glycosides. In FAO (Ed.), *FAO JECFA Monographs* (pp. 17-21).
- Thompson, M., Ellison, S. L. R., & Wood, R. (2002). Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis (IUPAC Technical Report). *Pure Appl. Chem.*, 74(5), 835-855.

Woelwer-Rieck, U., Lankes, C., Wawrzun, A., & Wüst, M. (2010). Improved HPLC method for evaluation of the major steviol glycosides in leaves of *Stevia rebaudiana*. *Eur Food Res Technol*, 231, 581-588.

TABLAS Y FIGURAS

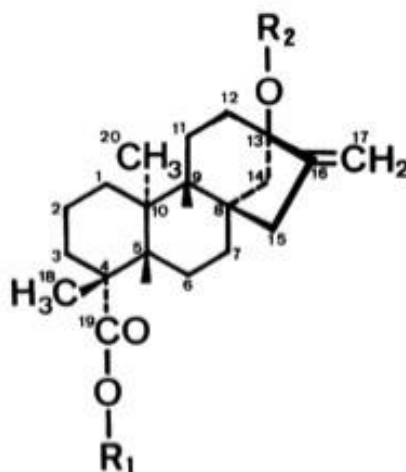


Figura 1. Estructura química de la aglicona de esteviósidos.

Tabla 1. Parámetros del modelo de regresión lineal Area frente a Concentración ($y = a + b \cdot x$) de estándares de glucósidos de esteviol minoritarios

Parámetros	Rebaudiósido D	Rebaudiósido C	Dulcósido A	Rebaudiósido B	Esteviolbíosido
r	0.993	0.995	0.997	0.996	0.994
R ²	98.80	99.14	99.50	99.34	98.80
Intercepto en y	21.553	-5.142	-30.135	-6.544	-2.404
IC del intercepto en y	8.416 a 34.69	-26.36 a 16.08	-52.20 a -8.07	-15.35 a 2.257	-8.035 a 3.228
Pendiente (sensibilidad)	2.312	4.425	6.048	2.104	0.993
IC de la pendiente	2.17 a 2.44	4.20 a 4.64	5.822 a 6.275	2.01 a 2.19	0.93 a 1.05
LDD ($\mu\text{g/mL}$)	8.85	7.47	5.68	6.51	8.81
LDC ($\mu\text{g/mL}$)	26.80	22.62	17.21	19.72	26.69

r: coeficiente de correlación

R²: coeficiente de determinación

IC: intervalos de confianza al 95%

LDD: límite de detección [$3.3(\text{Desviación Estándar del Intercepto})/\text{pendiente (S)}$]

LDC: límite de cuantificación [$10(\text{Desviación Estándar del Intercepto})/\text{pendiente (S)}$]

Tabla 2. Intervalos de confianza para valores predichos de área bajo el pico y de la media de observaciones para concentraciones de estándares de glucósidos de esteviol

Estándar	Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	Predicho (área)	Límites de predicción (95%)	Límites de confianza (95%)
Rebaudiósido D	25	79.363	52.87 – 105.85	69.15 – 89.57
	50	137.17	111.56 - 162.79	129.50 – 144.84
	75	194.98	169.81 – 220.152	188.98 – 200.98
	100	252.79	227.62 – 277.96	246.79 – 258.79
	125	310.60	284.99 – 336.22	302.94 – 318.27
	150	368.41	341.92 – 394.90	358.20 – 378.63
Rebaudiósido C	25	105.50	62.71 – 148.28	89.00 – 121.99
	50	216.14	174.76 – 257.52	203.75 – 228.52
	75	326.78	286.13 – 367.44	317.09 – 336.48
	100	437.43	396.77 – 478.08	427.73 – 447.12
	125	548.07	506.69 – 589.45	535.68 – 560.46
	150	658.71	615.92 – 701.50	642.22 – 675.21
Dulcósido A	25	121.08	76.59 – 165.56	103.92 – 138.23
	50	272.29	229.27 – 315.31	259.41 – 285.17
	75	423.51	381.24 – 465.77	413.43 – 433.59
	100	574.72	532.46 – 616.99	564.64 – 584.80
	125	725.94	682.92 – 768.95	713.06 – 738.81
	150	877.15	832.67 – 921.64	860.00 – 894.30
Rebaudiósido B	25	46.06	28.31 – 63.81	39.22 – 52.91
	50	98.67	81.51 – 115.84	93.54 – 103.81
	75	151.29	134.43 – 168.15	147.27 – 155.31
	100	203.90	187.04 – 220.76	199.88 – 207.92
	125	256.51	239.35 – 273.67	251.37 – 261.65
	150	309.12	291.38 – 326.87	302.28 – 315.97
Esteviolbíosido	25	22.44	11.08 – 33.79	18.06 – 26.81
	50	47.28	36.30 – 58.26	43.99 – 50.57
	75	72.12	61.33 – 82.91	69.55 – 74.70
	100	96.97	86.18 – 107.76	94.39 – 99.54
	125	121.81	110.83 – 132.79	118.52 – 125.10
	150	146.65	135.30 – 158.01	142.28 – 151.03

Tabla 3. Contenido de glucósidos en g/100g de hojas secas de *S. rebaudiana* Morita y Criolla II

Glucósido	Morita		Criolla II	
	Promedio ± D.E.	Coefficiente de variación (%)	Promedio ± D.E.	Coefficiente de variación (%)
Rebaudiósido C	1.45 ± 0.08	5.71	1.22 ± 0.03	2.5
Dulcósido A	0.50 ± 0.004	0.83	0.58 ± 0.008	1.48
Rebaudiósido B	0.460 ± 0.001	0.38	0.121 ± 0.000	0.867
Esteviolbiónido	0.547 ± 0.000	0.011	0.699 ± 0.017	2.534

EVALUACIÓN DE LOS CAMBIOS COMPOSICIONALES Y LA FORMACIÓN DE ACRILAMIDA DURANTE LA FRITURA DE PATATAS POR MICROONDAS

Mariola Sansano, María del Sol Juan-Borrás, Isabel Escriche, Ana Heredia, Ana Andrés.

Instituto de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo, Universitat Politècnica de València, C.P. 46022 Valencia, España

*Autor responsable: Correo electrónico: anhegu@tal.upv.es Tel.: +34 963877365.

INTRODUCCIÓN

La fritura es una de las técnicas más empleadas en la preparación de alimentos, tanto a nivel doméstico como industrial, debido a las características organolépticas que le proporciona esta técnica culinaria. Debido al creciente interés que prestan los consumidores por el perfil nutricional de sus alimentos, los productos fritos han ido perdiendo popularidad al asociarse su consumo a alimentos ricos en grasas, así como la creciente preocupación por la ingesta de acrilamida, compuesto potencialmente carcinógeno que se ha encontrado en elevadas cantidades en diferentes alimentos de consumo habitual sometidos en su elaboración a altas temperaturas, tanto en frituras como horneados (Tareke, 2002). Entre las diferentes estrategias para reducir el contenido en acrilamida desarrolladas en los últimos años destacan pre-tratamientos de escaldado e inmersión o la fritura a vacío a bajas temperaturas mediante aplicación de vacío. La aplicación de microondas también ha resultado ventajosa, utilizándose como tratamiento previo a la fritura convencional (Belgin, 2007) o para terminación del producto (Blau, 1965). Sin embargo, son muy reducidos los estudios donde se evalúe la fritura por microondas como una operación única y continua con la que se obtenga directamente el producto final. Estos destacan por utilizar aceite calentado a la temperatura de fritura previamente y posteriormente adicionar el alimento y aplicar microondas (Sahin, 2007, Oztop, 2006, Baructu, 2009). El objetivo de este trabajo fue evaluar los cambios composicionales y la formación de acrilamida durante la fritura por microondas partiendo de aceite a temperatura ambiente. Concretamente, se ha estudiado el efecto del nivel de potencia de microondas aplicado (1.8, 2.4 y 2.9 W/g) sobre el contenido en humedad, materia grasa y variación neta de masa total y la generación de acrilamida a lo largo del tiempo de fritura, tomando como control tiras de patatas fritas por inmersión en aceite a 180°C.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia prima

Como materias primas se emplearon patatas frescas de la variedad *Agria* (marca comercial: Patatas Aguilar, con un contenido en humedad de $85 \pm 2\%$ y aceite vegetal para freír (aceite refinado de girasol alto oleico y de germen de maíz, Hacendado). Las patatas se pelaron y cortaron a tiras de 10x10x50mm.

Metodología experimental

En ambas técnicas de fritura, la relación patata:aceite fue 1:10 (m/m) y tras cada tiempo de fritura se retiró el exceso de aceite frotando las patatas con papel absorbente durante 20 segundos.

Fritura por microondas: La fritura por microondas tuvo lugar a 1.8, 2.4 y 2.9 W/g con un tiempo máximo de 10, 8 y 6 minutos respectivamente, a intervalos de 1 minuto. Los experimentos se realizaron en un horno microondas de uso doméstico (Samsung GW72N). Para cada tiempo de fritura se emplearon 250 mL de aceite situados en un vaso de precipitados de 600 mL junto con 5 tiras de patatas, renovando el aceite tras cada fritura.

Fritura convencional por inmersión en aceite: las muestras control fueron sometidas a una fritura por inmersión en aceite a 180°C durante 8 minutos, a intervalos de 1 minuto, con una freidora eléctrica de acero inoxidable de uso doméstico (Solac Ideal 2000).

Adicionalmente se llevó a cabo un control de temperatura durante todo el proceso de fritura, empleándose un sensor termopar tipo K de rápida respuesta (HIBOK 14).

Determinaciones analíticas

Reactivos y Solución Estándar. El estándar de acrilamida ($\geq 99\%$) se obtuvo en Merck (Darmstadt, Germany). El NaCl se adquirió en Scharlab (Barcelona, Spain). Acetonitrilo (calidad HPLC), ácido fórmico (pureza de 99-100%) éter de petróleo (PA) y sulfato de magnesio (PA), fueron adquiridos en VWR (Fontenay-sous-Bois, France). El hexano (calidad UV-IR-HPLC) fue de Panreac (Barcelona, Spain) y el PSA (Primary Secondary Amine) en Supelco (Bellefonte, PA). El agua para su uso cromatográfico fue bidestilada (Milli-Q, Millipore Corp., Bedford, MA).

Determinación de Humedad. El contenido en humedad de las muestras se determinó de acuerdo con la norma de la A.O.A.C. nº 20.103 (1980), con estufa a vacío a 63°C hasta peso constante.

Determinación de Materia Grasa. La determinación de grasa se realizó por extracción en Soxhlet con éter de petróleo.

Variación de Masa Total. La variación neta de masa (ΔM_t) se determinó por diferencia de pesada antes y después de la fritura, de acuerdo a la ecuación 1:

$$\Delta M_t = \frac{(M_t - M_0)}{M_0} \quad (1)$$

donde: ΔM_t = flujo neto de masa (g/g inicial de muestra), M_t = masa total después de la fritura (g) y M_0 = masa inicial (g).

Determinación de Acrilamida. El proceso empleado para la extracción de la acrilamida se basó en el método desarrollado por Mastovska y Lehotay (2006) con ligeros cambios: se pesó 1 g de patata en un tubo Falcon de 50mL y se añadieron 500 μ L de meta-acrilamida (1 μ g/mL) como patrón interno. Se añadieron 5 mL de n-hexano y se agitó en el vortex durante 30 segundos. Se adicionaron 10 mL de agua bidestilada y 10 mL de acetonitrilo, se trituró el contenido con Ultra-Turrax, se adicionaron 4g de $MgSO_4$ y 0.5g de NaCl, se agitó durante un minuto y se centrifugó (3500 rpm, 5 minutos). La fase de hexano se descartó y se recogió una alícuota de 1mL de la fase de acetonitrilo. Ésta se transfirió a un eppendorf de 2 mL conteniendo 150mg de $MgSO_4$ y 50mg de PSA y se agitó durante 30 segundos. Posteriormente se centrifugó (5000 rpm, 1 minuto) y finalmente se tomaron 500 μ L del sobrenadante que se transfirieron a un vial para su posterior análisis por HPLC/MS/MS. El cromatógrafo utilizado fue 1200 Series (Agilent Technologies, Inc., CA; USA) acoplado a un espectrómetro de masas 6410 TripleQuad LC/MS de Agilent (Agilent Technologies Inc., CA; USA), con fuente de ionización tipo Electrospray, en modo positivo y se utilizó la columna Zorbax Eclipse XDB C-18 (2.1mmx50mm, 1.8 μ m). El gradiente de elución fue el siguiente: inicialmente la composición fue 100% de fase A (metanol), hasta el minuto 4, a partir del minuto 4.10 un 30% de fase B(2.5% metanol/ 97.5% ácido fórmico al 0.1%) hasta el minuto 6 y en el minuto 6:10 se ajusta al valor inicial. La temperatura del horno de columna se mantuvo constante a 30°C, el flujo empleado fue de 0.2mL/minuto, y el volumen de inyección 10 μ L. Las condiciones usadas en la fuente de ionización fueron: T^a del gas de secado (N₂) de 350°C a 12L/min, presión del nebulizador de 40 psi y voltaje del capilar de 4000V. El ión monitorizado fue el m/z 72, y los iones producto fueron 55.2 (cuantitativo) y el 26.7 (cualitativo) en modo MRM.

Determinación del Parámetro Colorimétrico a.* Para establecer el tiempo óptimo de fritura se estudió la coordenada colorimétrica a* de las muestras fritas por ambas técnicas de fritura

y de las diferentes potencias estudiadas, determinando el tiempo donde el valor de a^* está comprendido entre -5 y 0 (Krokida, 2001).

Análisis Estadístico. El efecto del tipo de fritura sobre los parámetros medidos se evaluó mediante un análisis simple de la varianza (ANOVA simple), llevado a cabo con el programa de análisis estadístico Statgraphics Centurion XVII.I, con un nivel de significación del 95% ($p\text{-valor} \leq 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Flujos netos de masa durante la fritura

En una operación de fritura la variación de masa total de las muestras se debe a la entrada de aceite y a la pérdida de agua, siendo el balance neto una reducción de la masa total de las muestras, resultando mayor en la fritura por microondas que en la fritura convencional y en mayor medida cuanto más alta fue la potencia aplicada (Figura 1). Esto puede atribuirse al mayor flujo de vapor de agua desde el interior de las muestras hacia la superficie de las mismas como resultado de la aplicación de energía de microondas, al cocerse las muestras desde el interior. Además, la aplicación de microondas retrasa la formación de la corteza en la superficie del producto que actúa como barrera a los fenómenos de transporte, tal y como ocurre en la fritura convencional por inmersión en aceite caliente.

El registro de la temperatura del producto (TP) mostró que independientemente de la técnica de fritura, y por tanto, del mecanismo de calentamiento, la patata alcanzó muy rápidamente los 100°C y se mantuvo constante durante la fritura, mientras que la temperatura del aceite, inicialmente a temperatura ambiente, aumentó de forma gradual en la fritura por microondas, siendo más pronunciado cuanto mayor fue la potencia aplicada (Figura 1).

Influencia del tiempo de fritura y de la potencia de microondas aplicada sobre los cambios composicionales del producto

En cuanto a la pérdida de agua se refiere, ésta fue más rápida, inicialmente, en la fritura convencional que en microondas (Figura 2) debido a la diferencia existente en la temperatura inicial del aceite entre ambas técnicas de fritura (Figura 1). Sin embargo, la pérdida de agua se ralentizó como consecuencia de la rápida formación de la corteza y, en cambio, la aplicación de microondas, provocó la vaporización y bombeo del agua desde el interior de la patata hacia la superficie, aumentando notablemente la velocidad de deshidratación del producto durante la fritura, siendo más rápida y acusada a mayores niveles

de potencia. (Figura 2). De forma acoplada y en contracorriente a la salida de agua del producto, tiene lugar la ganancia de aceite que caracteriza todo proceso de fritura. El particular tipo de calentamiento durante la fritura por microondas y el consiguiente bombeo de agua origina en la estructura de las patatas unos canales que, una vez alcanzado un nivel de humedad y temperaturas críticos, favorecen la entrada de aceite en el producto, tal y como se observa al comparar la evolución de la fracción másica de aceite (x^{ac}_t) bajo las diferentes condiciones de fritura (Figura 2). Pedreschi y Moyano (2005) indicaron que a tiempos más largos y temperaturas de fritura inferiores se genera un mayor contenido final de aceite en productos de patata fritos, tal como ocurre al aplicar la potencia más baja de microondas.

Cabe resaltar la elevada variabilidad de los resultados obtenidos en la fritura a microondas, donde a pesar de que el calentamiento por microondas es volumétrico y por lo tanto, más eficiente en comparación con otros métodos de calentamiento, no es uniforme siendo éste uno de los principales problemas asociados con el calentamiento por microondas.

Influencia del tiempo de fritura y potencia de microondas aplicada sobre la generación de acrilamida en patata

El contenido en acrilamida dependió en gran medida de la técnica de fritura empleada (Figura 3), formándose más durante la fritura convencional para tiempos de fritura equivalente. Durante la fritura convencional se observó un aumento gradual del contenido en acrilamida en función del tiempo de fritura, mientras que al aplicar microondas se produjo un aumento claramente exponencial de este compuesto. El vapor de agua que atraviesa la matriz de la patata desde el interior hasta la superficie de contacto con el aceite mantendría los niveles de humedad de la corteza exterior, a la vez que arrastra parte de la acrilamida formada y sus precursores (Gertz, 2003), disminuyendo así el contenido de acrilamida en el producto final. Este mecanismo, observado también en la fritura por inmersión en aceite caliente, puede verse intensificado en la fritura por microondas al calentarse el producto desde el centro, aumentando así el flujo de vapor de agua (Belgin, 2007). En cuanto a la influencia del nivel de potencia de microondas aplicado, si bien se produjo más acrilamida a 2.4 W/g que a 1.8 W/g, la formación de este compuesto disminuyó a 2.9 W/g, hecho observable en los primeros 5 minutos de fritura. Una vez alcanzado un determinado tiempo de fritura (5, 6 y 9 minutos a 1.8, 2.4 y 2.9 W/g, respectivamente) tuvo lugar un aumento drástico en el contenido en acrilamida, el cual podría atribuirse a niveles críticos de deshidratación alcanzado a dichos tiempos, en los que desaparece el efecto protector del vapor de agua, tal como ocurre en la última fase del proceso de fritura convencional (Amrein, 2006).

Valores de los parámetros analizados en el tiempo óptimo de fritura

Para comparar todos los parámetros en su conjunto se estableció el tiempo óptimo a partir de la determinación de la coordenada colorimétrica a^* , recogidos en la Tabla 1. En cuanto a la variación de masa total, así como en la fracción másica de agua y aceite de las muestras, el análisis estadístico (ANOVA simple) mostró diferencias significativas entre todas las potencias de microondas aplicadas y la fritura convencional. El análisis estadístico mostró además que la aplicación de microondas resulta una técnica efectiva para reducir significativamente la concentración de acrilamida en el producto final, aumentando dicha reducción con la aplicación de mayores potencias.

CONCLUSIONES

La técnica de fritura por microondas permitió obtener muestras con un menor contenido en humedad y mayor contenido en aceite que con la fritura convencional, debido a la carencia de una corteza definida. Sin embargo, en cuanto al contenido en acrilamida, la aplicación de microondas permite reducir notablemente las cantidades presentes en el producto final, consiguiéndose una mayor reducción al aumentar la potencia aplicada. Este efecto puede atribuirse a la reducción en los tiempos de fritura, a la disminución de la temperatura de operación, y especialmente al efecto protector que ejerce el flujo de vapor de agua desde el centro de las muestras, arrastrando tanto la acrilamida formada como sus precursores. La principal limitación que presenta la aplicación de microondas en las operaciones de fritura es la baja uniformidad en el calentamiento del medio y del producto, lo que se refleja en una mayor heterogeneidad del producto final. Resulta imprescindible por tanto, mejorar la uniformidad del calentamiento por microondas mediante el diseño de nuevos equipos y la optimización de los parámetros de operación para cada tipo de producto (geometría del producto, tiempo de tratamiento, potencia aplicada, etc.).

BIBLIOGRAFÍA

- Amrein, T., Limacher, A., Conde-Petit, B. Amadó, R. & Escher, F. (2006). Influence of thermal processing conditions on acrylamide generation and browning in a potato model system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54, 5910-5916.
- Baructu, I., Sahin, S. & Sumnu, G. (2009). Acrylamide formation in different batter formulations during microwave frying. *Food Science and Technology* 42, 17–22

Belgin, S., Palazoglu, T., Gökmen, V., Şenyuva, H. & Ekiz, H. (2007). Reduction of acrylamide formation in French fries by microwave pre-cooking of potato strips. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 87,133–137.

Blau, R., Powell, M., & Gerling, J.E. (1965). Results of 2450 megacycle microwave treatments in potato chip finishing. Processing, Production and Technology division Meetings, Potato Chip Institute International. 1-8.

Gertz, C., Klostermann, S. & Kochhar P. (2003). Deep frying: the role of water from food being fried and acrylamide formation. *Oléagineux Corps Gras Lipides*. 10 (4), 297-303.

Krokida, M.K., Oreopolou, V., Maroulis, Z.B. & Marinos-Kouris, D. (2001). Deep fat frying of potato-strips-quality issues. *Drying Technology*, 19, 879-935.

Mastovska K & Lehotay SJ. (2006). Rapid sample preparation method for LC-MS/MS or GC-MS analysis of acrylamide in various food matrices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 7001-7008

Oztop, M.H., Sahin, S., & Sumnu, G. (2007). Optimization of microwave frying of potato slices by using Taguchi technique. *Journal of Food Engineering*. 79: 83-91.

Pedrechi, F. & Moyano, P. (2005). Oil uptake and texture development in fried potato slices. *Journal of Food Engineering*. 70(4), 557-563.

Sahin, S., Sumnu, G. & Oztop,.C. (2007). Effect of osmotic pretreatment and microwave frying on acrylamide formation in potato strips. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 87:2830–2836

Tareke, E., Rydberg, P., Karlsson, P., Eriksson, S., & Törnqvist, M. (2002). Analysis of Acrylamide, a Carcinogen Formed in Heated Foodstuffs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50, 4998-5006.

Tabla 1. Valoración de los parámetros analizados a los tiempos de fritura óptimos.

Parámetro	1,8 W/g (8 min)	2,4 W/g (6 min)	2,9 W/g (4 min)	Convencional (7 min)
ΔM_t	-0,73(0,03) ^{bc}	-0,70(0,02) ^c	-0,77(0,03) ^b	-0,51(0,02) ^a
x_t^w	0,13(0,03) ^b	0,19(0,04) ^c	0,15(0,04) ^{bc}	0,67(0,05) ^a
x_t^{ac}	0,19(0,01) ^b	0,12(0,02) ^c	0,10(0,03) ^c	0,05(0,004) ^a
Acrilamida (ppb)	60(7) ^b	90(2) ^c	30(6) ^d	138(12) ^a
% reducción	57(5)	35(1)	78(4)	-

^{abcd}Diferencias significativas debidas a la aplicación de microondas (p-valor < 0,05)

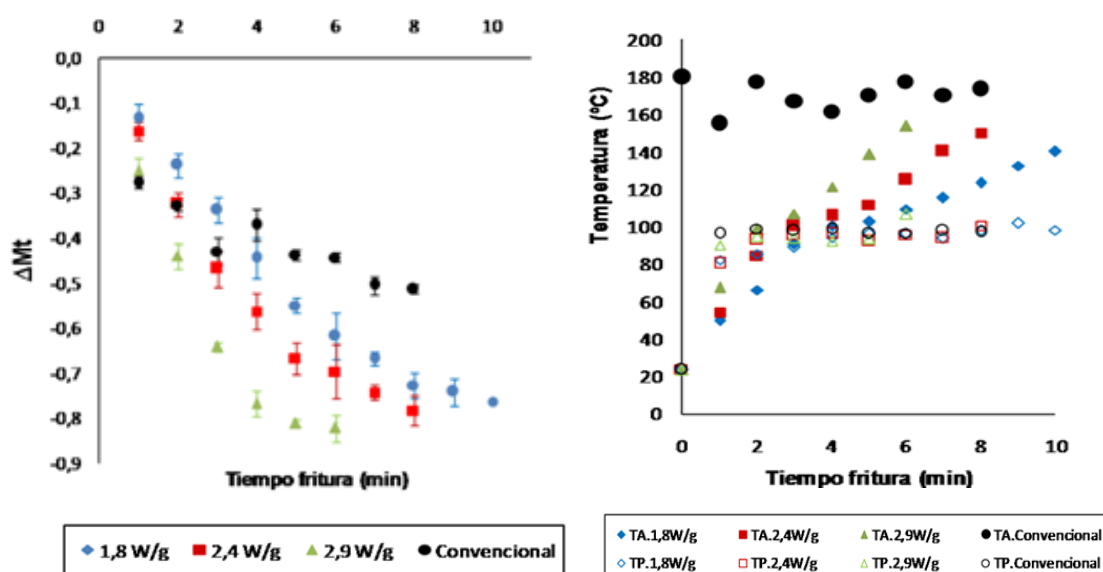


Figura 1. Evolución del flujo neto de masa total (ΔMt) en los diferentes tipos de fritura, microondas y convencional (Izquierda). Evolución de la temperatura del aceite (TA) y de las patatas (TP) con el tiempo de fritura en los diferentes tratamientos, microondas y convencional (Derecha).

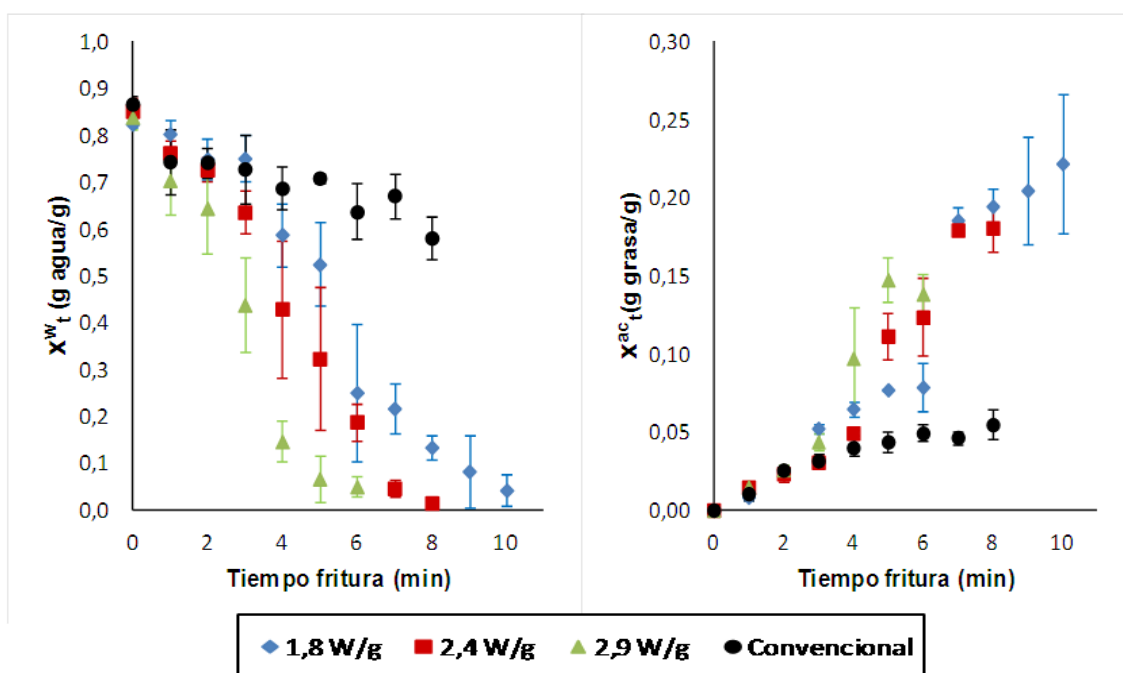


Figura 2. Evolución de la fracción másica de agua (x^w_t) y de aceite (x^{ac}_t) de las patatas con el tiempo de fritura en los diferentes tratamientos, microondas y

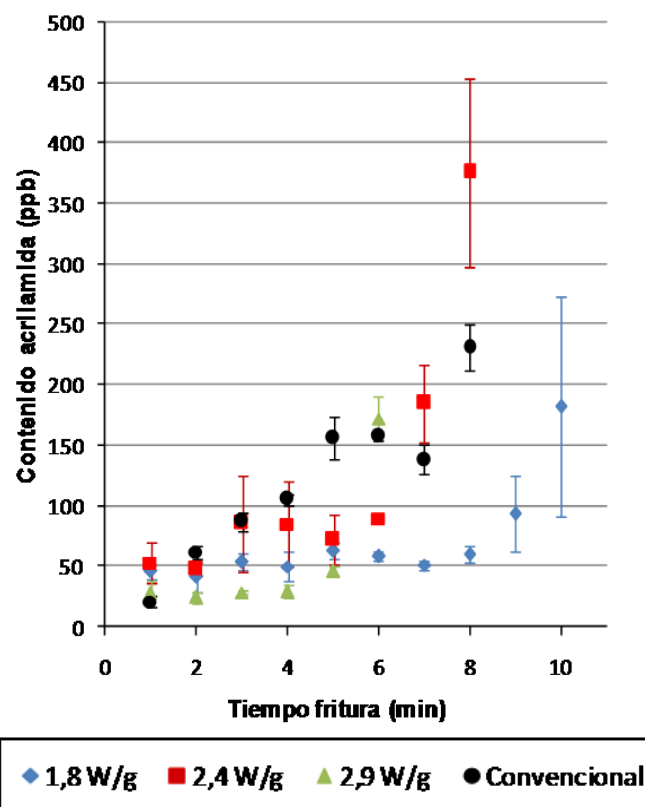


Figura 3. Evolución de la concentración de acrilamida (ppb) de las patatas con el tiempo de fritura en los diferentes tratamientos, microondas y convencional.

CLASIFICACIÓN MULTIVARIABLE DE COMPUESTOS FENÓLICOS, VÓLATILES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN CULTIVARES DE JAMAICA

Camelo-Méndez GA¹, Vanegas-Espinoza PE¹, Torres EF², Heredia FJ³, Del Villar-Martínez AA¹

¹Laboratorio de Biología Molecular. Centro de Desarrollo de Productos Bióticos del IPN. Yautepec, Morelos, México.

²Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA-CSIC) Avenida Agustín Escardino, 7 Parque Científico 46980 Paterna, Valencia, España.

³Laboratorio de Color y Calidad de los Alimentos, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla. Sevilla, España.

* Autor de correspondencia: adelvillarm@ipn.mx

INTRODUCCIÓN

Hibiscus sabdariffa (Malvaceae) es una planta anual, erecta, arbustiva, y herbácea que alcanza hasta 2.4 m de altura, mientras que el tallo es globular, sus hojas son ovaladas; y sus flores en racimos terminales, sus pétalos son blancos con un centro rojizo en la base de la columna, por lo general consiste en un cáliz con cinco sépalos de color rojo de gran tamaño; su cáliz crece hasta la madurez y el fruto es carnoso y rojizo brillante (Gomes Maganha *et al.*, 2010).

Es una planta tropical nativa de la India y Malasia, aunque crece ampliamente en los trópicos y subtrópicos de ambos hemisferios, y se ha naturalizado en muchas zonas de América (Alarcón-Aguilar *et al.*, 2007). La información etnobotánica reportada sobre jamaica indica potenciales usos medicinales como: diurético, diaforético, antibacteriano, antifúngico, laxante suave, sedante, hipotensor, tratamiento antitusivo, trastornos gastrointestinales, tratamiento de la hipercolesterolemia, tratamiento de cálculos renales y tratamiento de daños en el hígado (Herrera-Arellano *et al.*, 2004; Hirunpanich *et al.*, 2005). En México, existen planes de mejoramiento genético que han dado lugar a materiales con diferentes niveles de pigmentación, obteniendo cálices de color blanco, rosa y rojo intenso. Sin embargo, estos materiales no han sido caracterizados en cuanto al contenido de compuestos de interés biológico.

El objetivo de este trabajo fue determinar compuestos volátiles, fenólicos y actividad antioxidante de los extractos de cultivares de jamaica (Negra, Sudán, Rosa y Blanca) obtenidos por un plan de mejoramiento genético tradicional y clasificarlos mediante análisis multivariante.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Los cálices de jamaica se produjeron en el campo experimental del Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero (CSAEGRO) Iguala, Guerrero, México, durante la temporada de invierno (noviembre- diciembre) de 2011. Se utilizaron cuatro cultivares de jamaica: Negra, Sudán, Rosa y Blanca.

Extracción de compuestos

Cada muestra (5 g) se extrajo con 25 mL de metanol 75% [HCl 1 N (5%)] a temperatura ambiente bajo agitación constante (250 rpm) durante 1 h, el extracto se centrifugó a 4500 rpm durante 5 min, el sobrenadante fue recogido. El residuo se extrajo tres veces con 25 mL de mismo disolvente con el fin de eliminar todos los compuestos fenólicos. Los sobrenadantes se combinaron y se evaporaron a sequedad bajo atmósfera de nitrógeno inerte, este se resuspendió en 1 mL de acetonitrilo: agua (10:90, v/v).

Identificación de compuestos fenólicos

La determinación de compuestos fenólicos se realizó usando un sistema de cromatografía de líquidos de ultra-presión (UPLC) (Agilent 1260 series, Agilent Technologies Inc, Palo Alto CA) por la metodología usada por Jara-Palacios *et al.*, (2013) con modificaciones. La cuantificación se realizó a 280, 320, 370 y 525 nm mediante la comparación de las áreas y los tiempos de retención, utilizando una curva de calibración obtenida con soluciones estándar de ácido gálico, ácido protocatecuico, ácido cafeico, ácido clorogénico, kaeamferol, quercetina, rutina, y catequina. Mientras que las antocianinas se identificaron por la metodología propuesta por Ivanova *et al.*, (2010) con modificaciones. La cuantificación se hizo a 525 nm mediante la comparación de las áreas y tiempos de retención utilizando una curva de calibración obtenida con soluciones estándar de cianidina 3-glucósido y delphinidina 3-glucósido.

Identificación de compuestos volátiles

Los compuestos volátiles fueron analizados mediante micro-extracción en fase sólida (Solís-Solís *et al.*, 2007), e identificados por la metodología propuesta por Pino *et al.*, (2006) con las modificaciones propuestas por Camelo-Méndez *et al.*, (2013). Los compuestos fueron cuantificados por el método del patrón interno.

Determinación de la capacidad antioxidante

El método de capacidad reductora (FRAP) se llevó a cabo por la metodología propuesta por Benzie et al, (1996), la absorbancia se midió a 0 y 6 min a 593 nm. Mientras que la capacidad inhibitoria (ABTS) se evaluó por la metodología propuesta por Re *et al.* (1999), con la medición de la absorbancia a 0 y 4 min a 593 nm. Los resultados se expresaron en mg equivalentes de Trolox/g de peso en seco, utilizando una curva de calibración de Trolox.

Análisis estadístico

Las diferencias significativas entre cultivares de jamaica se realizaron por análisis de varianza (ANOVA) y el análisis multivariable usando Statgraphics Plus versión 5.1 © (Manugistics, Inc., Rockville, MA, EE.UU).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Identificación de compuestos y capacidad antioxidante

Mediante cromatografía de gases se identificaron y cuantificaron compuestos volátiles del tipo de los terpenos, alcoholes, ésteres y aldehídos para los cuatro cultivares. Con el análisis del HPLC-DAD y UPLC-DAD se identificaron compuestos tipo flavanoles, flavonoles, ácidos benzoicos, fenólicos y cinámicos, mientras que, para los cultivares pigmentados, además se identificaron antocianinas. La capacidad antioxidante fue representada por la inhibición del radical libre ABTS siendo superior para los cultivares Negra, Sudán y Blanca; además, se observó que los extractos de los cultivares Negra y Blanca presentaron mayor capacidad reductora de hierro (FRAP) a bajas concentraciones, por lo que se sugiere que los extractos de jamaica tienen mejor capacidad para reducir metales.

Análisis Multivariable

El análisis de componentes principales permitió reducir la dimensionalidad del estudio y clasificación de los cultivares, estos resultados fueron confirmados por una matriz de confusión. A partir de las variables originales, se establecieron funciones que discriminan entre los grupos establecidos. Posteriormente, estas funciones se usaron en la clasificación de muestras de origen desconocido asumiendo el error correspondiente, que viene expresado por los propios porcentajes de clasificación correcta (Gordillo, 2012).

En este sentido, se realizó la clasificación multivariada de los cultivares de jamaica por sus compuestos volátiles, donde se encontró que cada cultivar presenta compuestos y concentraciones propios de sí mismo (Figura 1), se observó una clasificación del 100% para

cada una de los casos analizados. Comportamiento contrario al encontrado con el análisis estadístico de una sola vía, éste mostró similitudes entre algunos de los compuestos identificados. Por lo que esta metodología permite clasificar los cultivares según el conjunto de los parámetros evaluados.

Adicionalmente, se realizó la clasificación de los cultivares por el contenido de sus compuestos fenólicos, se observó la clasificación del 100% para cada una de los casos, al graficar los resultados de las funciones generadas se presetan cuatro grupos claros, siendo cada uno de estos los cultivares Negra, Sudán, Rosa y Blanca (Figura 2).

Además, se realizó clasificación multivariada de los cultivares según su capacidad antioxidante (capacidad de inhibición de radicales libres y reducción de metales), se observó que en función de estas variables de respuesta se encontró una clasificación del 54.17% por cultivar, al graficarlos se presentó que los cultivares se sobreponían unos sobre otros, por lo que no se presentó una clasificación para cada cultivar (Figura 3). Esto puede ser debido a que esta característica no es propia de cada cultivar y depende del contenido, presencia e interacción entre los compuestos analizados.

CONCLUSIONES

El análisis multivariante permitió generar modelos, identificando las variables más sensibles para la clasificación de los cultivares estudiados en función de sus características químicas, encontrando que éstas son específicas para cada cultivar. Estos resultados podrían ser útiles para la clasificación de materiales ya que pueden ser considerados como buena fuente de compuestos naturales con actividad antioxidante para productos en la industria y/o farmacéutica.

REFERENCIAS

- Alarcón-Aguilar FJ, Zamilpa A, Pérez-García MD, Almanza-Pérez JC, Romero-Nuñez E, Campos-Sepulveda EA, Vazquez-Carrillo LI, Roman-Ramos R. 2007. Effect of *Hibiscus sabdariffa* on obesity in MSG mice. *Journal of Ethnopharmacology* 114 (1): 66-71.
- Benzie IFF, Strain JJ. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the frap assay 239. *Analytical Biochemistry* 239, 70-76.
- Camelo-Méndez GA, Ragazzo-Sánchez JA, Jiménez-Aparicio AR, Vanegas-Espinoza PE, Paredes-López O, Del Villar-Martínez AA. 2013. Comparative study of anthocyanin and volatile compounds content of four varieties of Mexican roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) by multivariable analysis. *Plant Foods for Human Nutrition*. 68 (3) 229-234

Gomes Maganha E, da Costa Halmenschlager R, Moreira Rosa R, Pegas Henriques JA, Lia de Paula Ramos AL, Saffi J. 2010. Pharmacological evidences for the extracts and secondary metabolites from plants of the genus *Hibiscus*. *Food Chemistry* 118:1-10.

Gordillo, B. 2012. Relación color-composición fenólica en vinos tintos de clima cálido. Evaluación de la copigmentación por Colorimetría Triestímulo. Tesis doctoral. Universidad de Sevilla. España.

Herrera-Arellano A, Flores-Romero S, Chávez-Soto MA, Tortoriello J. 2004. Effectiveness and tolerability of standardized extract from *Hibiscus sabdariffa* in patients with mild to moderate hypertension: a controlled and randomized clinical trial. *Phytomedicine* 11: 375–382.

Hirunpanich V, Utaipat A, Morales NP, Bunyaphatsara N, Sato H, Herunsalee, A, Suthisang, C. 2005. Antioxidant effects of aqueous extracts from dried calyx of *Hibiscus sabdariffa* L. (Roselle) *in vitro* using rat low-density lipoprotein (LDL). *Biological & Pharmaceutical Bulletin* 28:477-481.

Ivanova V, Stefova M, Vojnoski B, Dörnyei A, Márk L, Dimovska V, Stafilov T, Kilár F. 2011. Identification of polyphenolic compounds in red and white grape varieties grown in R. Macedonia and changes of their content during ripening, *Food Research International* 44(9): 2851-2860.

Jara-Palacios MJ, González-Manzano S, Escudero-Gilete ML, Hernanz D, Dueñas M, González-Paramás AM, Heredia FJ, Santos-Buelga C. 2013. Study of Zalema grape pomace: Phenolic composition and biological effects in *Caenorhabditis elegans*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61 (21): 5114-5121.

Pino JA, Márquez E, Marbot R. 2006. Volatile constituents from tea of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) *Revista CENIC. Ciencias Químicas* 37:127–129, ISSN-2221-2450.

Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine* 26: 1231–1237.

Solís-Solís HM, Calderón-Santoyo M, Gutiérrez-Martínez P, Schorr-Galindo S, Ragazzo-Sánchez JA (2007) Discrimination of eight varieties of apricot (*Prunus armeniaca*) by electronic nose, LLE and SPME using GC-MS and multivariate analysis. *Sensors and Actuators B: Chemical* 125:415–421

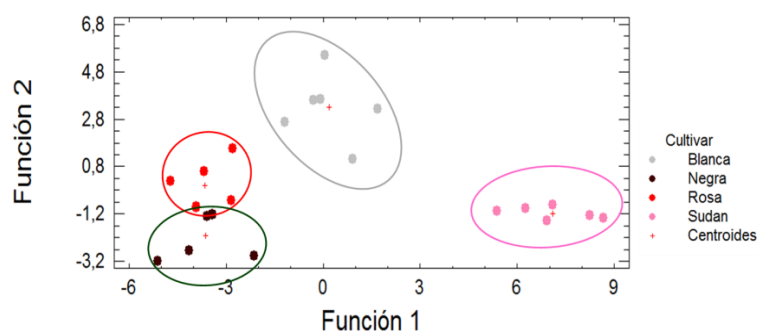


Figura 1. Diagrama de dispersión de las funciones generadas del análisis factorial discriminante en los cultivares de jamaica según su contenido de compuestos volátiles.

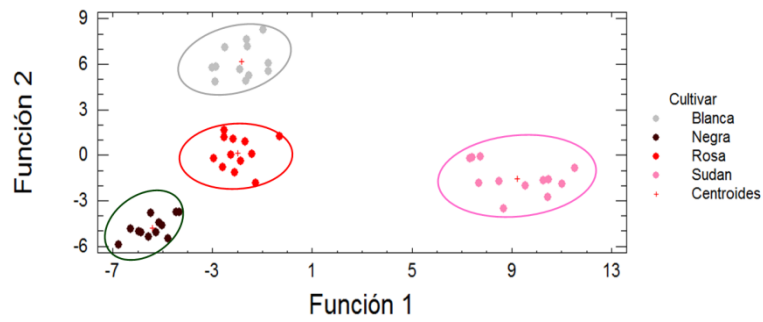


Figura 2. Diagrama de dispersión de las funciones generadas del análisis factorial discriminante en los cultivares de jamaica según su contenido de compuestos fenólicos.

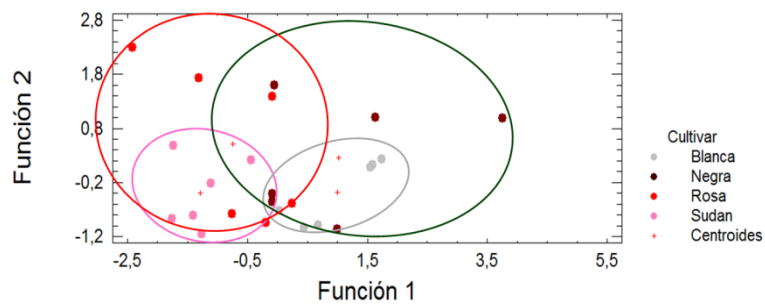


Figura 3. Diagrama de dispersión de las funciones generadas del análisis factorial discriminante en los cultivares de jamaica según su capacidad antioxidante.

EFFECTO DE LA ADICIÓN DE BIOPOLÍMEROS SOBRE LA ESTABILIDAD DE JUGO DE MARACUYÁ (*PASSIFLORA EDULIS FLAVICARPA*)

Jiménez J.I.¹, Beristain C.I.¹, Azuara E.¹ y Acosta N.², Jiménez M.^{1*},

¹Instituto de Ciencias Básicas, Universidad Veracruzana, Xalapa Ver., México, 01 (228) 8418900, *maribjimenez@uv.mx.

²Diversificadora Agroindustrial y Comercializadora del Trópico, S.A. de C.V. (DYCTROSA), Xalapa Ver., México.

INTRODUCCIÓN

El maracuyá es un fruto tropical, originario de Brasil el cual crece de una planta la cual se desarrolla en forma de enredadera y pertenece a la familia Passiflorae (*Passifloraceas*) de las que se conocen más de 400 variedades, de las cuales aproximadamente solo 30 son comestibles (Swi-Dea et al., 1996)

El nombre científico del maracuyá (*Passiflora edulis flavicarpa*) hace referencia a que su fruto es comestible. Actualmente más de 40 países cultivan el maracuyá para su comercialización, entre ellos países de la comunidad andina (Bolivia, Colombia Ecuador, Perú y Venezuela), además Australia, Nueva Zelanda, Hawái e Israel. Se puede encontrar en do presentaciones: la purpura o morada (*Passiflora edulis*) y la amarilla (*Passiflora edulis flavicarpa*). La primera se consume en fresco por el contenido de azúcares que la hace más dulce, su cultivo se realiza en lugares semicalidos a mayores alturas sobre el nivel del mar, en cambio la amarilla es más apreciada por la industria por su acidez y por su contenido más alto de jugo (Gómez, 200).

El fruto es una vaya redonda u ovalada con un promedio de 6 centímetros de diámetro y pesa entre 60 y 100 g. su pulpa es gelatinosa y tiene semillas de color oscuro, es jugosa acida y aromática. La cascara es rica en pectina. Las semillas tienen alto contenido de aceite con gran valor nutritivo y son fácilmente digeribles. El jugo puede alcanzar el 40% del peso de la fruta. Tiene color amarillo-oro por la presencia de carotenoides y un aroma característico producido por la mezcla de aceites volátiles (Flores, 2004).

El destacado uso de la variedad amarilla es debido a su rendimiento y a su adecuación para crecer en una diversidad de climas y tierras, su eso en principalmente en la producción de jugos, néctares, mermeladas y otros tipos de productos especiales como yogurts, helados y bebidas alcohólicas. En américa del sur algunas culturas utilizan al maracuyá como remedio casero por sus cualidades diuréticas y sedativas, además de tener un potencial como suplemento dietético.

La NOM-173-SCFI-2009 define a un jugo de fruta como al producto líquido sin fermentar pero fermentable obtenido al exprimir frutas en buen estado, debidamente maduras y frescas o frutas que se han mantenido en buen estado por procedimientos adecuados, inclusive por tratamientos de superficie aplicados después de la cosecha, clarificado o no, y sometido al tratamiento adecuado que asegura su conservación en el envase. No debe de contener corteza y semillas, de materia extraña objetable.

La elaboración de jugos puede representar grandes retos para la industria que los produce, entre ellos la separación de las fases, es por ello que se han realizado investigaciones en cuanto a la estabilidad de algunos jugos.

Se entiende por aditivo alimentario cualquier sustancia que en cuanto tal no se consume normalmente como alimento, ni tampoco se usa como ingrediente básico en alimentos, tenga o no valor nutritivo, y cuya adición intencionada al alimento con fines tecnológicos (incluidos los organolépticos) en sus fases de fabricación, elaboración, preparación, tratamiento, envasado, empaquetado, transporte o almacenamiento, resulte o pueda preverse razonablemente que resulte (directa o indirectamente) por sí o sus subproductos, en un componente del alimento o un elemento que afecte a sus características.

Los biopolímeros son macromoléculas (generalmente orgánicas) formadas por la unión de moléculas más pequeñas llamadas monómeros. Dentro de estos podemos encontrar a los ácidos nucleicos, las proteínas, polisacáridos, politerpenos y los polihidroxicarbohidratos.

Para este caso las gomas que se utilizan están dentro de la clasificación de los polisacáridos que son polímeros resultantes de la condensación acetálica de monosacáridos simples. Los polisacáridos suelen tener funciones estructurales (celulosa, quitina, pectinas, alginatos, etc.) pero también funciones de reserva energética en el reino vegetal (amilosa, amilopectina, inulina) y en el reino animal (glucógeno).

La goma arábiga es un biopolímero obtenido del exudado del árbol acacia, de la familia Leguminosae, originaria de Egipto y de uso milenario. Actualmente es extraída y pulverizada con procesos limpios, a partir de diversas especies de acacia, predominando las especies senegal y seyal. Esta goma ha sido evaluada y reconocida como aditivo alimentario por el Equipo de Expertos del Comité Aditivos Alimentarios -JECFA-del Codex Alimentarius.

MATERIALES Y MÉTODOS

La empresa DYCTRO S.A de C.V. fue la encargada de proveer la pulpa de maracuyá, de la cual fue obtenido el jugo. La pulpa se descongeló a temperatura ambiente, posteriormente se obtuvo el jugo el cual se filtró para separar los residuos de semillas que pudieran estar presentes.

Preparación de la Mezclas

Para la preparación de la mezclas se realizaron cuatro lotes en proporción al 1 y 2 % de las gomas en relación al peso total como se muestra en la tabla 1.

Se realizaron análisis a los lotes de jugo adicionado con los biopolímeros y al jugo control, es decir, al jugo sin la adición de ningún biopolímero. Los análisis realizados fueron fisicoquímicos y antioxidantes.

Se colocó 1g de muestra en una capsula de porcelana a peso constante, la cual se dejó 24 horas en estufa de aire a una temperatura aproximada de 45° C. Se utilizó la siguiente formula:

$$\% \text{ de Humeda} = \frac{\text{Peso crisol con muestra humeda} - \text{Peso crisol con muestra seca}}{\text{Peso de muestra humeda}} * 100 \quad (1)$$

Color

Se realizó mediante el uso de un colorímetro ColorFlex, Hunter Lab, Modelo 4510, Serie CX115, Año 1998, USA. Con el que se determinó los valores de Hue y Croma.

Solidos Solubles

Se determinaron el ° Bx mediante el uso de un refractómetro ATAGO, Modelo NAR-1T, Serie 900402, Año 1990, Japon a una temperatura constante de 20 ° C.

pH

Se encontró el pH por medio de un potenciómetro HANNA, Modelo HI8424, Serie 502409 Año 2003, Portugal.

Actividad de Agua

Con la ayuda de un higrómetro digital Aqua Lab, Modelo Series3, Serie 10046378B, U.S.A. se cuantificó la actividad de agua.

Velocidad de sedimentación

Se colocó en probetas 25mL de jugo, el cual se dejó reposar durante varias horas hasta que el volumen sedimentado no presentara variación.

Vitamina C

La determinación de vitamina C se realizó por el método de la segunda derivada (Pfundt et al., 2003). Para la cual se utilizó una curva de calibración con ácido ascórbico y midiendo absorbancia en espectrofotómetro a 280 *nm*.

Polifenoles

Se tomó 10 μ L de muestra homogénea, a los cuales se les adiciono 500 μ L de Foling, 500 μ L de carbonato de calcio al 7.5% y la cantidad suficiente de agua para completar 5 mL. Se dejó reposar por 30 minutos y se realizó la lectura en espectrofotómetro con una longitud de onda de 760 *nm*.

Se utilizó como blanco una mezcla de 500 μ L de Foling, 500 μ L de carbonato de calcio al 7.5% y 4 mL de agua destilada.

Para determinar los Polifenoles se construyó una curva de calibración con ácido gálico.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como se puede observar en la Tabla 2 se presentan las propiedades fisicoquímicas del jugo, sin polímeros, así, como los resultados de adicionar 1 y 2% de goma arábica.

Se puede observar que los valores de las propiedades referidas en la Tabla 2, no muestran una amplia diferencia entre los métodos aplicados por lo que puede considerarse que en este aspecto los tres métodos nos son muy similares entre sí.

En cuanto a las propiedades antioxidantes se agrupan en la Tabla 3, en la cual podemos encontrar, que pese a que existe una variación entre las tres muestras, son mínimas y que al igual que con las propiedades anteriores estas no nos sirven para poder determinar cuál es la concentración que más se adapta a lo que estamos buscando en cuanto a conservación de las propiedades tanto fisicoquímicas como las antioxidantes.

En la tabla 4 podemos encontrar las diferencias que existen entre los parámetros de color que se evalúan, calculados en Hue y Croma. Para el valor de Hue los resultados de las 3 pruebas son muy cercanos, sin embargo podemos encontrar una diferencia cuando comparamos los valores de Croma, el valor del jugo control dista mucho del obtenido con la goma arábica al 2%.

En la figura 1 podemos encontrar la comparación de las velocidades de sedimentación en la cual podemos encontrar la amplia diferencia que resulta entre el jugo sin goma y las dos

concentraciones de jugo y goma. Sin embargo es difícil poder determinar nuevamente que concentración es la que más conviene.

CONCLUSIONES

La adición de biopolímeros como las gomas arábica, son una excelente opción para evitar la separación de la fases, y de esta forma estabilizar en gran medida la velocidad de sedimentación, en base a los resultados obtenidos. La variación de las propiedades no fue muy amplia entre las muestras indicando que se puedan utilizar altas concentraciones de goma arábica para estabilizar el jugo.

REFERENCIAS

Schwentesius, R.; Gómez, M. (1996) La producción en México del maracuyá; Revista Claridades Agropecuarias; Universidad de Chapingo.

Swi-Dea, W.; Ming-Jen, S. (1996). Tropical fruits; Processing fruits: science and tecnology, Vol. 2. Ed. Somogyl. EUA.

Flores, E. (2004). Desarrollo de una bebida funcional a base de jugo de maracuyá (*Passiflora edilis* flavicarpa). Tesis de Maestria en Ciencias de Alimentos. Universidad de las Americas, Puebla, México.

Pfendt, L.B., Vukasinović, V.L.; Blaagojević, N.Z.; y Radijović, M.P. (2003). Second order derivate spectrophotometric method for determination of vitamin C content in fruits, vegetables and fruit juices. Eur. Foog Res. Technol. 269-272.

Phillips G. y Williams P. Food Hydrocolloid. (2005), Studies on acacia exudates gums. Food Hydrocolloid.

Tabla 1. Composición de mezclas jugo-biopolímero

Mezcla	Goma (g)	Jugo (g)
Arábica 1%	1	99
Arábica 2%	2	98

Tabla 2. Resultados de Propiedades Fisicoquímicas

Tratamiento	Humedad (%)	Solidos Solubles (° Bx)	pH	Actividad de Agua
Sin Goma	86.74 ± 1.54	13.6 ± 0.26	2.85 ± 0.02	0.966 ± 0.01
G. Arábica 1%	83.62 ± 0.35	15.06 ± 0.11	2.83 ± 0	0.991 ± 0.01
G. Arábica 2%	82.78 ± 0.42	15.86 ± 0.30	2.90 ± 0.13	0.986 ± 0

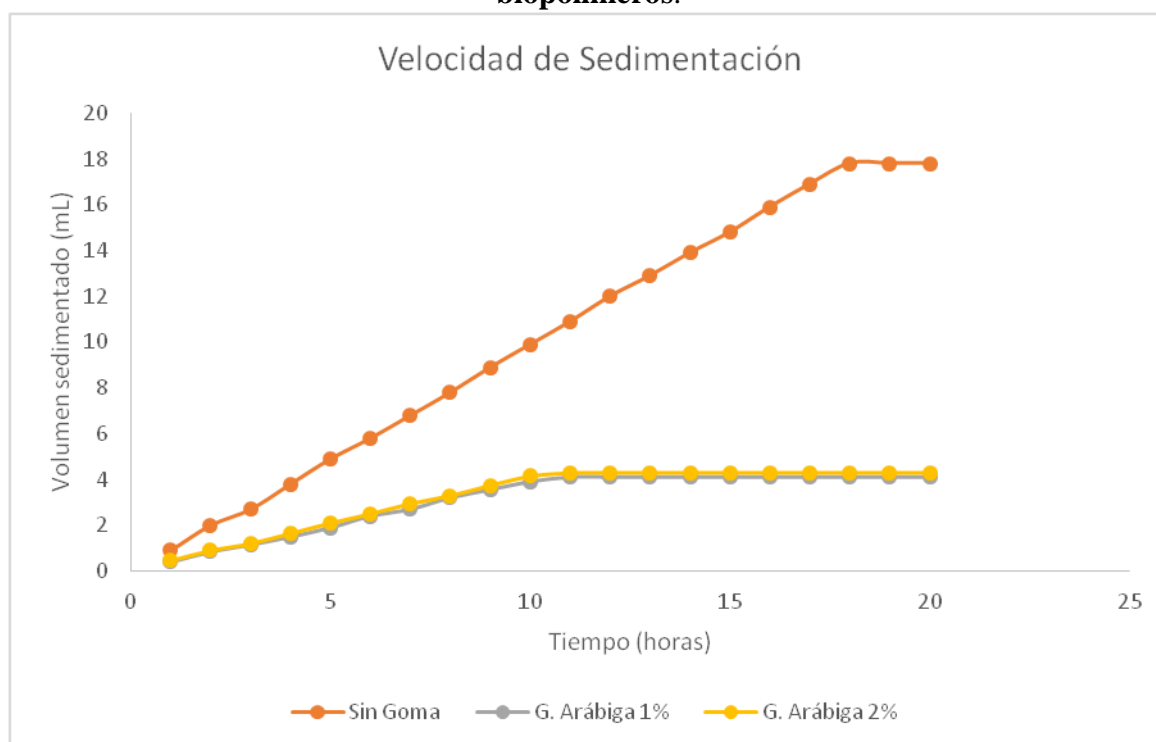
Tabla 3. Resultados de Propiedades Antioxidantes

Tratamiento	Vitamina C (mg Ácido Ascórbico /mL)	Polifenoles (mg Acido Gálico/mL)
Sin Goma	1616 ± 1.43	0.0359 ± 0.0018
G. Arábiga 1%	985 ± 0.78	0.0340 ± 0.0009
G. Arábiga 2%	948 ± 0.65	0.0283 ± 0.0031

Tabla 4. Parámetros de Color

Tratamiento	Hue	Croma
Sin Goma	82.69 ± 0.49	49.90 ± 0.54
G. Arábiga 1%	81.66 ± 0.23	54.10 ± 0.13
G. Arábiga 2%	81.63 ± 0.27	51.31 ± 0.32

Figura 1. Gráfico de las velocidades de Sedimentación utilizando diferentes biopolímeros.



ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE JUGO DE ZARZAMORA (*RUBUS SP.*) EN POLVO

Romero H.¹, Peredo A.¹, Beristáin C. I.¹, Azuara E.¹, Jiménez M.^{1*}

¹Instituto de Ciencias Básicas, Universidad Veracruzana. Luis Castelazo Ayala s/n, Col. Industrial Animas, CP. 91190, Xalapa, Veracruz, México. *maribjimenez@uv.mx

RESUMEN

La zarzamora es una fuente importante de antocianinas, las cuales proporcionan el color característico de la fruta que va de rojo a azul, son flavonoides conocidos por tener una alta actividad antioxidante. Aunque las antocianinas proporcionan beneficios a la salud, estas poseen una baja estabilidad lo que limita su uso como colorante natural. El objetivo de este estudio fue desarrollar dos diferentes metodologías para la elaboración de jugo de zarzamora en polvo y evaluar sus propiedades fisicoquímicas en donde uno de ellos fue secado con estufa de aire (ZE) y el otro asperjado sobre nitrógeno líquido y liofilizado (ZL). El jugo de zarzamora fue clarificado, conteniendo 6% de sólidos solubles, el cual fue mezclado con un volumen igual de agua y 5% de almidón de papa nativo, la mezcla fue calentada hasta los 90°C, se secó en estufa de aire a 45°C durante 72 horas para ZE y para ZL la mezcla a 90°C fue asperjada sobre nitrógeno líquido y liofilizada durante 48 horas. La pérdida del contenido de antocianinas en el polvo ZE fue del 46.3%, mientras que para ZL del 26.4% con respecto al jugo, el contenido de color polimérico fue de 89% y 70.44% para ZE y ZL, respectivamente. El polvo ZE presentó un IC₅₀ de 0.558 g de polvo y ZL de 0.669 g de polvo, el contenido de polifenoles totales fue de 1541.91 y de 1479.61 mg EAG/100gS para ZE y ZL, respectivamente. Los valores de los parámetros de color para ZE fueron L=31.34, C=27.65 y H°=14.84, mientras que para ZL fueron L=63.70, C=30.13 y H°=5.35. Ambos polvos presentaron propiedades de flujo y eficiencia adecuadas para incorporarlos en los alimentos y utilizarlos en la producción de alimentos funcionales como antioxidante y colorante natural.

(Palabras clave: antocianinas, colorante natural, actividad antioxidante, zarzamora, polvo).

INTRODUCCIÓN

Actualmente la industria alimentaria hace uso de aditivos sintéticos, dentro de los que encontramos principalmente los colorantes, aunque se sabe que el uso excesivo de estos aditivos tiene efectos negativos en la salud del consumidor. Los colorantes en los alimentos

son vitales, ya que el color es el primer aspecto tomado en cuenta por el consumidor, lo que hace indispensable su adición a los alimentos. Estudios se han centrado en buscar colorantes estables y carentes de toxicidad, como los colorantes naturales presentes en frutas (Wallace *et al.*, 2008; Restrepo, 2007; Estupiñan *et al.*, 2011). La zarzamora (*Rubus sp.*) es una fruta pequeña, conocida por su intenso color azul-negro. Esta fruta tiene un alto contenido en agua, fibra y antocianinas, las cuales son responsables del característico color que posee la fruta, lo que la convierte en una buena fuente para la obtención de colorantes naturales (Moreno *et al.*, 2002; Andrade *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2008; Rodríguez *et al.*, 2010). Las antocianinas son pigmentos con actividad antioxidante, ya que su estructura química les permite neutralizar radicales libres oxidándose ellas mismas (Kuskoski *et al.*, 2004), estudios relacionan esta propiedad de las antocianinas con prevención de enfermedades y algunos tipos cáncer (Harborne y Williams, 1992). Las antocianinas se degradan rápidamente durante el proceso y almacenamiento, son inestables, lo que limita su uso como colorante natural. La técnica con la que se añadirá el biopolímero también es un factor importante, una de las más utilizadas en el área de alimentos es la microencapsulación la cual es una de las formas de otorgar mayor protección. Esta puede darse por diversas metodologías, ya sea por procesos físicos, fisicoquímicos o químicos. La adición de un carbohidrato puede ayudar a evitar la degradación de las antocianinas y por lo tanto otorgarle protección, extendiendo la vida de anaquel, y estabilidad durante el procesamiento. Durante el proceso de gelificación, el almidón puede atrapar moléculas de antocianinas dentro de la matriz, protegiéndola de factores que puedan afectar su estabilidad. El objetivo de este estudio fue desarrollar dos diferentes metodologías para la producción de polvos a partir de jugo de zarzamora y almidón gelatinizado, así como evaluar la actividad antioxidante, las propiedades de flujo y color en los dos polvos.

MATERIAL

Las zarzamosas usadas para esta investigación fueron obtenidas en una huerta orgánica localizada en Coatepec, ubicada en el estado de Veracruz, México.

Condiciones de almacenamiento

Las frutas fueron almacenadas a -40°C, a la espera de ser utilizadas.

MÉTODOS

Extracción del jugo

Las frutas fueron maceradas para extraer el jugo, donde se hizo pasar a través de una malla para eliminar la presencia de semillas. El jugo obtenido fue sonicado, con un sonicador digital modelo 250 Branson (Eagle Rd., Danbury, U.S.A), con el fin de promover la ruptura de las células vegetales y tener una mayor concentración de antocianinas. El jugo obtenido fue clarificado por centrifugación en una centrifuga Hettich Universal 32R (D-78532 Tuttlingen, Germany) a 4000rpm por 5 minutos a 5°C, y finalmente se filtro con vacío. El jugo obtenido se utilizó para la elaboración de los dos diferentes polvos.

Elaboración de los polvos de jugo de zarzamora.

Para la elaboración de los polvos se realizó una mezcla con 47.5% de agua, 47.5% de jugo clarificado y 5% de almidón nativo de papa. La mezcla fue calentada con agitación hasta los 90°C. Esto se hizo indistintamente para la elaboración de ambos polvos.

Para la elaboración del polvo con almidón gelificado (PG) la mezcla a los 90°C fue vertida en cajas petri, las cuales fueron colocadas sin la tapa, en una estufa de aire a 45°C durante 72 horas. Las películas formadas en las cajas petri fueron pulverizadas usando una licuadora. El polvo resultante fue homogenizado con un tamiz de laboratorio numero 60.

En cuanto al polvo asperjado en nitrógeno líquido (PA), la mezcla a los 90°C fue hecha pasar por un aspersor de acero inoxidable, con ayuda de una bomba peristáltica a 30 rpm con una manguera de látex de 0.5 cm de diámetro conectada a un extremo de dicho aspersor, en el otro extremo se conecto un compresor de aire a 35 psi, la aspersion se hizo a 20 cm sobre nitrógeno liquido contenido en un recipiente de plástico con una capacidad de 7.5 L. Después de asperjado el polvo fue liofilizado durante 48 horas.

Las propiedades fisicoquímicas analizadas fueron humedad de acuerdo a la AOAC (1995), la actividad de agua que fue medida con un AquaLab serie 3 (Labcell Ltd., Basingstoke, Hants, UK). La actividad antioxidante fue medida en el jugo y en ambos polvos. La actividad antioxidante fue determinada con la actividad de captura del radical DPPH, el poder reductor fue determinado de acuerdo al método de Oyaizu (1986); el contenido de antocianinas y el porcentaje de color polimérico fue evaluado por el método de pH diferencial; los polifenoles totales fueron determinados con el ensayo de Folin-Cicalteu de acuerdo al método de Singleton *et al.*, (1999).

Las propiedades de flujo como ángulo de reposo, densidad a granel y densidad compactada fueron determinadas de acuerdo a la metodología desarrollada por Shah *et al.*,

(1997); el índice de compresibilidad y el índice de Hausner fue calculado de acuerdo a la metodología de Aulton (1988). Todas las determinaciones fueron elaboradas por triplicado, mostrando el promedio como resultado final.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La tabla 1 muestra las propiedades fisicoquímicas y la actividad antioxidante del jugo y los polvos. Los sólidos solubles del jugo clarificado fueron de 6%, la mitad de lo reportado en un estudio hecho a zarzamoras de la variedad brazos (Lim *et al.*, 2011), la actividad de agua fue de 0.980, mientras que la de PG fue de 0.311 y que la de PA fue de 0.200, debido a el tipo de secado al que fue sometido. La figura 2 muestra el polvo PG y la 3 muestra el PA. La humedad presente en los polvos fue de 5.13%, el cual es mayor que lo reportado para unas microcápsulas de arándano (Dai *et al.*, 2009), y de 2.79%, respectivamente. Con respecto a la actividad antioxidante de los polvos, PG tuvo una disminución del 49.62% en el contenido de antocianinas con respecto al jugo, mientras que PA disminuyó en un 25.22%. Un estudio demuestra que el contenido de antocianinas entre un puré de zarzamoras y un polvo de zarzamoras hecho del puré es el mismo, ya que el polvo elaborado fue secado por liofilización, en lugar de tener un tratamiento térmico (Sokmen *et al.*, 2005). Es sabido que los compuestos fenólicos presentes en las frutas son responsables de su actividad antioxidante debido al número de grupos hidroxilo (Jiménez *et al.*, 2011); PG tuvo un contenido de 1541.91mgEAG/100gss, mientras que PA tuvo 1479.61 mgEAG/100gss, los cuales no presentaron diferencias significativas. El IC₅₀ fue de 0.006 para PG y 0.005 para PA.

Los parámetros de color de ambos polvos se observan en la tabla 1. Investigaciones muestran que el incremento en el valor L* en un sistema coloreado con antocianinas de diferentes vegetales indican decoloración debido a la degradación de estas (Cevallos *et al.*, 2004; Walkowiak-Tomczak *et al.*, 2007; Duangmal *et al.*, 2008). La cromaticidad muestra altos valores debido a la adición del almidón. Mientras que el °Hue incrementa una unidad.

La tabla 2 muestra los resultados obtenidos de las propiedades de flujo de los polvos. El ángulo de reposo era de 18.76 para PG, y de 32.80 para PA, valores que de acuerdo con Carr (1976) indican libre flujo. Factor que se ve favorecido con un tamaño de partícula más pequeño, menor humedad y mayor homogeneidad (Theodore, 1982). El índice de Carr que representa el porcentaje de compresibilidad fue de 10.94 para PG y de 6.31 para PA, de acuerdo con estos resultados ambos polvos poseen un flujo y eficiencia aceptable (Carr, 1976; Theodore, 1982).

CONCLUSIONES

Los resultados indican que las zarzamoras son una buena fuente de antioxidantes, en este trabajo el contenido de polifenoles totales en el jugo fue de 784 mgc-3-glu/100gss. El PA es la mejor opción para encapsular antocianinas, ya que la retención es mayor con respecto al PG. En cuanto al contenido de polifenoles, no se encontraron diferencias significativas entre los polvos. De acuerdo al ° matiz los polvos se encuentran dentro de la gama de los rojos. Por último, de acuerdo a las propiedades físicas de los polvos ambos gozan de libre flujo.

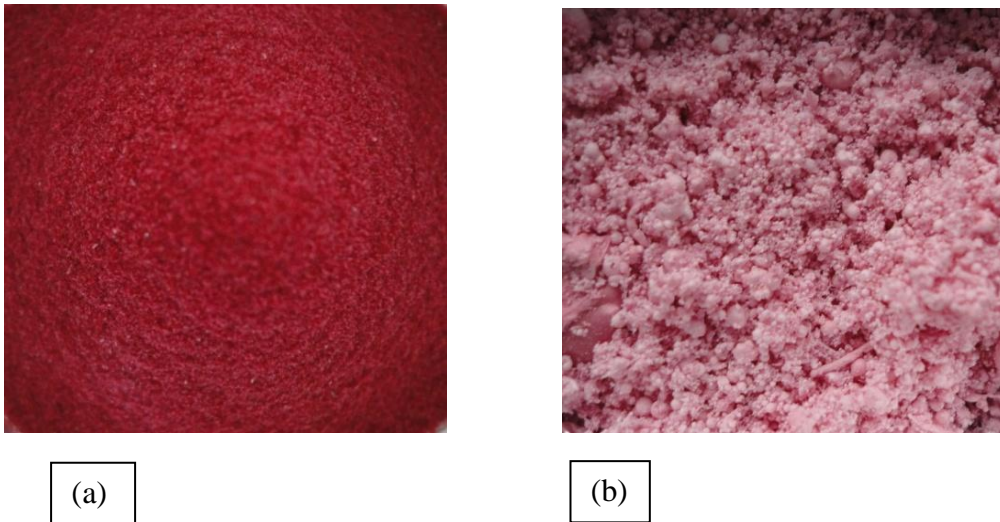


Figura 1. Polvo gelificado 1(a) y polvo asperjado en nitrógeno líquido 1(b)

Tabla 1. Propiedades fisicoquímicas y antioxidantes de los polvos

Análisis	Jugo*	PG*	PA*
°Brix	6 ± 0.200	-	-
Humedad %	-	5.13±0.140	2.79 ±0.73
a _w	0.980±0.005	0.311±0.008	0.200±0.04
Antocianinas (mg cya-3-glu/100g ss)	784±0.207	252±0.162	526.63±33.04
Fenoles totales (mg GAE/100g ss)	1492.41±381.44	1541.91±124.06	1479.61±80.66
Color polimérico %	32.35±14.88	88.99±3.99	70.44±5.95
IC ₅₀ (gss)	0.004±0.0001	0.006±0.0001	0.005±0.0001
Poder reductor (udo)	1.67±0.40	0.770±0.113	0.608±0.042
Parámetros de color			
L*	6.68±0.281	31.34±0.945	64.05±0.14
a*	14.96±0.346	26.73±0.804	30.00±0.23
b*	3.51±0.389	7.08±0.210	2.81±0.18
°Matiz	13.18±1.245	14.83±0.372	5.35±0.38
Croma	15.37±0.399	27.65±0.811	30.13±0.21

*Dentro de la tabla se muestra la media ± desviación estándar.

Tabla 2. Propiedades de flujo de los polvos

Propiedades	PG*	PA*
Angulo de reposo	18.76±0.52	32.80±3.149
Densidad a granel (g/cm ³)	0.65±0.04	0.12±0.006
Densidad compactada (g/cm ³)	0.73±0.04	0.12±0.004
Índice de Carr (%)	10.94±0.94	6.31.±2.42
Índice de Hausner	1.12±0.01	1.07±0.028
Densidad de partícula (g/cm ³)	0.53±0.06	0.21±0.005

*Dentro de la tabla se muestra la media ± la desviación estándar.

BIBLIOGRAFÍA

- Estupiñan, D.C., Schwartz, S.J. and Garzón, G.A. (2011), Antioxidant Activity, Total Phenolics Content, Anthocyanin, and Color Stability of Isotonic Model Beverages Colored with Andes Berry (*Rubus glaucus Benth*) Anthocyanin Powder. *Journal of Food Science*, 76: S26–S34.
- Wallace T.C., Giusti M. M. Determination of Color, Pigment, and Phenolic Stability in Yogurt Systems Colored with Nonacylated Anthocyanins from *Berberis boliviana L.* as Compared to Other Natural/Synthetic Colorants. *J Food Sci.* 2008; C1-C7.
- Restrepo G. M. Substitution of colorants in food. *Rev. Lasallista Investig.* 2007, vol.4, n.1, pp. 35-39.
- Wang L. S., Huang Y. W., Liu S, Yan P, Lin YC. Conjugated linoleic acid induces apoptosis through estrogen receptor α in human breast tissue. *BMC Cancer* 2008; 8:208.
- Andrade E. E., Morales G. J., Ortiz C. A., Rodríguez G. M., Ronquillo V. A., Sánchez S. A., Rodríguez D. A., Guzmán M. S., Mendoza L. M., Hernández L. D., 2007. Análisis de las Propiedades Fisicoquímicas de la Zorzamora en las Variedades Brazos, Cherokee y Tupy de la Zona Alta de Michoacán.
- Moreno Á. M. J., Viloria M. A., López E. y Douglas B. C. 2002; Estabilidad de antocianinas en jugos pasteurizados de mora (*Rubus glaucus Benth*). *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 52, 2:181-186.
- Rodríguez Pérez, M. A., Hernández Rojas, L. A., Madrigal Ambriz L. V., García D. E., Vázquez Galindo J., Velasco Villalpando, S. 2010. evaluación de antocianinas de la zarzamora (*Rubus eubatus*) en fruta y en conserva. In: XII Congreso Nacional De Ciencia Y Tecnología De Alimentos, en Guanajuato, México.
- Kuskoski, M., A. Asuero, M. García-Parilla, A. Troncoso, y R. Fett. 2004. Actividad antioxidante de pigmentos antocianínicos. *Cienc. Technol. Aliment.*, Campinas 24:691-693.
- Harborne J. B.; Williams C. A. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*. V. 52, p. 481-504, 2000.
- Rice-Evans C. A.; Miller N. J.; Papaganda G. Structure antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Rad. Biol. Med.*v. 20, p. 933-956, 1996.
- Wrolstad R. E. 2004. Anthocyanin pigments-bioactivity and coloring properties. *J Food Sci* 69:C419–25.
- Chandra, A., Fair, M., Lezzoni, A. 1992. Evaluation and characterization of the anthocyanin pigments in tart cherries (*prunus cerasus L*). *J. Agric. Food Chem.* 40:867-898.
- Sandoval A. A., Rodríguez S. E., y Ayala A. A. 2004. Encapsulación de Aditivos para la Industria Alimentaria. Volumen 5 – No. 2 – Ingeniería y Competitividad, Facultad de Ingeniería, Universidad del Valle.
- Parra-Huertas, Ricardo Adolfo. 2010. Revisión: microencapsulación de alimentos. *Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín.* 63(2):5669-5684.
- Murúa, B., Beristain C., and Martínez. F. 2009. Preparation of starch derivatives using reactive extrusion and evaluation of modified starches as shell materials for encapsulation of flavoring agents by spray drying. *Journal of Food Engineering* 91(3): 380–386.
- AOAC, (1995). *Official Methods of Analysis* (15th ed.). (Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, MD).

Oyaizu, M.: Studies on products of browning reactions: Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*, 44, 1986, pp. 307–315

Singleton V, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin–Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymol* 299:152–75

Shah D, Shah Y, Rampradhan M. Development and Evaluation of controlled release diltiazem hydrochloride micro particles using cross-linked poly (vinyl alcohol), *Drug Dev Ind Pharm*. 1997; Vol.23 (6); 567-574.

Aulton M. E., Wells T. I. *Pharmaceutics: The science of dosage form design*, Churchill Livingstone, London, 1988.

Lim, K., Ma, M. and Dolan, K.D. (2011) Effects of spray drying on antioxidant capacity and anthocyanidin content of blueberry by-products. *Journal of Food Science*, 76, H156-H164.

Dai, J., A. Gupte, L. Gates, and R.J. Mumper, A comprehensive study of anthocyanin-containing extracts from selected blackberry cultivars: extraction methods, stability, anticancer properties and mechanisms. *Food Chem Toxicol*, 2009. 47(4): p. 837-47.

Sokmen M., Angelova M., Krumova E., Pashova S., Ivancheva S., Sokmen A., Serkedjieva J. In vitro antioxidant activity of polyphenol extracts with antiviral properties from *Geranium sanguineum* L. *Life Sciences*: 76 (25), 2981-2993 (2005).

Jiménez M., Azuara E., Vernon-Carter J., Luna G., Beristaín C. 2011. Antioxidant activity of microcapsules of *Rubus* sp. juice using spray drying. In *International Congress on Engineering and Food*, Athens, Greece.

Cevallos-Casals B, Cisneros-Zevallos L. 2004. Stability of anthocyanin-based aqueous extracts of Andean purple corn and red-fleshed sweet potato compared to synthetic and natural colorants. *Food Chem* 86:69–77.

Duangmal K, Saicheua B, Sueeprasan S. 2008. Color evaluation of freeze-dried roselle extract as a natural food colorant in a model system of a drink. *Food Sci and Technol* 41:1437–45.

Walkowiak-Tomczak D, Czapski J. 2007. Colour changes of a preparation from red cabbage during storage in a model system. *Food Chem* 104:709–14.

Carr, R. L., 1976. Powder and granule properties and mechanics. In *Gas-Solids Handling in the Processing Industries*, J.M. Marchello and A. Gomezplata (Ed.). Marcel Dekker, Inc., New York.

Theodore, B., 1982. *Manual del ingeniero Mecánico*. Vol 2. Ed. Mc Graw-Hill. Cap 10. Pp. 2-55.

SENSORES ÓPTICOS PARA LA MONITORIZACIÓN EN LÍNEA DE PROCESOS EN LA INDUSTRIA QUESERA

O. Arango¹, H. Taterka¹, A. Abdel-Gawad¹, J. Gallardo¹, M. Castillo^{1,2}

¹Centre Especial de Recerca Planta de Tecnologia dels Aliments (CERPTA), Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193-Bellaterra,

²Biosystems and Agricultural Engineering. University of Kentucky, Lexington, 40546-0276, EE.UU.

e-mail: manuel.castillo@uab.es

Palabras clave: Industria quesera, automatización, dispersión de luz, fibra óptica, inline

Sensor de coagulación y predicción del tiempo de corte

La evaluación en cuba de la dureza de la cuajada y la estimación de los tiempos de coagulación y de corte son esenciales para el control de la coagulación durante la elaboración de queso. Las variaciones de la composición de la leche y de las condiciones de coagulación ejercen un impacto considerable en la dureza de la cuajada y por tanto en el tiempo de corte. Es bien conocido que el corte anticipado del gel supone una pérdida de rendimiento por la debilidad de su estructura, mientras que su demora eleva el rendimiento pero también el contenido de agua de la cuajada, que disminuye la calidad del queso al alterar el afinado. Por tanto, parece lógico asumir que debe existir un momento óptimo para el corte en el que las características del gel determinan un máximo rendimiento, homogeneidad y calidad (Castillo, 2002). Los parámetros que definirían ese punto de corte ideal no han sido aún caracterizados desde una perspectiva científica. De todo lo anterior, se desprende el interés de un método “*in-line*” para monitorizar la coagulación y determinar los tiempos de coagulación y de corte. En la industria quesera, el corte se realiza a un tiempo fijo o se delega en el juicio subjetivo del quesero. Esta práctica, ha demostrado ser funcional, pero no ha demostrado ser óptima. Durante las últimas décadas se han propuesto numerosos equipos para la monitorización de la coagulación y/o la estimación del tiempo de corte (gelógrafo, formógrafo, viscosímetro, reómetro, etc). En general, estos sistemas que estudian propiedades reológicas son destructivos y no resultan prácticos en línea. La alternativa son los equipos no destructivos basados en la medida de la conductividad térmica, eléctrica y de ondas luminosas, vibraciones y ultrasonidos. Las técnicas vibracionales, térmicas y ópticas están despertando grandes expectativas, pero la gran evolución de los sistemas de fibra óptica y de procesado automático de datos está dando ventaja a los métodos ópticos. Por el momento no se ha

conseguido un sistema completamente eficaz y adecuado para determinar de forma objetiva el tiempo de corte ideal, aunque algunos métodos existentes permiten reproducir fielmente el tiempo de corte establecido por el quesero.

El sensor óptico propuesto por Payne et al. (1993) mide la variación de intensidad de dispersión de radiación NIR (880 nm) mediante dos fibras ópticas separadas a 0,7 mm de distancia. La luz procedente de un diodo de emisión de luz (LED) es transferida hasta la leche mediante una fibra óptica, mientras que la luz dispersada por la leche es transmitida mediante una fibra adyacente hasta un detector óptico (TSL 245, TAOS, Dallas, TX, USA) (**Figura 1**).

Esta configuración óptica suministra una señal proporcional a los cambios que ocurren en la estructura proteica de la leche durante la coagulación. La señal contiene información sobre los cambios físicos, el tamaño y/o la estructura de las micelas de caseína durante la hidrólisis enzimática y la formación del gel. Se observa que el perfil de dispersión aumenta sigmoidalmente durante las coagulaciones ácida, enzimática y mixta. El aumento de señal depende del tipo de leche (p. ej., 15-21% en leche de cabra y 50% en leche desnatada de vaca). El ratio de dispersión se genera dividiendo el voltaje, V , por el voltaje inicial, V_0 , correspondiente a la media de los voltajes obtenidos durante el primer minuto tras la adición de enzima. El ratio de dispersión comienza con un valor unidad y representa el porcentaje de aumento de la señal durante la coagulación. A partir del perfil de dispersión se obtiene un parámetro de interés tecnológico, t_{\max} (tiempo desde la adición de enzima hasta que se alcanza la velocidad máxima de incremento del ratio de dispersión). El parámetro t_{\max} se correlaciona fuertemente con la constante de hidrólisis enzimática (Saputra, 1992), lo que permite al sensor óptico determinar indirectamente la velocidad de la reacción de hidrólisis. Cuando la temperatura, el pH o las concentraciones de calcio o de enzima cambian, t_{\max} varía en consonancia. Castillo (2002) observa que t_{\max} varía inversamente con la concentración de enzima de acuerdo con la ecuación de Foltmann, al igual que el tiempo de coagulación de Berridge; y que la pendiente del perfil de dispersión a $t = t_{\max}$ sigue la ecuación de Arrhenius en función de la temperatura.

El perfil de dispersión no sólo contiene información sobre la constante de velocidad de hidrólisis, sino también sobre las constantes de velocidad de los procesos de formación del gel. Castillo (2002) obtiene los valores de las constantes de velocidad de las reacciones de agregación micelar, k_2 , y endurecimiento del gel, k_1 , a partir del perfil de dispersión, a tres niveles de proteína y cinco niveles de temperatura diferentes. Por tanto, no resulta sorprendente que el parámetro óptico t_{\max} esté muy correlacionado con el tiempo de corte. Payne et al. (1993) desarrollan la siguiente ecuación para estimar el tiempo de corte, t_{cut} :

$$t_{\text{cut}} = \beta t_{\text{max}} \quad \text{Ecuación (1)}$$

El coeficiente β varía entre 1.15 y 2.4 en función del tipo de enzima y leche empleados, así como del tipo de producto elaborado, y se calibra en planta para que reproduzca fielmente la selección del tiempo de corte del maestro quesero. No obstante, la ecuación (1) sólo es adecuada si la concentración de proteína es constante. Castillo (2002) observa que un aumento de proteína produce una disminución significativa de β . Este hecho permite el desarrollo de un algoritmo que corrige la predicción del tiempo de corte en función del contenido proteico:

$$t_{\text{cut}} = \beta t_{\text{max}} (1 + \gamma \% \text{ Proteína}) \quad \text{Ecuación (2)}$$

La constante γ corrige el valor de β según la concentración de proteína. El sensor de coagulación también resulta útil para la predicción de otros parámetros característicos de la coagulación. Así, t_{max} permite la predicción del tiempo de coagulación de Berridge (Castillo, 2002) y del tiempo de gelificación determinado mediante reómetro (Castillo et al. 2006). Recientes estudios, demuestran que este sensor podría presentar interés para detección temprana de problemas de coagulación en leche con mamitis subclínica (Abdel-Gawad et al., 2012) o de leche procedente de animales bajo efecto de estrés térmico (Abdel-Gawad et al., 2011).

Sensor de sinéresis

El proceso de sinéresis es una etapa decisiva en la elaboración de queso, al regular el contenido de humedad, minerales y lactosa de la cuajada, e incidir de forma directa en la fase de maduración. Muchos defectos habituales del queso son consecuencia del elevado contenido acuoso de la cuajada al inicio de la maduración. Una mejora en el control de la sinéresis redundaría en valores más homogéneos de lactosa, minerales, pH y humedad de la cuajada al inicio de la maduración, incrementando el control sobre este proceso y reduciendo la proporción de quesos que incumplen las normas de calidad.

La determinación de la cinética del desuerado de la cuajada durante la agitación en la cuba quesera tiene una serie de dificultades evidenciadas por las numerosas y variadas técnicas que han sido propuestas para su determinación. Walstra et al. (1985) y Walstra (1993) han revisado las distintas técnicas que han sido aplicadas para medir la sinéresis: a) medida de la contracción de la cuajada determinada mediante cambios de masa, área, o volumen, b) medida de la expulsión de suero o del grado de dilución determinado mediante la adición de un trazador, c) determinación del contenido de extracto seco en los granos de

cuajada y, d) determinación de la densidad de los granos de cuajada. Pese a los numerosos métodos de evaluación de la sinéresis propuestos, a nivel industrial este proceso aún se controla empíricamente en todo el mundo, mediante regulación del tratamiento mecánico y de parámetros como el tiempo y la temperatura de procesado.

Estudios realizados por Castillo et al. (2006) han determinado la contracción de la cuajada mediante un sensor de desplazamiento láser, confirmando que se ajusta a una cinética de primer orden. La dilución de los glóbulos grasos en el suero durante la sinéresis ha sido estudiada por Castillo et al. (2005a), y sigue también una cinética de primer orden, lo que sugiere que este fenómeno podría utilizarse como “*trazador interno*” para la monitorización de la sinéresis. En base a esta hipótesis, dichos autores han desarrollado un sensor de reflexión difusa NIR (980 nm) de amplio campo de visión (sensor LFV; **Figura 2**) que permite monitorizar tanto la coagulación de la leche como el desuerado de la cuajada (Castillo et al., 2005b); y predecir la variación del contenido de humedad de la cuajada en función del tiempo de agitación en la cuba de cuajado. El amplio campo de visión del sensor LFV permite promediar las oscilaciones continuas de intensidad luminosa reflejada/dispersada por la mezcla de cuajada y suero, que son originadas por la gran heterogeneidad de las fases. La radiación luminosa incidente viaja a través de una fibra óptica de 5 mm de diámetro, un polarizador vertical y una ventana óptica de gran diámetro, hasta que alcanza la muestra (i.e., la única radiación que incide sobre la muestra está polarizada verticalmente). La radiación reflejada/dispersada por la muestra atraviesa nuevamente la ventana óptica y un polarizador horizontal que bloquea la radiación polarizada verticalmente y llega hasta el detector a través de otra fibra óptica de 5 mm. Puesto que sólo la radiación que ha rotado 90° tras interactuar con la muestra llega al detector, el sensor es considerablemente más sensible a la radiación dispersa que cambia de orientación al atravesar la muestra que a la radiación especular originada en la superficie de la ventana óptica o que procede, sin rotar, de la superficie de los granos de cuajada. La disminución de la reflexión especular pretende aumentar la sensibilidad del sensor a algunos de los fenómenos que ocurren en la muestra de suero y cuajada durante el desuerado.

El ratio de intensidad derivado del sensor crece sigmoidealmente (~23%) durante la coagulación y disminuye de forma logarítmica durante el desuerado (**Figura 3**). La disminución de la señal durante el desuerado, que varía entre 25% y 61% según las condiciones experimentales, aumenta con la temperatura lo que sugiere que el sensor es sensible a los cambios de cinética de desuerado originados por este factor (**Fig. 4**). No sólo el perfil óptico obtenido con el sensor LFV disminuye de forma logarítmica, como cabría

esperar si la señal se correlacionase con el proceso de sinéresis que sigue una cinética de primer orden, sino que también el contenido de humedad de la cuajada y la concentración de grasa en suero presentan dicha tendencia. Estos resultados sugieren que la señal que se obtiene con el sensor LFV proporciona información en relación con los cambios en el tamaño de los granos y en la concentración de los glóbulos grasos en suero que se producen simultáneamente en la cuba durante la elaboración de queso y que se relacionan directamente con la expulsión del suero a partir de los granos de cuajada inducida por el fenómeno de la sinéresis.

La tecnología óptica LFV tiene la ventaja adicional de responder a los procesos de agregación de las micelas de caseína y de endurecimiento de la cuajada durante la coagulación de la leche. Por tanto, el sensor óptico no sólo monitoriza la sinéresis sino también el proceso previo de coagulación de la leche, lo que permite predecir el tiempo de corte y los cambios de humedad en la cuajada durante el desuerado mediante el empleo de un único sensor. En otras palabras, el sensor LFV presenta el potencial de proporcionar información útil sobre la mayoría de los fenómenos químicos y/o físicos de interés, en relación con el control de procesos i.e., hidrólisis enzimática, agregación micelar, ensamblaje del entramado tridimensional de caseína y reestructuración/contracción de la cuajada, que tienen lugar en la cuba de cuajado desde que ésta se llena de leche hasta que la mezcla de cuajada y suero se drena al final del desuerado principal (i.e., al final de la fase de desuerado en cuba).

Los resultados obtenidos por nuestro grupo de investigación (Fagan et al., 2007a, b; Fagan et al., 2008) demuestran que el sensor LFV permite estimar el contenido de humedad de la cuajada en función del tiempo durante el desuerado en cuba a partir de datos ópticos con un SEP de 1.72% dentro de un rango de humedades de 50 a 90%. Los datos obtenidos también permiten estimar el rendimiento quesero y las pérdidas de grasa en suero; y ofrece potencial tanto en quesos frescos como maduros.

En la actualidad el sensor de sinéresis LFV se encuentra en fase de prueba y se están realizando los primeros ensayos de validación de dicha tecnología, que permitirá predecir el tiempo de corte y el final del desuerado para optimizar la humedad de la cuajada, minimizar las pérdidas de grasa y maximizar el rendimiento quesero.

Los datos obtenidos hasta el momento son ciertamente prometedores, pero la implementación industrial aún requiere un esfuerzo investigador sustancial. Si dicha implementación se realiza con éxito, sin duda, esta tecnología óptica ejercería un gran impacto sobre la calidad y homogeneidad del queso a nivel mundial.

BIBLIOGRAFÍA

Abdel-Gawad, A.R., S. Hamzaoui, A.A.K. Salama, G.Caja, B. Guamis, M. Castillo. 2011. Light backscatter evaluation of milk coagulation properties in dairy goats supplemented with soybean oil under heat stress conditions, XI International Conference on Goats, September, 19-21, Canary Islands, Spain

Abdel-Gawad, A.R (2012). Comunicación personal.

Castillo, M. 2002. *Predicción del tiempo de corte en la elaboración de queso mediante dispersión de radiación de infrarrojo próximo*. Tesis Doctoral. University of Murcia.

Castillo, M., Payne, F.A., López, M.B., Ferrandini, E., Laencina, J. 2005a. Preliminary evaluation of an optical method for modeling the dilution of fat globules in whey during syneresis of cheese curd. *Applied Engineering in Agriculture* 21, 265-269.

Castillo, M., Payne, F.A., Shea, A., 2005b. Development of a combined sensor technology for monitoring coagulation and syneresis operations in cheese making. *In: Proceedings of ADSA Annual Meeting*, Cincinnati. Ohio, USA.

Castillo, M., Payne, F.A., Wang, T., Lucey, J.A. 2006. Effect of temperature and inoculum concentration on prediction of both gelation time and cutting time. Cottage cheese-type gel. *International Dairy Journal* 16, 147-152.

Fagan, C. C., Castillo, M., Payne, F. A., O'Donnell, C. P., Leedy, M., O'Callaghan, D. J. 2007a. Novel on-line sensor technology for continuous monitoring of milk coagulation and whey separation in cheesemaking. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55 8836-8844.

Fagan, C. C., Castillo, M., Payne, F. A., O'Donnell, C. P., O'Callaghan, D. J. 2007b. Effect of Cutting Time, Temperature and Calcium on Curd Moisture, Whey Fat Losses and Curd Yield by Response Surface Methodology. *Journal of Dairy Science*, 90, 4499-4512.

Fagan, C. C., Castillo, M., O'Donnell, C. P., O'Callaghan, D. J., Payne, F. A. 2008. On-line prediction of cheese making indices using backscatter of near infrared light. *International Dairy Journal*, 18 120-128.

Payne, F. A., Hicks, C. L., Shen, P. S. 1993. Predicting optimal cutting time of coagulating milk using diffuse reflectance. *Journal of Dairy Science* 76(1): 48-61.

Saputra, D. 1992. *Analysis of enzymatic hydrolysis of milk using diffuse reflectance of near infrared radiation*. Ph.D. Thesis, University of Kentucky.

Walstra, P. 1993. The syneresis of curd. Pages 141–191. *In Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. Vol. 1: General Aspects. P. F. Fox, ed. 2nd ed. Chapman & Hall, London, UK.

Walstra, P., H. J. M. van Dijk, and T. J. Geurts. 1985. The syneresis of curd. 1. General considerations and literature review. *Netherlands Milk and Dairy Journal*. 39 209–246.



Figura 1. Origen de la señal del sensor de dispersión en leche durante la coagulación. Según Payne y Castillo (2007).

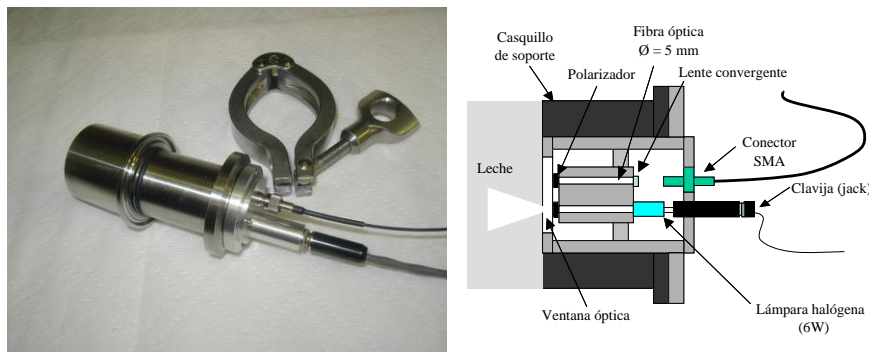


Figura 2. Sensor de fibra óptica LFV –Large Field of View– para monitorización en cuba de la coagulación de la leche y el desuerado de la cuajada. Según Castillo et al. (2005b) y Castillo et al. (2007 a,b).

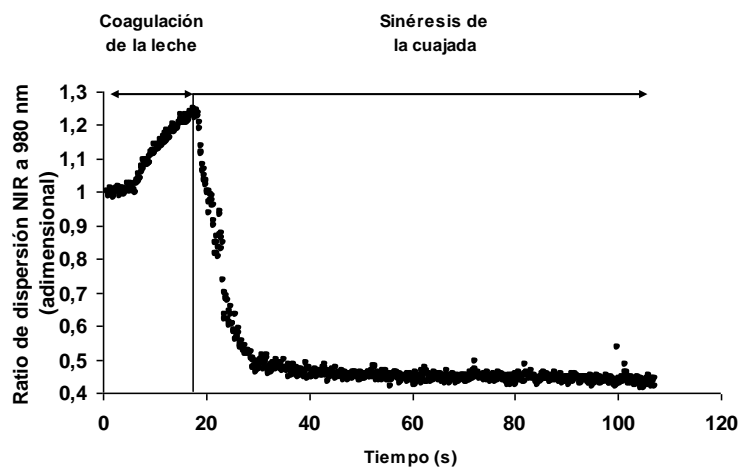


Figura 3. Típica respuesta del sensor de sinéresis, LFV, durante la coagulación de la leche y el desuerado de la cuajada.

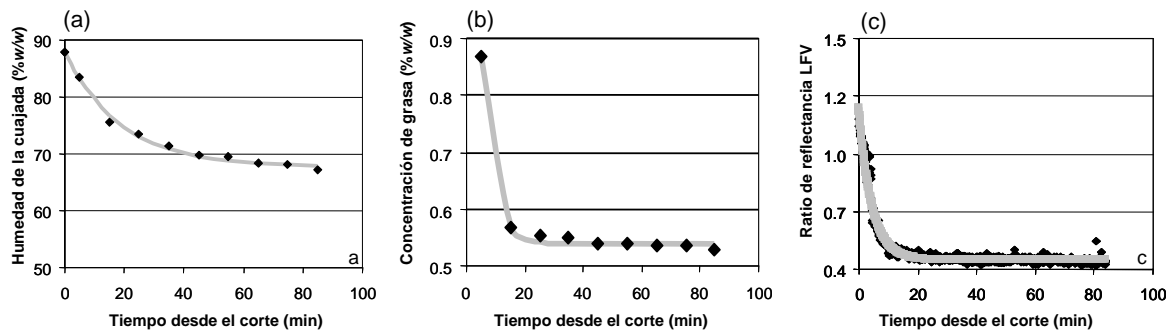


Fig. 4. Cinética de la humedad de la cuajada (a), concentración de grasa en suero (b) y del ratio de reflectancia obtenido con el LFV (c) durante el desuerado a 32°C bajo condiciones constantes de tiempo de corte y de nivel de adición de cloruro cálcico. Se presenta el calor medio de los datos experimentales (♦) correspondientes a tres réplicas (n = 3).

VALORACIÓN DEL CONTENIDO DE VITAMINA C Y B-CAROTENO EN GUAYABA AGRIA Y FEIJOA EN DIFERENTES ESTADÍOS DE MADUREZ**Lina María García Rivera^a, Andrea Milena Sánchez Riaño^b, Henry Alexander Váquiro Herrera^c, José Fernando Solanilla Duque^d**

^aIngeniero Agroindustrial. Departamento de Producción y Sanidad Vegetal. Universidad del Tolima. Ibagué, Colombia.

^bIngeniero Agroindustrial. Departamento de Producción y Sanidad Vegetal. Universidad del Tolima. Ibagué, Colombia.

^cDoctor en Tecnología de Alimentos. Departamento de Producción y Sanidad Vegetal. Universidad del Tolima. Ibagué, Colombia.

^dDoctor en Ciencia y Tecnología en Coloides e Interfaces. Departamento de Producción y Sanidad Vegetal. Universidad del Tolima. Ibagué, Colombia.

RESUMEN

La amplia diversidad hortofrutícola colombiana evidencia potencial productivo, estableciendo mercados locales e internacionales promisorios. Este trabajo evaluó el contenido de vitamina C (VC) y β -caroteno (BC) (como precursor de vitamina A), a muestras liofilizadas de frutos enteros de guayaba agria (*Psidium friedrichsthalianum* (O. Berg) Niedenzu) y feijoa (*Acca sellowiana* (O. Berg) Burret.), considerando dos estados de madurez: verde y maduro. El contenido de VC fue expresado en mg. de ácido ascórbico por gramo de muestra liofilizada (ML) (mg A.A./g. ML.) y la provitamina A en mg. de BC por gramo de ML (mg β -C/g. ML). La cuantificación de ácido ascórbico se realizó a extractos de muestras en ácido oxálico al 0,15%, en tanto que la provitamina A se valoró directamente en los extractos de BC para cada muestra. Las dos frutas demostraron ser excelentes fuentes de vitamina C, reportando $67,82 \pm 1,42$ y $73,72 \pm 3,80$ mg A.A./g ML., respectivamente. Sin embargo, en la guayaba agria el contenido aumentó en estado maduro a $97,11 \pm 1,03$ mg A.A./g ML. En cuanto a la provitamina A, la feijoa reporta $12,65 \pm 0,27$ mg β -C/g ML. y la guayaba agria $8,01 \pm 0,67$ mg β -C/g ML. Estadísticamente, no hay diferencia significativa entre el contenido de VC y BC en la feijoa, en la guayaba agria se evidencia diferencia significativa. Otros estudios indican que cantidades de estas vitaminas varían entre los diferentes estados de madurez. La fresa muestra comportamiento totalmente opuesto, donde el contenido de VC aumenta a través de la maduración. Factores como el tiempo de cosecha, manejo postcosecha y condiciones de almacenamiento pueden influir en la conservación BC. Esto permite considerar que los factores del genotipo, cultivo y manejo postcosecha específico a cada fruta podría estar determinando el comportamiento en su contenido en los diferentes estadios de madurez.

INTRODUCCIÓN

La amplia diversidad que caracteriza a Colombia en materia hortofrutícola evidencia un gran potencial productivo. Las condiciones productivas, innatas de la región, establecen un perfil comercial promisorio en el mercado local e internacional, gracias a la tendencia de consumo mundial hacia las frutas exóticas, especialmente de origen tropical. La FAO en su último anuario estadístico ha señalado que Colombia es uno de los países que presentan accesibilidad a tierras con potencial agrícola (2012), lo que favorece iniciativas de mejoramiento a las condiciones actuales para cultivos frutales, especialmente de cultivos promisorios, aprovechando así, el impulso del sector frutícola dentro de las exportaciones nacionales (FAO, 2012). Por tal razón se han diseñado estrategias que incentiven a los productores a optar por otras alternativas de producción, impulsando cadenas productivas de frutos promisorios como la guayaba agria (*Psidium friedrichsthalianum* (O. Berg) Niedenzu) y la feijoa (*Acca sellowiana* (O. Berg) Burret.) de la familia Myrtaceae (MADR, 2009, p.8).

La mayoría de las frutas frescas son perecederas y tienden a sufrir deterioros fisiológicos, que se manifiestan en mayor proporción cuando las condiciones de manejo poscosecha son inadecuadas. Dicha realidad no es ajena a los frutos de feijoa (*Acca sellowiana* (O. Berg) Burret) y guayaba agria (*Psidium friedrichsthalianum* (O. Berg) Niedenzu), ya que su alto contenido de agua las hace susceptibles a deterioros significativos atribuidos a la continuación de los procesos fisiológicos que aceleran su maduración, afectando directamente la vida útil, la calidad y por ende, limitando su campo de comercialización (García, Cury & Dussán, 2010).

La presente propuesta de investigación evalúa el contenido de vitamina C y A en guayaba agria (*Psidium friedrichsthalianum* (O. Berg) Niedenzu) y feijoa (*Acca sellowiana* (O. Berg) Burret) en dos estados de madurez

MATERIALES Y MÉTODOS

La muestra. Para el desarrollo de la fase experimental de esta investigación se ha dispuesto de dos muestras principales, representadas por los frutos de guayaba agria (*Psidium friedrichsthalianum* (O. Berg) Niedenzu) y feijoa (*Acca sellowiana* (O. Berg.) Burret). A partir de estas, se han constituido matrices experimentales para cada una de las fases de estudio.

La muestra se ha clasificado en función a sus estados de madurez. La clasificación de la Feijoa está en función de las semanas luego de la antesis, mientras que la clasificación de la guayaba agria está sujeta a su condición específica de madurez, verde y maduro (Tabla 1).

Preparación de muestras. La construcción del perfil vitamínico de las muestras de fruto entero, permite estimar características funcionales a partir de su ingesta en la dieta. Las muestras son acondicionadas por medio de un proceso de liofilización. Esto con el objetivo de obtener una muestra seca, porosa y sin contracción (Marques, Prado & Freire, 2009) que facilite la molienda y la obtención de muestra en polvo de fácil rehidratación, ya que es necesaria la preparación de extractos en diferentes tipos de solventes para las siguientes determinaciones. Asimismo, el secado a bajas temperaturas preserva constituyentes como minerales, vitaminas y metabolitos secundarios (Marques et al., 2009), los cuales constituyen el objeto de estudio de las tres últimas fases.

La reducción de tamaño de las muestras liofilizadas se realiza utilizando un molino de impacto. Las muestras en polvo son almacenadas en bolsas herméticas ziploc, envueltas en papel aluminio y conservadas en refrigeración a 4 °C.

Determinación del contenido de vitamina C y A. La VC es conocido también como ácido ascórbico y la más estudiada, está presente en los sistemas biológicos como anión ascorbato, presentando un grupo hidroxilo muy activo que lo hace un eficiente eliminador de radicales libres. Asimismo, se le atribuyen poderes prooxidantes, de ahí la importancia de su intervención en la reducción de iones de metal del centro activo de las enzimas hidroxilasas y oxigenasas, implicadas en la biosíntesis de procolágeno, carnitina y neurotransmisores. El principal reconocimiento que se tiene de la vitamina C, es su relación con el tratamiento de enfermedades de tipo gripal (Denisov & Afanas'ev, 2005). El contenido de vitamina C se evalúa mediante el método colorimétrico de la 2-Nitroanilina, obteniendo extractos de la fruta liofilizada en ácido oxálico al 0,15%, los cuales son tratados con 2-nitroanilina al 0,16%, nitrito de sodio al 0,08%, etanol al 97% e hidróxido de sodio al 10%, desarrollando un complejo de color rojo-violeta detectable por espectrofotometría UV-visible a una longitud de onda de 540 nm. El contenido de vitamina C, finalmente es expresado como miligramos de ácido ascórbico por gramo liofilizada (mg A.A./g m.l.). La determinación de la vitamina A es tomada de la metodología propuesta por Sanusi y Debiyi (2009). A 0,3 g de muestra liofilizada se adicionan 3 ml de BHT etanólico, seguido de agitación y se lleva a baño térmico a 85 °C por cinco minutos. Luego se agregan 0,25 ml de hidróxido de potasio al 80%, se agita y se lleva de nuevo al baño térmico a 85 °C por 10 minutos. A continuación se agita, se lleva a baño de hielo y se agrega 1,5 ml agua des-ionizada y 1,5 ml de he hexano. Se

centrifuga a 3900 r.p.m. tres veces (12 minutos cada ciclo). Se separa el sobrenadante y se lee su absorbancia en un espectrofotómetro UV-visible a 450 nm. La curva patrón es preparada a partir de β -caroteno.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos se analizan mediante el paquete estadístico STATGRAPHICS centurión, por medio del cual se aplica el análisis de varianza (ANOVA) con un intervalo de confianza del 95% y la prueba múltiple de rangos empleando el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Rendimiento en el proceso de liofilización de las muestras: todas las pruebas se realizan sobre muestras de fruto liofilizadas (Tabla 2).

Determinación de Vitamina C (Ácido Ascórbico) y Vitamina A (β -caroteno): El contenido de vitamina C, expresado en mg de ácido ascórbico por gramo de muestra liofilizada (mg A.A./g ML) y de vitamina A, expresado en mg de β -caroteno por gramo de muestra liofilizada (mg β -c/g ML), se determinó a muestras de fruto entero liofilizadas de feijoa y guayaba agria en los estados de madurez. Para la cuantificación de ácido ascórbico fue necesario obtener extractos de la muestra en ácido oxálico al 0,15% (Tabla 3). Estas frutas presenta propiedades funcionales antioxidantes que podría ser utilizadas como fuente para frenar procesos de oxidación. En consecuencia, el consumo alto de carotenos provenientes de los alimentos ha sido asociado con el riesgo reducido de varias enfermedades (incluyendo enfermedad cardíaca y cáncer). Estas también podrían prevenir ciertas enfermedades oculares relacionadas con la edad, retrasando así su progresión (Sanusi & Debiyi 2009). La feijoa contiene ácido cítrico y ácido málico, siendo rico en vitamina A y C, principalmente en la cáscara (Perea, 2010). Estos compuestos incrementan la conservación natural del producto, que en conjunto con otros compuestos de carácter fenólico, contribuyen a funciones antimicrobianas, antibacterianas, antiinflamatorias e inmunitaria-estimulante (Weston, 2010). Estos atributos hacen cada día más atractivo este fruto, tanto para la ciencia y como para la industria. También es importante destacar el alto aporte en vitamina C de la guayaba agria, el cual es superior al de la feijoa en estado verde y además se observa incremento a medida que avanzan los estadios de madurez, contrario a lo que sucede en la feijoa. Otros estudios indican que cantidades de estas vitaminas varían entre los diferentes

estados de madurez. La fresa muestra comportamiento totalmente opuesto, donde el contenido de VC aumenta a través de la maduración (Wang & Camp, 2000). Factores como el tiempo de cosecha, manejo postcosecha y condiciones de almacenamiento pueden influir en la conservación BC. Esto permite considerar que los factores del genotipo, cultivo y manejo postcosecha específico a cada fruta podría estar determinando el comportamiento en su contenido en los diferentes estadios de madurez. En consecuencia, el análisis estadístico (ANOVA) realizado indica que no existe diferencia significativa entre el contenido de vitamina C y vitamina A en las muestras de feijoa, mientras que para la guayaba agria si se evidencia diferencia significativa. Asimismo, no existe diferencia significativa para el contenido de cada vitamina entre las dos frutas (Figura 1).

CONCLUSIÓN

Claramente, la feijoa y la guayaba agria son frutas promisorias dentro de la producción agrícola colombiana, gracias a sus propiedades nutricionales, destacándose los contenidos de vitaminas y fibra (datos no mostrados), junto a algunos minerales (datos no mostrados), lo que es compatible con las tendencias de consumo actuales. Se recomienda profundizar en estudios que explique el comportamiento de síntesis y deterioro de vitamina c en estos frutos a través del proceso de maduración, ya que los resultados expuestos en este estudio mostraron comportamiento opuestos, respecto al ácido ascórbico, entre la guayaba agria y la feijoa, siendo estas dos de la misma familia (Myrtaceae).

BIBLIOGRAFÍA

- Devisov, E.T. & Afanas'ev, I.B. (2005). Antioxidants. En: Oxidation and antioxidants in organic chemistry and biology (pp. 849-899). New York (United Estate): Taylor & Francis Group.
- García M., C., Cury R., K.I. & Dussán S., S. (2010). Evaluación poscosecha y estimación de vida útil de guayaba fresca utilizando el modelo de Weibull. *Acta Agronómica*, 59 (3), 347-355.
- Marques, L.G., Pradoa, M.M. & Freirec, J.T. (2009). Rehydration characteristics of freeze-dried tropical fruits. *LWT - Food Science and Technology*, 42, 1232-1237.
- Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (2009). *Anuario Estadístico de Frutas y Hortalizas 2004 – 2008 y sus Calendarios de Siembras y Cosechas* [online]. Dirección de Política sectorial: Grupo Sistemas de Información. ISBN No. 978-958-8536-11-8.
- Perea D., M., Matallana R., L.P. & Tirado P., A. (2010). Myrtaceae. En *Biotecnología aplicada al mejoramiento de los cultivos de frutas tropicales* (p. 304). Bogotá D.C., Colombia: Editorial Universidad Nacional de Colombia.

Sanusi, R.A. & debiyi, A.E. (2009). Beta carotene content of commonly consumed foods and soups in Nigeria. *Pakistan journal of nutrition*, 8(9), 1512-1516.

Wang, S.Y. & Camp, M.J. (2000). Temperatures after bloom affect plant growth and fruit quality of strawberry. *Scientia Horticulturae*, 85, 183-199.

Weston, R.J. (2010). Bioactiveproducts from fruit of the feijoa (*Feijoa sellowiana*, Myrtaceae): A review. *Food Chemistry*, 121(4), 923-926.

Tabla 1. Identificación de muestras de acuerdo a su estado de madurez

Muestra	Id.
Feijoa con 25 semanas luego de la antesis (Verde)	S25
Feijoa con 28 semanas luego de la antesis (Maduro 1)	S28
Feijoa con 29 semanas luego de la antesis (Maduro 2)	S29
Guayaba agria Verde.	V
Guayaba agria Madura	M

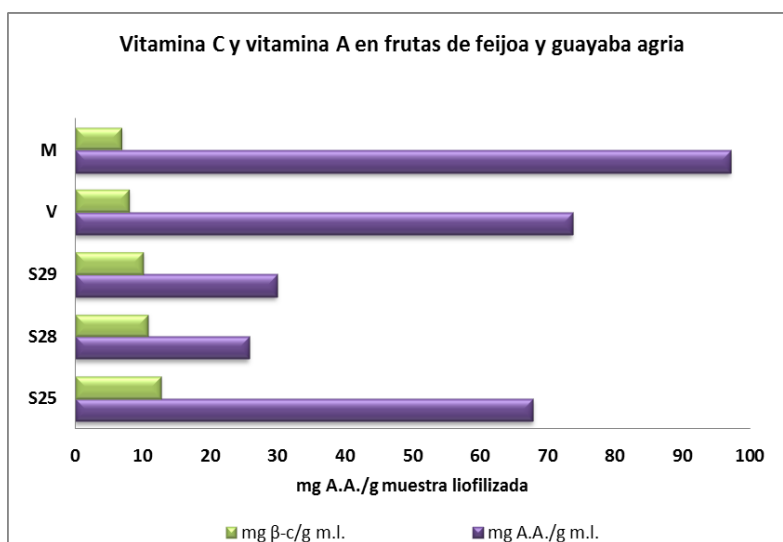
Tabla 2. Rendimiento en peso para el proceso de liofilización de muestras de feijoa y guayaba agria.

RENDIMIENTO PROCESO DE LIOFILIZACIÓN – FEJJOA Y GUAYABA AGRIA				
Muestra		Peso Fresco (g)	Peso Liofilizado (g)	Rendimiento del Proceso (%)
S-25	Cáscara	130,89	24,76	18,92
	Pulpa	545,93	61,36	11,24
	Fruto entero (Vitaminas)	589,56	67,18	11,40
	Cáscara	105,58	20,18	19,11
	Pulpa	433,90	53,00	12,21
	Fruto entero (Vitaminas)	793,58	103,61	13,06
S-29	Fruto entero (Vitaminas)	495,71	71,86	14,50
V	Pulpa	563,39	69,31	12,30
	Cáscara	185,80	29,23	15,73
	Semilla	46,96	22,26	47,40
	Fruto entero (Vitaminas)	502,59	90,50	18,01
M	Pulpa	549,64	79,66	14,49
	Cáscara	192,04	38,77	20,19
	Semilla	36,84	20,07	54,48
	Fruto entero (Vitaminas)	792,64	121,82	15,37

Tabla 3. Vitamina C y Vitamina A en los frutos de feijoa y guayaba agria.

Vitamina C y A – Feijoa y Guayaba agria		
Muestra	mg A.A./g ML	mg β -c/g ML
S25	67,82 ^a ± 1,42	12,65 ^{ac} ± 0,27
S28	25,73 ^a ± 2,06	10,76 ^{ac} ± 0,46
S29	29,91 ^a ± 0,25	10,09 ^{ac} ± 0,05
V	73,72 ^a ± 3,80	8,01 ^{bc} ± 0,67
M	97,11 ^a ± 1,03	6,94 ^{bc} ± 0,22

Figura 1. Correlación entre el contenido de vitamina c y vitamina a en los frutos de feijoa y guayaba agria.



EFFECTO DE LAS ALTAS PRESIONES HIDROSTÁTICAS (APH) EN LA INACTIVACIÓN DE *ESCHERICHIA COLI* K12 Y PECNINMETILESTERESA (PME) EN ZUMO DE NARANJA

Torres, E.F.¹, González, G.², Klotz, B.², Pina-Pérez, M.C.¹ & Martínez, A.¹

¹ Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA-CSIC) Avenida Agustín Escardino, 7 Parque Científico 46980 Paterna, Valencia, España.

² Instituto Alpina de Investigación, Edificio Corporativo Alpina Productos Alimenticios S.A, Km 3 vía Briceño-Sopó -(Cundinamarca), Colombia

INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha presentado un incremento en la demanda de alimentos con características similares a los productos frescos, debido a esta tendencia en el mercado mundial se está impulsando el desarrollo de nuevas tecnologías no térmicas de conservación. Dentro de estas tecnologías se encuentran las Altas presiones Hidrostáticas (APH), que han presentado resultados satisfactorios en cuanto a la inactivación de microorganismos y enzimas, manteniendo los parámetros de calidad (sabor, vitaminas, aroma, color) de alimentos frescos, incrementando la vida útil del producto en refrigeración. Actualmente estas tecnologías se utilizan como alternativas al tratamiento térmico tradicional, para la estabilización de zumos de frutas comercializados en refrigeración. Estudios anteriores realizados en zumos cítricos (Polydera et al., 2004., Bayindirli et al., 2006) han demostrado que el tratamiento por APH no afecta en gran medida las características sensoriales

En el mercado se presentan diversos equipos de Altas presiones hidrostáticas (APH), los cuales son capaces de generar presiones que van desde los 100 a 1000MPa, utilizando habitualmente agua como fluido presurizante. La presión se aplica de forma homogénea sobre el alimento y se puede combinar con temperaturas que van entre los 20 a 60°C logrando inactivar con mayor eficacia microorganismos patógenos, alteradores y enzimas que deterioran la calidad de los productos, con los tratamientos por APH se extiende la vida útil y se mantienen las propiedades originales de los productos (Mertens & Konorr., 1999).

Entre 1995 y 2005 se documentaron en EEUU un total cinco brotes de *E. coli* O157:H7 directamente asociados con el consumo de productos mínimamente procesados (Vojdani et al., 2008). El objetivo del presente trabajo fue estudiar las cinéticas inactivación de *E.coli* O157:H7 utilizando la cepa subrogada *E.coli* K12 y la enzima PME en zumo de naranja comercial y procedente de naranjas tipo Valencia Late ya que esta variedad se utiliza en producción industrial, el zumo de naranja fue tratado por APH utilizando presiones entre los 100-500MPa en combinación con temperaturas moderadas de 25-50°C.

MATERIALES Y MÉTODOS

Zumo de naranja

Se utilizó una bebida de zumo de naranja natural comercial pasteurizado, refrigerado a 4°C sin pulpa para las cinéticas de inactivación de *E.coli* K12 y zumo fresco exprimido para el análisis de la actividad enzimática de PME, los dos zumos se filtraron con un tamiz tamaño de luz de 0,300 mm en condiciones de esterilidad y se conservaron a 4°C hasta el posterior tratamiento. El pH del zumo de naranja utilizado para el estudio fue de 4, este se midió mediante un pH-metro modelo GLP-21(Crison, España).

Preparación de los cultivos

Se partió de un criovial de la cepa de *E.coli* K12 (ATCC 23716) cepa subrogada de *E.coli* O157:H7, esta cepa cuenta con resistencia a pH bajos, se partió de una concentración inicial de 1×10^8 ufc/mL. Se le realizaron diluciones seriadas y posteriormente se inoculó en 500 mL de caldo Tryptic Soy Broth (TSB) (Scharlab Chemie S. A., Barcelona, España). Una vez inoculado el caldo se incubó a 37°C en agitación a 70 r.p.m. durante ocho horas, para obtener células en fase estacionaria y se realizó una centrifugación. Una vez finalizada la etapa de centrifugación, se adicionó caldo TSB, se tomó 1 mL del resuspendido y se depositó en crioviales con 1 mL de glicerol al 20 % en TSB. Al finalizar este proceso, se obtuvieron crioviales a una concentración de $1,12 \times 10^8$ ufc/mL, estos se almacenaron a -80°C hasta el tratamiento.

Tratamiento APH

Para cada tiempo y presión se utilizaron tres muestras independientes situadas en las bolsas de polietileno metalizadas y termo-selladas (MULTIVAC, Thermosealer) después de esto se depositaron en la unidad de APH. El tratamiento se realizó utilizando un equipo de altas presiones con capacidad de 2.35L (EPSI NV, Bélgica) y como agente presurizante una mezcla de agua con etilenglicol, la temperatura se controló utilizando una camisa de refrigeración, conectada a un criostato para mantener la temperatura constante durante el experimento la temperatura tratamiento para el ensayo microbiológico fue de 25°C (T° final 33°C) y para la inactivación enzimática fue de 30,40, 50°C (T° final 45, 54, 65°C) respectivamente.

Análisis microbiológico

Tras el tratamiento con APH, se tomaron las muestras del zumo de naranja, y se realizaron diluciones seriadas en agua de peptona estéril tamponada al 0,1 % (Scharlab

Chemie S.A., Barcelona, España), estas diluciones se sembraron en profundidad en placa utilizando Tryptocase Soy Agar (TSA) (Scharlab Chemie S.A., Barcelona, España) incubado durante 24 ± 3 h a $37 \text{ }^\circ\text{C}$, se utilizó como medio para la detección del crecimiento de células viables de *E. coli* K12. Una vez terminada la incubación se llevó a cabo un recuento de forma manual en cada una de las muestras.

Medida de la actividad PME

La actividad de la PME se determinó mediante la medida del ácido liberado por unidad de tiempo a un pH de 7.0 y $22 \text{ }^\circ\text{C}$ (Peeters et al.,2004). La reacción consiste en adicionar 5 ml de zumo y 30 ml de sustrato pectina al 0,35%de NaCl. La medida de la actividad enzimática se realiza mediante un valorador automático manteniendo constante el pH óptimo de la reacción (pH 7) mediante la adición de NaOH 0.07 N. Teniendo en cuenta que la actividad de la PME es proporcional al consumo de NaOH, la actividad enzimática se calcula a partir de la siguiente ecuación 1.

$$PME \frac{U}{mL} = \frac{V.N.1000}{V_s.tr} \quad \text{Ecuación 1.}$$

donde V es el volumen de NaOH usado durante el proceso; N es la normalidad de NaOH (0.07 N); V_s es el volumen de la muestra problema y tr es el tiempo de reacción.

Modelo de Bigelow

$$\text{Log} (S) = -\frac{t}{D} \quad \text{Ecuación 2.}$$

donde S es la fracción de supervivientes calculada después de un tratamiento específico; D parámetro cinético, es el tiempo requerido para reducir para lograr una reducción decimal, t es el tiempo de tratamiento dado en minutos. El valor de D o tiempo de reducción decimal se calcula a partir de la pendiente de la recta, este modelo fue desarrollado por Bigelow, 1920.

Modelo de Weibull

$$\log \frac{N}{N_0} = -bt^n \quad \text{Ecuación 3.}$$

Donde N/N_0 es la fracción de supervivientes, b es el parámetro de escala expresado en mega pascales (MPa), t es el tiempo de tratamiento expresado en minutos y n es el parámetro de forma. Si $n < 1$ la curva las curvas de supervivencia presentan colas, si $n > 1$ curvas de supervivencia presentan hombros y si $n = 1$ la grafica es una línea recta y puede ser ajustada a modelos lineales.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Inactivación de *E.coli* K12 por Altas presiones hidrostáticas.

La Figura 1 muestra el efecto del tratamiento de APH sobre la cepa subrogada *E.coli* k12 (ATCC 23716) en bebida de zumo de naranja comercial refrigerado con un pH=4, la inactivación por APH se debe principalmente según lo reportado por Smelt et al., 1998 al efecto de la presión sobre las funciones de membrana celular. En cuanto al tratamiento por APH un incremento en el tiempo y la presión inicial produjo una reducción microbiana significativa ($p<0,05$), alcanzado niveles $2,21\pm 0,25$; $3,54\pm 0,01$; $3,96\pm 0,22$ ciclos logarítmicos a presiones de 100, 200, 300MPa respectivamente a un tiempo común de 7 minutos, la mayor reducción alcanzada en el presente estudio fue de $6,15\pm 0,25$ unidades logarítmicas y se produjo al utilizar una combinación de 7 minutos - 400MPa, 25°C inicial (temperatura final 33°C). Con los resultados anteriores los tratamientos de ($5,34\pm 0,33$ para 300MPa por 15 min y $5,20\pm 0,35$ a 400MPa por 4 min) se cumple con lo requerido por la FDA (U.S. Food and Drug Administration) en su norma HACCP (21 CFR 120.24) donde se recomienda que para el tratamiento de zumo de naranja se obtenga una reducción de 5 ciclos logarítmicos para patógenos de interés.

Modelización Matemática

En la tabla 1 se puede observar los parámetros cinéticos y los valores de factor de sesgo (B_f), y exactitud (A_f) para los dos modelos propuestos para el ajuste de los datos experimentales. Los resultados indican que los modelos de Bigelow y Weibull fueron capaces de interpretar los datos experimentales, aunque los dos modelos presentaron valores de A_f y B_f cercanos a 1, el modelo de Weibull presentó un mejor ajuste de los datos predichos frente a los valores experimentales. Las ecuaciones de Bigelow (D min) y Weibull (parámetro b) tienen parámetros que disminuyen e incrementan significativamente a medida que se intensificó el tratamiento por APH, por tanto estos parámetros se pueden considerar como un indicador de muerte e inactivación microbiana para *E.coli* k12 en la bebida de zumo de naranja.

Inactivación de PME por APH.

En las cinéticas de inactivación para la enzima PME con el tratamiento de 250MPa, se pudo observar que un incremento de la temperatura de 30, 40, 50°C generó una disminución significativa de actividad enzimática ($P<0.05$) el tratamiento de 250MPa por 30 minutos generó una reducción menor al $12,84\pm 8.34\%$ a 30 y 40°C, estos resultados obtenidos concuerdan con lo observado por (Polydera et al., 2004; Alpas et al., 2000; Sampedro et al.,

2008) en diversas bebidas compuestas por zumo de naranja o mezcla zumo de naranja y leche. Sin embargo al incrementar la temperatura a 50°C y manteniendo las características de presión y tiempo iniciales, se generó una disminución enzimática del $72.62 \pm 0.93\%$, por tanto se puede apreciar un efecto sinérgico entre el incremento de la temperatura y la presión. Este efecto sinérgico entre temperatura y presión de tratamiento, ha sido estudiado anteriormente por Cano et al., 1997 donde se trabajó con presiones de 50 a 400MPa combinadas con temperaturas comprendidas entre los 20 a 60°C, llegando a la conclusión que al utilizar presiones relativamente bajas era necesario aplicar temperaturas moderadas para inactivar la PME en zumo de naranja fresco exprimido.

Para el tratamiento de 400MPa se obtuvo una disminución generalizada de la PME a las temperaturas de 30, 40 y 50°C con un tiempo común de 15 minutos, la reducción obtenida fue de $75,97 \pm 0,05$; $74,66 \pm 0,05$ y $89,03 \pm 0,02\%$ respectivamente. No se observaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los tratamientos a temperaturas de 30 y 40°C, sin embargo al incrementar la temperatura a 50°C se presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos. En la figura 2 se puede observar el tratamiento de 500MPa para la inactivación de la PME bajo las diferentes temperaturas de trabajo, se evidencia que la inactivación de la PME aumenta ligeramente al incrementar el valor de temperatura, el tratamiento de 500MPa por 15 minutos a 50°C generó la máxima inactivación enzimática un $90.05 \pm 0.01\%$ esto con respecto al control no tratado. Estos resultados concuerdan con estudios anteriores para el tratamiento de la PME con tecnologías térmicas y no térmicas de conservación (Sampedro et al., 2008; Bayindirli et al., 2006)

Modelización Matemática

La tabla 2 muestra los diferentes parámetros calculados de cada uno de los modelos, en el caso de Bigelow el valor de D y para Weibull el parámetro b presentan una disminución significativa a medida que se incrementa la presión y la temperatura, por tanto estos se consideraron como un indicador de inactivación de la PME en zumo de naranja fresco. En cuanto a los valores de (A_f) y (B_f) , los resultados obtenidos indican que tanto el modelo de Bigelow como el de Weibull, presentan un buen ajuste de los datos obtenidos experimentalmente, ya que los valores de A_f van de 1,04 a 1,16 y de 1 a 1,08 para el modelo de Bigelow y Weibull respectivamente, observando los resultados anteriores el A_f y B_f se encuentran cercanos a 1, por tanto las predicciones estimadas son seguras. En cuanto al valor de D del modelo de Bigelow, este disminuyó a medida que se incrementó la intensidad del tratamiento por APH, este parámetro nos indicó el tiempo requerido para lograr una

reducción decimal.

CONCLUSIONES

En cuanto al tratamiento de la bebida de jugo de naranja por Altas presiones hidrostáticas se pudo comprobar que esta es una tecnología efectiva para la conservación y extensión de la vida útil de productos alimenticios. Cabe destacar que los valores de pH bajos tienen un efecto sinérgico positivo en cuanto a la reducción de la población residual de *E.coli* k12. Por tanto la utilización de un tratamiento de 400 MPa, 7 minutos, 25°C iniciales genera una reducción de $6,15 \pm 0,25$ ciclos logarítmicos, al utilizar las anteriores características se cumpliría con lo requerido por la FDA, ya que se superan los 5 ciclos logarítmicos de *E.coli* k12. Se produjo una disminución de la PME en un $90,05 \pm 0,01\%$ frente a control no tratado con un tratamiento de (500Mpa- 5min- 50°C). Sin embargo mayores tiempos no produjeron aumento en la inactivación enzimática, a partir de los 5 minutos de tratamiento se presentaron colas en las cinéticas de inactivación. En cuanto a la modelización matemática, el modelo de Weibull fue capaz de interpretar y predecir correctamente los valores obtenidos experimentalmente después del tratamiento por APH, tanto para *E.coli* k12 como para la PME

AGRADECIMIENTO

Este trabajo fue financiado por el Instituto Alpina de Colombia, con la finalidad de apoyar la Investigación, Desarrollo e innovación.

BIBLIOGRAFÍA

- Alpas, H ., Kalchayanand, N ., Bozoglu, F ., Ray, B. 2000. Interactions of high hydrostatic pressure, pressurization temperature and pH on death and injury of pressure-resistant and pressure-sensitive strains of foodborne pathogens. International journal of food microbiology, 60(1), 33-42.
- Bayindirli, A ., Alpas, H ., Bozoglu, F ., Hizal, M. 2006. Efficiency of high pressure treatment on inactivation of pathogenic microorganisms and enzymes in apple, orange, apricot and sour cherry juices. Food Control, 17 (1), 52-58.
- Bigelow, W.D., Esty, J.R. 1920. The thermal death point in relation to typical thermophilic organisms. Journal of Infectious Diseases, 27, 602.
- Cano, M. P., Hernandez, A., De Ancos, B. (1997). High pressure and temperature effects on enzyme inactivation in strawberry and orange products. Journal of Food Science, 62(1), 85-88.

Food and Drug Administration. (FDA). 2000. Kinetics of microbial inactivation for alternative food processing technologies (<http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/SafePracticesforFoodProcesses/ucm100158.htm> [Octubre de 2013])

Mertens., B, Konorr, D. 1999. Developments of nonthermal processes for food preservation. *Food technolog*, 46,124-133.

Peeters, L., Fachin, D., Smout, C., Loey, A. & Hendrickx, M. E. 2004. Influence of B-Subunit on thermal and high-pressure process stability of tomato polygalacturonase. *Biotechnology and Bioengineering*, 86, 543-549.

Polydera, A.C., Galanou, E., Stoforos, N.G., Taoukis, P.S. 2004. Inactivation kinetics of pectin methylesterase of greek Navel orange juice as a function of high hydrostatic pressure and temperature process conditions. *Journal of Food Engineering*, 62, 291-298.

Sampedro, F., Rodrigo, D., Hendrickx., M. 2008. Inactivation kinetics of pectin methyl esterase under combined thermal–high pressure treatment in an orange juice–milk beverage. *Journal of Food Engineering*, 86, 133-139.

Smelt, J.P.P.M. 1998. Recent advances in the microbiology of high pressure processing. *Trends in Food Science and Technology*, 9, 152-158.

Vojdani, J. D.; Beuchat, L. R.; Tauxe, R. V. Juice-associated outbreaks of human illness in the United States, 1995 through 2005. 2008. *Journal of Food Protection*, 71(2), 356-64.

FIGURAS

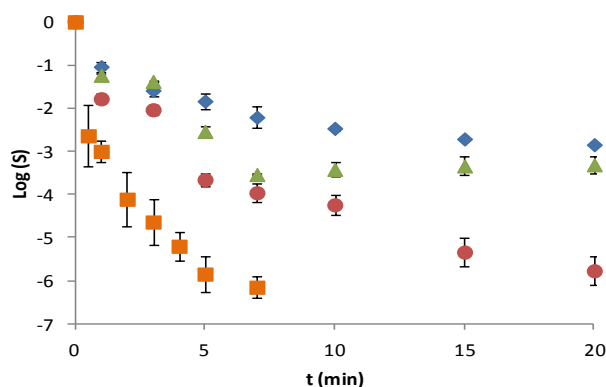


Figura 1. Cinéticas de inactivación de *E.coli* k12 en bebida de zumo de naranja, pH 4. (♦) 100MPa, (▲) 200MPa, (●) 300MPa (■) 400MPa y temperatura inicial 25°C.

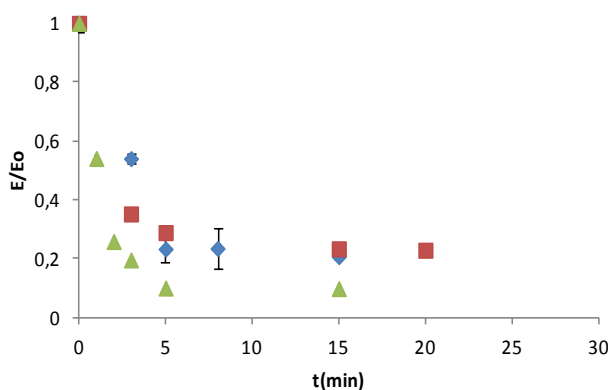


Figura 2. Cinéticas de inactivación de PME en zumo de naranja exprimido, pH 4, 500MPa y temperaturas (◆) 30°C, (■) 40°C, (▲) 50°C

TABLAS

Tabla 1. Parámetros cinéticos modelos de Bigelow y Weibull para la inactivación de *E.coli* k12 en zumo de naranja.

Presión (MPa)	Modelo Bigelow			Modelo Weibull			
	D (min)	A _f	B _f	b	n	A _f	B _f
100	5,29±0,80	1,10	0,93	1,12±0,05	0,32±0,02	1,01	1,00
200	4,18±0,74	1,10	0,93	1,45±0,33	0,32±0,09	1,02	1,01
300	2,77±0,34	1,08	0,94	1,65±0,18	0,43±0,04	1,01	1,00
400	0,87±0,11	1,08	0,94	3,21±0,09	0,35±0,02	1,00	1,00

Tabla 2. Parámetros cinéticos, A_f, B_f para los modelos de Bigelow y Weibull para la inactivación de PME en zumo de naranja.

Presión (MPa)	T°C	Modelo Bigelow			Modelo Weibull			
		D (min)	A _f	B _f	b	n	A _f	B _f
250	30	790,73±188,09	1,16	0,90	0,014±0,001	0,24±0,023	1,01	1,00
	40	318,22±18,83	1,14	0,88	0,014±0,006	0,75±0,019	1,00	1,00
	50	57,58±5,13	1,05	1,03	0,015±0,014	1,05±0,276	1,04	1,03
400	30	36,23±6,58	1,10	0,93	0,14±0,059	0,48±0,140	1,07	1,04
	40	23,53±3,09	1,06	0,99	0,16±0,039	0,84±0,249	1,08	1,37
	50	13,64±1,64	1,04	0,97	0,15±0,044	0,70±0,129	1,03	1,00
500	30	16,82±3,396	1,09	0,95	0,27±0,111	0,37±0,186	1,04	1,01
	40	25,08±6,146	1,15	0,91	0,39±0,023	0,17±0,023	1,01	1,00
	50	11,20±3,096	1,15	0,90	0,46±0,094	0,32±0,102	1,02	0,99

INACTIVACIÓN DE *Rhodotorula glutinis* Y *Penicillium aurantiogriseum* POR ALTAS PRESIONES HIDROSTÁTICAS (APH) EN QUESO FRESCO

Torres, E.F.¹, González, G.², Klotz, B.² & Martínez, A.¹

¹ Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA-CSIC) Avenida Agustín Escardino, 7 Parque Científico 46980 Paterna, Valencia, España.

² Instituto Alpina de Investigación, Edificio Corporativo Alpina Productos Alimenticios S.A, Km 3 vía Briceño-Sopó -(Cundinamarca), Colombia

INTRODUCCIÓN

Actualmente los consumidores requieren una mayor calidad y seguridad en los alimentos que adquieren. Para satisfacer estas demandas la industria agroalimentaria ha mejorado sus procesos de conservación por calor, tales como los tratamientos continuos HTST, UHT y el envasado aséptico. A pesar de estas mejoras los productos alimenticios siguen presentando pérdidas en su calidad final. Debido a la elevada demanda por parte de los consumidores en los últimos años de productos mínimamente procesados, que conserven en gran medida las características de seguridad, nutricionales y de sabor, todo esto con una larga vida útil de almacenamiento (Chevalier et al., 2001), se hace necesario aplicar nuevas tecnologías que logren obtener productos de alta calidad que cumplan con las necesidades del mercado actual.

Aunque existen bastantes estudios en relación al efecto de las Altas Presiones Hidrostáticas (APH) sobre bacterias, la información referente a mohos y levaduras es relativamente escasa. Estos microorganismos frecuentemente alteran cereales, vegetales mínimamente procesados, derivados lácteos como: mantequilla, yogur, queso fresco, entre otros (Evert-Arriagada et al., 2012; Rosaria-Corbo et al., 2001)

El queso fresco al ser un alimento de consumo masivo y que cuenta con propiedades fisicoquímicas especiales como un pH cercano a la neutralidad, una actividad de agua (a_w) elevada 0,97, por tanto resulta de gran interés para ser estudiado aplicando las Altas presiones Hidrostáticas. El propósito del presente trabajo fue estudiar las cinéticas de inactivación de *Rhodotorula glutinis* y las esporas de *Penicillium aurantiogriseum* alteradores la vida útil del queso fresco tras los tratamientos de Altas Presiones Hidrostáticas (APH), estos microorganismos fueron inoculados en el queso fresco. De igual forma se evalúa el efecto de las APH sobre las propiedades físicas (a_w , densidad aparente, humedad relativa) del queso fresco.

MATERIALES Y MÉTODOS

Queso fresco

El queso fresco procedía de leche pasteurizada de vaca, este se compró directamente del comercio local de Valencia, teniendo en cuenta parámetros como: concentración de cloruro de sodio máxima 0.5%, temperatura de almacenamiento entre $4-6^{\circ}\text{C}\pm 2$, según los datos aportados por el establecimiento. Inmediatamente compradas las muestras se almacenaron a una temperatura de $4^{\circ}\text{C}\pm 2$ para su posterior inoculación y tratamiento por APH.

Cultivos microbianos

Las cepas de microorganismos *P. aurantiogriseum*, *R. glutinis* utilizados para realizar este estudio, se obtuvieron a partir de aislamientos ambientales industriales aportadas por el Departamento de ciencias de los alimentos, Grupo de fisiología y biotecnología de postcosecha del Instituto de Agroquímica y tecnología de alimentos (IATA). Estas cepas se utilizaron ya que presentaban características propias del proceso productivo industrial. La levadura *R. glutinis* se cultivó en superficie en medio sólido Potato Dextrose Agar (PDA, Scharlab Chemie S. A., Barcelona, España) por 3 días a 25°C , las colonias se recuperaron en agua peptonada al 0.1%. En cuanto a las esporas de *P. aurantiogriseum*, estas se obtuvieron después de incubar por 5 días a 25°C en medio sólido Potato Dextrose Agar (PDA, Scharlab Chemie S. A., Barcelona, España). Las esporas se recuperaron en agua desionizada estéril, y la suspensión obtenida fue filtrada utilizando papel de filtro con tamaño de poro de $25\mu\text{m}$. Concentración final de 1×10^6 ufc/ml.

Tratamiento APH

El Queso fresco con un tamaño de 30g, se inoculó superficialmente con las cepas de *R. glutinis* y las esporas de *P. aurantiogriseum*, las muestras inoculadas se depositaron en bolsas de polietileno metalizadas y se termo-selló utilizando MULTIVAC, Thermosealer. Cada tratamiento de APH se realizó por triplicado, las muestras envasadas se depositaron en la vasija de unidad de APH, se utilizó una mezcla de agua con etilenglicol como agente presurizante, la temperatura se mantuvo utilizando una camisa de refrigeración conectada a un criostato, esto para mantener la temperatura estable durante la experimentación, la temperatura inicial fue 20°C (T° final 32°C).

Análisis Microbiológico

Las muestras de queso fresco se homogenizaron utilizando un homogenizador electrónico tipo stomacher por 1 minuto (IUL S.A, Barcelona, España) y tras el tratamiento

se realizaron diluciones seriadas en agua peptonada estéril al 0.1% (Scharlab Chemie S. A., Barcelona, España), estas se sembraron en profundidad y por triplicado en agar potato dextrosa con adición de Cloranfenicol (Scharlab Chemie S. A., Barcelona, España). Se incubó por 3 y 5 días a 25°C para *R. glutinis* y de *P. aurantiogriseum* respectivamente.

Actividad de agua (aw) queso fresco

La medida se realizó utilizando equipo Benchtop Water Activity Meter (AquaLab, Modelo 4TE, Pullman, USA) con control de temperatura integrado 15-50 °C y precisión de ±0,003. Las mediciones se realizaron por triplicado a muestras no tratadas y tratadas por APH.

Densidad aparente queso fresco

La densidad se determinó según Mohsenin, 1980 utilizando picnómetro de 50mL y siguiendo la ecuación 1, el queso fresco tratado y sin tratar por APH se cortó en cubos de 2x2 cm, cada muestra se pesó en un picnómetro. Para determinar la densidad aparente, se utilizó como liquido referencia agua destilada. Los valores de densidad aparente se expresaron en Kg/m³. Las mediciones se realizaron por triplicado a muestras no tratadas y tratadas por APH.

$$\rho_a = \frac{P_f}{P_L + P_f - P_{f+L}} * \rho_L \quad \text{Ecuación 1}$$

Donde ρ_L = Densidad del líquido de referencia (kg/m³), P_L : Peso del picnómetro enrasado con liquido de referencia (g), P_f : Peso del trozo de queso (g), P_{f+L} : peso del picnómetro enrasado con liquido de referencia + trozo de queso (g)

Humedad queso fresco

Se determinó con pérdida de peso por evaporación de agua, utilizando estufa de vacío bajo el método AOAC 926.08. Se realizó secado a 70°C±2 de 6 a 8 horas. Las mediciones se realizaron por triplicado a muestras no tratadas y tratadas por APH.

Modelo de Weibull

$$\log \frac{N}{N_0} = -bt^n \quad \text{Ecuación 2}$$

Donde N/N_0 es la fracción de supervivientes, t es el tiempo de tratamiento expresado en minutos, b es el parámetro de escala expresado en mega pascales (MPa) y n es el parámetro de forma. Si $n < 1$ la curva las curvas de supervivencia presentan colas, si $n > 1$ curvas de supervivencia presentan hombros y si $n = 1$ la grafica es una línea recta.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto APH sobre *Rhodotorula glutinis* en matriz queso fresco.

Los parámetros de proceso, Presión (P, MPa) y el tiempo de tratamiento (t, min) afectaron significativamente ($p < 0,05$) los niveles de inactivación alcanzados. A medida que se aumentó la presión de tratamiento, de igual forma aumentó la inactivación, obteniendo una reducción máxima de $4.29 \pm 0,11$ ciclos logarítmicos a una presión de 350 MPa por 5 minutos, con una temperatura inicial de tratamiento de 20°C (T° final 32°C) y un pH 5,35 como se puede observar en la figura 1. Asimismo, se evidenció que al incrementar los niveles de presión, se presentaron caídas rápidas a tiempos cortos (1 ciclo \log_{10} (200 MPa - 5 min); $4.29 \pm 0,11$ ciclos \log_{10} (350 MPa - 5 min)), dando lugar a la aparición de colas a tiempos largos en el tratamiento de 200MPa. Este fenómeno en las cinéticas de inactivación microbiana ha sido ampliamente descrito por diversos autores, tanto en tecnologías térmicas y no térmicas de conservación (Chen & Hoover, 2004; Torres et al., 2008)

Modelización matemática

El modelo de Weibull fue seleccionado de acuerdo a estudios anteriores (Pina-Pérez et al., 2012), este modelo fue adecuado para la descripción del comportamiento microbiano bajo el efecto de las APH en cinéticas que presentan colas (presente estudio). El parámetro b del modelo de Weibull presentó valores de 0,47 y 1,52 para las presiones de 200 y 350MPa respectivamente, este parámetro aumentó a medida que se incrementó la presión de tratamiento. Niveles mayores de b , indicaron una mayor rapidez en la inactivación celular, y por tanto una mayor sensibilidad de las células bajo condiciones elevadas de tratamiento. El parámetro de forma, n , resultó en todos los casos < 1 , indicando la concavidad en las curvas de supervivencia obtenidas.

Efecto APH sobre *Penicillium aurantiogriseum*

Estudios previos en relación a la resistencia de esporas de *Penicillium spp.* tratadas por APH han sido publicadas por otros autores (Akdemir Evrendilek et al., 2008; Voigt et al., 2010), alcanzando niveles máximos de inactivación de 3 a 6 ciclos \log_{10} bajo condiciones (300 MPa -5 min, 25°C, pH 4,9) (600 MPa-10 min, 20°C, pH 4,5) respectivamente, de acuerdo a lo reportado por O'Reilly et al., 2000 los tratamientos de 500MPa y tiempos de tratamiento relativamente elevados (20 minutos) generan una reducción de 6 ciclos \log_{10} de *P. roqueforti* en pasta de queso cheddar. En la figura 1 se evidencia que las esporas de *P. aurantiogriseum* inoculadas en el queso fresco presentaron una mayor resistencia a los tratamientos por APH, esto se comprobó al comparar los resultados obtenidos para *R.*

glutinis, donde un tratamiento de 350MPa por 5 minutos redujo en $4,29\pm 0,11$ ciclos logarítmicos la carga inicial inoculada. Sin embargo al tratar el queso fresco inoculado con las esporas de *P. aurantiogriseum* a una presión de 350 MPa por 3 y 5 minutos se obtuvo una reducción de $2,90\pm 0,05$; $3,11\pm 0,16$ ciclos \log_{10} respectivamente. Al incrementar la presión del tratamiento a 400MPa por 3 minutos, el recuento de las esporas de *P. aurantiogriseum* se redujo drásticamente, logrando niveles de inactivación de $5,9\pm 0,12$ unidades logarítmicas, no obstante un aumento en el tiempo de tratamiento no generó diferencias significativas en la inactivación microbiana, llegando hasta un máximo de $6\pm 0,22$ unidades logarítmicas tras una presurización de 400 MPa por 5 minutos, por tanto tratamientos de APH a tiempos elevados generaron cinéticas de inactivación microbiana con formación de colas.

Modelización

Al igual que en el tratamiento anterior por APH para *R. glutinis*, los datos experimentales obtenidos para *P. aurantiogriseum* presentaron un buen ajuste al modelo de Weibull, este fue capaz de ajustar curvas cóncavas con colas por tanto este modelo proporcionó el mejor ajuste a los datos experimentales obtenidos. El parámetro *b* del modelo de Weibull, mostró un aumento a medida que se incrementaba la presión de tratamiento de 350 a 400MPa con un valor *b* de 1,51 y 5,02 respectivamente. Por lo tanto, este parámetro se consideró como un parámetro cinético para la inactivación de las esporas *P. aurantiogriseum* por APH. Igualmente se observó que al incrementar la presión, el parámetro *b* aumentaba de forma paulatina, indicando por tanto una mayor velocidad de inactivación en las esporas. En cuanto a los valores de *n* se observó que en todos los casos los valores fueron < 1 , indicando por tanto la concavidad de las curvas, igualmente se presentaron colas en las cinéticas de inactivación a tiempos elevados de tratamiento. La formación de estas colas evidencia la existencia de una población de supervivientes más resistentes a los tratamientos por APH, concordando con los resultados obtenidos por (Peleg 2000)

Análisis actividad de agua (aw)

La medida de *aw* se realizó para las presiones que presentaron las mayores reducciones microbiológicas 350 y 400MPa con los diferentes tiempos de tratamiento, se obtuvo valores entre $0,972\pm 0,0006$ y $0,965\pm 0,0013$ para los mayores tiempos de tratamiento 350MPa-3min y 400MPa-5min al analizar estos resultados observó que no existían diferencias significativas ($P>0.05$) entre las muestras tratadas y las no tratadas. Estos resultados concuerdan con los reportados por Evert-Arriagada et al., 2012 donde se

demuestra que tratamientos de 300 a 400MPa por 5 minutos no alteran significativamente los valores de a_w de las muestras evaluadas.

Densidad aparente queso fresco

Los resultados obtenidos para la densidad aparente de cada una de las muestras no tratadas y tratadas por APH de queso fresco se presentan en la tabla 2 en esta se observa que los tratamientos a 350 y 400MPa a tiempos cortos, no afectaron de forma significativa la densidad aparente, obteniendo valores entre 1052 a 1071 Kg/m³.

Humedad queso fresco tratado

Las diferentes combinaciones de presión y tiempo aplicadas a las muestras de queso fresco envasado, no afectaron la humedad del producto ((control no tratado 43,95±0,96); (44,88±0,18 a 350MPa- 3min) (42,49±2,32400MPa- 3min)) estos resultados se obtuvieron para los diferentes tiempos de tratamiento, por tanto al analizar los datos no se presentaron diferencias significativas ($p>0.05$) entre las muestras de control no tratado y el queso tratado por APH. Esto se debe posiblemente a la combinación de tiempos cortos y presiones elevadas que no alteraron en gran medida la matriz alimentaria Según lo reportado por Okpala et al., 2010 se presentan cambios significativos en los valores de humedad a presiones bajas y tiempos elevados, estos tratamientos producen cambios conformacionales de las proteínas, afectando en gran medida la red proteica que retiene agua.

CONCLUSIONES

El presente estudio demostró que las APH combinadas con tiempos relativamente cortos son un método efectivo para la inactivación microbiana, obteniendo reducciones de 4.29±0,11 ciclos log₁₀ (350 MPa - 5 min) para *R. glutinis* y para a *P. aurantiogriseum* es necesario incrementar el tratamiento a 400MPa-3 minutos para obtener niveles de inactivación microbiana ≥ 5 ciclos log₁₀. En cuanto a los valores de a_w , densidad aparente y humedad no se vieron afectados por las APH a los diferentes tiempos de tratamiento. El modelo de Weibull fue capaz de predecir correctamente la inactivación microbiana para *R. glutinis* y *P. aurantiogriseum*, así mismo los parámetros b y n proporcionan información sobre el comportamiento del microorganismo, los parámetros de proceso (P, t) la influencia del sustrato y la sensibilidad o resistencia microbiana a las altas presiones hidrostáticas.

AGRADECIMIENTO

Este trabajo fue financiado por el Instituto Alpina de Investigación de Colombia, con la finalidad de apoyar la Investigación, Desarrollo e innovación.

BIBLIOGRAFÍA

- Akdemir Evrendilek, G.; Koca, N.; Harper, J. W.; Balasubramaniam V.M. 2008. High-Pressure Processing of Turkish White Cheese for Microbial Inactivation. *Journal of Food Protection*, 71(1):102-108.
- Chen, H.; Hoover, D. G. 2004. Use of Weibull model to describe and predict pressure inactivation of *Listeria monocytogenes* Scott A in whole milk. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 5: 269– 276.
- Chevalier, D.; Le Bail, A.; M. Ghoul. 2001. Effects of high pressure treatment (100–200 MPa) at low temperature on turbot (*Scophthalmus maximus*) muscle. *Food Research International*, 34: 425-429.
- Evert-Arriagada, K.; Hernández-Herrero, M.M.; Juan, B.; Guamis, B.; Trujillo A.J. 2012. Effect of high pressure on fresh cheese shelf-life. *Journal of Food Engineering*, 110: 248–253.
- Mohsenin, N.N., 1980. Structure, physical characteristics and mechanical properties of plant and animal materials. Gordon and Breach Sci Publ, NY
- Okpala, C.O.R.; Piggott, J. R.; Schaschke, C.J. 2010. Influence of high-pressure processing (HPP) on physico-chemical properties of fresh cheese. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 11: 61–67
- O'Reilly, C.E.; O'Connor, P.M.; Kelly, A.L.; Beresford, T.P.; Murphy, P.M. 2000. Use of hydrostatic pressure for inactivation of microbial contaminants in cheese. *Applied and Environmental Microbiology*, 66:4890-4896
- Peleg, M. 2000. Microbial survival curves-the reality of flat “shoulders” and absolute thermal death times. *Food Research International*, 33: 531–538.
- Pina-Pérez, C.; Silva-Angulo, A.B.; Rodrigo Aliaga, D.; Martínez-López, A. 2012. A preliminary exposure assessment model for *Bacillus cereus* cells in a milk based beverage: Evaluating High Pressure Processing and antimicrobial interventions. *Food Control*, 26: 610-613.
- Rosaria Corbo, M.; Lanciotti, R.; Albenzio, M.; Sinigaglia, M. 2001. Occurrence and characterization of yeasts isolated from milks and dairy products of Apulia region. *International Journal of Food Microbiology*, 69: 147–152.
- Torres, E.F.; Bayarri, S.; Sampedro, F.; Martinez, A.; and Carbonell, J.V. 2008. Improvement of the Fresh Taste Intensity of Processed Clementine Juice by Separate Pasteurization of its Serum and Pulp. *Food Science and Technology International*, 14(6): 525 - 529.
- Voigt, D. D.; Chevalier, F.; Qian, M. C.; K, A. L. 2010. Effect of high-pressure treatment on microbiology, proteolysis, lipolysis and levels of flavour compounds in mature blue-veined cheese. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 11: 68–77.

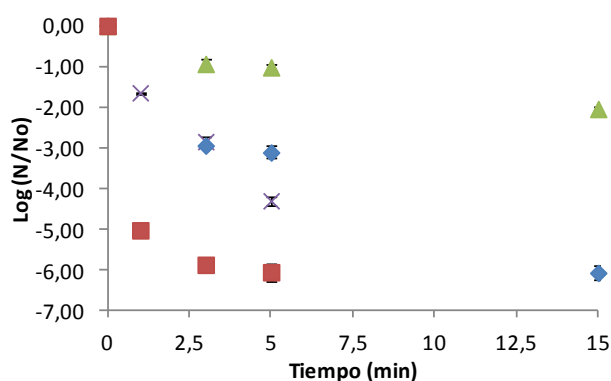
FIGURAS


Figura 1. Inactivación por APH de *R. glutinis* a (▲) 200, (X) 350 MPa y *P. aurantiogriseum* a (◆) 350, (■) 400 MPa en queso fresco pH: 5.35 y temperatura de tratamiento de 20°C.

TABLAS

Tabla 2. Datos experimentales de densidad aparente para queso fresco, muestras control y tratadas por APH a diferentes tiempo

Tiempo (minutos)	350MPa	400MPa
	Densidad (Kg/m ³)	
0	1063±1,36 ^a	1063±4,52 ^a
1	ND	1052±7,04 ^a
2	ND	1062±6,18 ^a
3	1058±2,74 ^{ab}	1059±5,78 ^a
4	1054±4,87 ^{ab}	ND
5	1071±6,57 ^{ac}	ND

Resultados de Densidad aparente expresados Kg/m³, Resultados con diferente letra en la misma columna presentan diferencias estadísticas, (p <0.05) según el test de Tukey. ND: No determinado

INACTIVACIÓN DE *Escherichia coli* O157:H7 y ascosporas de *Zygosaccharomyces rouxii* EN ZUMO DE NARANJA MEDIANTE PULSOS ELÉCTRICOS DE ALTA INTENSIDAD.

Torres E. F.¹, Boulosa, V.¹, González, G.², Klotz, B.² & Martínez, A.¹

¹ Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA-CSIC) Avenida Agustín Escardino, 7 Parque Científico 46980 Paterna, Valencia, España.

² Instituto Alpina de Investigación, Edificio Corporativo Alpina Productos Alimenticios S.A, Km 3 vía Briceño-Sopó -(Cundinamarca), Colombia

INTRODUCCIÓN

Actualmente los consumidores demandan zumo de naranja comercial que mantengan las características propias de un zumo de naranja recién exprimido, es por ello que a día de hoy se han desarrollando y aplicado nuevas tecnologías de conservación no térmicas que permiten conservar estas características del producto. Los Pulsos Eléctricos de Alta Intensidad (PEAI), son una de las tecnologías que ha demostrado ser eficiente preservando las características iniciales de los productos frescos, ya que permite reducir hasta niveles deseables la carga de microorganismos y la actividad enzimática (Walking-Ribeiro et al., 2009). Los equipos de PEAJ aplican una corriente eléctrica a través del producto con intensidades de campo entre 10 y 80 kV/cm durante tiempos de tratamiento relativamente cortos, entre 50 y 2000 μ s, utilizando temperaturas moderadas entre 20-50°C. La inactivación microbiana se genera debido al efecto que tiene la corriente eléctrica, ya que provoca un cambio de potencial en las membranas celulares de los microorganismos, formando de poros que dificultan la regulación osmótica de la células con su entorno, este daño en las membranas produce la muerte de los microorganismos (Barbosa-Canovas et al., 2001). El estudio de *E. coli* O157:H7 es de gran importancia debido a la resistencia a valores de pH bajos, este microorganismo ha sido aislado en brotes en EEUU entre 1995 y 2001 relacionados con los zumos de frutas (Vojdani et al., 2008), siendo además un patógeno resistente a tratamientos mediante PEAJ en medios ácidos (Somolinos et al., 2010). Por otro lado, *Zygosaccharomyces rouxii* causa contaminación de alimentos con crecimiento visible en superficie, fermentación, aromas no deseados, aparición de burbujas y deformación del empaquetado (Smith et al., 2004). El propósito de este estudio fue evaluar las cinéticas de inactivación por PEAJ a intensidades de campo de 25, 35 y 40 kV/cm y tiempos entre 30 a 500 μ s, en combinación con temperaturas moderadas 5, 25, 40°C, para el patógeno *E. coli* O157:H7 y el alterador *Z. rouxii* en zumo de naranja comercial sin pulpa, determinando los

tratamientos más efectivos de tiempo, temperatura e intensidad, para lograr la inactivación de estos microorganismos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Zumo de naranja

Se utilizó un zumo de naranja natural comercial pasteurizado en refrigeración sin pulpa. El zumo se filtró con un tamaño de luz de 0,300 mm en condiciones de esterilidad y se conservó a $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ hasta el tratamiento con PEAI. El pH del zumo utilizado en el estudio fue de 3,71, medido con un pH-metro GLP-21 (Crison, España). La conductividad del zumo fue de $0,105\pm 0,079$ S/m a 4°C , utilizando conductímetro GLP-31 (Crison, España).

Preparación de los cultivos

Se partió de un criovial de *E. coli* O157:H7 (CECT 516) con una concentración inicial de 1×10^8 ufc/mL. Se realizaron diluciones seriadas en agua de peptona estéril tamponada al 0,1 % (Scharlab Chemie S.A., Barcelona, España) se inoculó en 500mL de caldo Tryptic Soy Broth (TSB) (Scharlab Chemie S.A., Barcelona, España) y se incubó a 37°C a 70 r.p.m. por 8 horas hasta obtener células en estado estacionario. Seguidamente se realizó un centrifugado y se adicionó caldo TSB. Se tomó 1 mL del resuspendido y se almacenó en crioviales con 1 mL de glicerol al 20% en TSB a una concentración de $1,12\times 10^8$ ufc/mL. Para la cepa de *Z. rouxii* (CECT 10312) se siguió el protocolo descrito anteriormente para *E. coli* O157:H7 cambiando el medio de cultivo por caldo Yeast Extract Peptone Dextrose (YPD) (1% extracto de levadura, 2% agua de peptona y 2% glucosa) (Pribylova et al., 2007). La esporulación de la levadura se llevó a cabo en 500 mL de caldo YPD suplementado con 5 g de Acetato Potásico e incubado a 29°C a 100 r.p.m. durante 72 horas. Tras centrifugar, se almacenó en crioviales de 1 mL de glicerol al 20% YPD se obtuvo una concentración $1,58\times 10^8$ ufc/mL de ascosporas de *Z. rouxii*.

Tratamiento PEAI

Una vez filtrado el zumo, se inocularon las cepas de *E. coli* O157:H7 y las ascosporas de *Z. rouxii* en condiciones de esterilidad, se mantuvo en agitación durante 10 minutos en baño a 4°C . Seguidamente el zumo se realizó el tratamiento por PEAI, utilizando equipo OSU-4D (Ohio State University, EEUU), los tratamientos se ajustaron a intensidades de campo de 25, 35 y 40 kV/cm y tiempos de tratamiento de entre 30 a 500 μs dependiendo directamente de la intensidad de campo. Se manejaron temperaturas de tratamiento de 5, 25 y 40°C en combinación con las intensidades descritas anteriormente, los cambios en

temperatura se registraron mediante termopares conectados a la entrada y a la salida del equipo.

Análisis microbiológico

Las muestras de zumo tratado se depositaron en tubos estériles, se realizaron diluciones seriadas en agua de peptona al 0,1% y se sembró en placa en profundidad utilizando Potato Dextrose Agar (PDA) (Scharlab Chemie S.A., Barcelona, España) adicionado con cloranfenicol (Scharlab Chemie S.A., Barcelona, España). Los tratamientos se realizaron por triplicado. Las muestras se incubaron durante 5 días a 25 °C para el crecimiento de *Z. rouxii*. Para el recuento de *E. coli* O157:H7 se incubó durante 24±3h a 37°C en Tryptocase Soy Agar (TSA) (Scharlab Chemie S.A., Barcelona, España). Al finalizar los tiempos de incubación de cada uno de los microorganismos se realizaron recuento manual de colonias.

Cinéticas de inactivación por PEAI

Se utilizó el modelo de distribución de Weibull ampliamente utilizado para la interpretación de curvas inactivación no logarítmicas (Pataro et al., 2011, Saldaña et al., 2010; Sampedro et al., 2006) (Ecuación 1).

$$\log \frac{N}{N_0} = -bt^n \quad (1)$$

Donde N/N_0 es la fracción de microorganismos supervivientes, t es el tiempo de tratamiento expresado en μs , b es el parámetro de escala expresado en kV/cm y relacionado con la intensidad del tratamiento y n es el parámetro de forma que está relacionado con la forma de la cinética de inactivación.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Inactivación de *E. coli* O157:H7 por PEAI.

Al aplicar un tratamiento con una intensidad de campo de 25 kV/cm durante un tiempo de 180 μs , la concentración de células viables de *E. coli* O157:H7 decreció 2,4±0,08, 2,83±0,09 y 3,28±0,08 ciclos logarítmicos, con respecto a la muestra no tratada a las temperaturas de tratamiento de 5, 25 y 40°C respectivamente. Como se puede evidenciar un aumento en la temperatura de tratamiento, produjo así mismo un aumento en la inactivación celular, por tanto se presenta un efecto sinérgico entre el tratamiento por PEAI y la temperatura de trabajo. Al incrementar la intensidad de campo a 35 kV/cm y al evaluar

tiempo de tratamiento común de 180 μ s, se obtuvo una disminución logarítmica de 2,45 \pm 0,08, 2,77 \pm 0,04 y 3,06 \pm 0,04 para las temperaturas de tratamiento 5, 25 y 40°C, por tanto al comparar estos resultados con los obtenidos a 25 kV/cm, se evidenció que un incremento en la intensidad de campo no se tradujo en una mayor inactivación celular. La combinación de intensidad de campo 40 kV/cm, 180 μ s, 40°C presentó una reducción logarítmica de 3,7 \pm 0,05 para *E. coli* O157:H7 tal y como se puede ver en la figura 1, para las temperaturas de 5 y 25°C no se evidenciaron diferencias significativas, al comparar los resultados obtenidos con las intensidades de campo inferiores de 25 y 35kV/cm.

Por tanto la combinación de las intensidades de campo con temperaturas moderadas y un produjo un efecto sinérgico que consiguió reducir el número de microorganismos viables de *E. coli* O157:H7 en el zumo de naranja, este efecto concuerda con lo reportado anteriormente por Hodgins et al., 2002 donde un incremento en la temperatura de 44°C con un de pH 3,5 y una intensidad de campo 80 kV/cm a 80 μ s, incrementaba el efecto de los PEAI reduciendo en 1,75 ciclos logarítmicos la concentración de microorganismos. En cuanto al incremento en el tiempo de tratamiento, un aumento en este no produjo una mayor en la inactivación microbiana, generando colas en las cinéticas de inactivación a tiempos de tratamiento elevados. Por tanto a estos tiempos no se presenta una reducción significativa en la carga inicial ($P > 0,05$). Esta tendencia concuerda con lo observado por Jia et al., 1999 que obtuvo una reducción microbiológica similar entre los tratamientos de 240 y 480 μ s a una intensidad de campo de 30 kV/cm.

Modelización matemática

Se calcularon los parámetros cinéticos b y n del modelo de Weibull junto a la bondad del ajuste (R^2 -ajustado) y error cuadrático medio (MSE) para *E. coli* O157:H7 (tabla 1). En los datos obtenidos experimentalmente se pudo evidenciar una tendencia definida en cuanto al parámetro b , ya que a medida que se incrementaba la intensidad del tratamiento el parámetro aumentaba significativamente, de igual forma esta tendencia se observó al incrementar la temperatura de tratamiento, por tanto valores elevados de b evidencian una mayor velocidad de inactivación del microorganismo frente a los tratamiento por PEAI. El parámetro n , no superó en ningún caso un valor de 1 para las cinéticas de inactivación de *E. coli* O157:H7, por tanto se presentaron colas a medida que los tratamientos se volvieron más intensos.

Inactivación de *Z. rouxii* por PEAI.

Tal y como se puede observar en la figura 2, las cinéticas de inactivación para las ascosporas de *Z. rouxii* generaron colas para los tiempos de tratamiento de 180, 120 y 60 μ s para las intensidades de campo de 25, 35 y 40 kV/cm respectivamente. Estos resultados siguen la tendencia descrita anteriormente para las cinéticas de inactivación de *E. coli* O157:H7, por tanto un incremento en los tiempos de tratamiento no generó una reducción significativa de la carga inicial de microorganismo ($P>0,05$). En cuanto al tratamiento de 40 kV/cm, 60 μ s, 25°C, la reducción microbiana fue de $2,8\pm 0,08$ ciclos logarítmicos, sin embargo al incrementar el tiempo de tratamiento entre 80 y 180 μ s, no se produjo una mayor inactivación microbiana, obteniendo por tanto un incremento máximo de $0,14\pm 0,07$ unidades logarítmicas, con respecto al tiempo de 60 μ s.

Cabe destacar que la máxima reducción de ascosporas de *Z. rouxii* se obtuvo al aplicar una intensidad de campo de 35 kV/cm a 40°C por 250 μ s, generando una disminución de $3,82\pm 0,075$ unidades logarítmicas frente al control no tratado. Por tanto al comparar los resultados presentados anteriores para las ascosporas de *Z. rouxii*, frente a los obtenidos para *E. coli* O157:H7, se evidenció una ligera resistencia de las ascosporas a los tratamientos por PEAI menores a las mostradas para ($2,12\pm 0,03$ reducciones logarítmicas para *Z. rouxii* y $2,47\pm 0,07$ en el caso de *E. coli* O157:H7 a 40 kV/cm y 5°C), esto concuerda con los resultados obtenidos en trabajos similares, donde las ascosporas presentan una mayor resistencia a los PEAI que las bacterias gram negativas (McDonald et al., 2000).

Modelización matemática

De igual forma, el modelo de Weibull se ajustó adecuadamente para la descripción de la fracción de células supervivientes de *Z. rouxii*. El coeficiente de determinación (R^2) obtenido para los diferentes niveles de tratamiento estuvo comprendido entre 93,19 y 98,53%. En cuanto a los valores del parámetro b obtenidos para *Z. rouxii*, estos presentaron un incremento significativo a medida que se incrementó la temperatura de tratamiento, siguiendo la tendencia observada para *E. coli* O157:H7 (tabla 2). De igual forma se observó que a medida que se incrementó la intensidad de campo, los valores de parámetro b aumentaban de igual manera.

CONCLUSIONES

La tecnología de PEAI ha demostrado ser efectiva para la reducción de la concentración inicial de *E. coli* O157:H7 y ascosporas de *Z. rouxii* en la matriz de zumo de

naranja pasteurizado. La inactivación microbiana obtenida en el presente estudio varió en función de la intensidad de campo, el tiempo de tratamiento y la temperatura aplicada. En cuanto al tiempo de tratamiento observó que a tratamientos superiores a 180, 120 y 60 μ s para 25, 35 y 40 kV/cm respectivamente, se generaron colas en las cinéticas de inactivación. Las máximas inactivaciones conseguidas en el presente estudio, se presentaron a tiempos cortos de tratamiento, tanto para *E. coli* O157:H7 como para ascosporas de *Z. rouxii*. La combinación de temperaturas moderadas y PEAJ produjo un incremento en la inactivación microbiana. En cuanto al modelo de Weibull este fue capaz de ajustar y predecir correctamente las cinéticas de inactivación obtenidas para ambos microorganismos.

AGRADECIMIENTO

Este trabajo fue financiado por el Instituto Alpina de Investigación de Colombia, con la finalidad de apoyar la Investigación, Desarrollo e innovación.

BIBLIOGRAFÍA

- Barbosa-Cánovas, G. V.; Zhang, Q.; Tabilo-Munizaga, G. 2001. Pulsed electric fields in food processing: fundamental aspects and applications. Technomic cop.
- Hodgins, A. M.; Mittal, G. S.; Griffiths, M. W. 2002. Pasteurization of fresh orange juice using low-energy pulsed electrical field". *Journal of Food Science*, 67(6): 2294-229.
- Jia, M. Q.; Zhang*, H.; Min, D. B. 1999. Pulsed electric field processing effects on flavor compounds and microorganisms of orange juice". *Food Chemistry*, 65: 445-451.
- McDonald, C. J.; Lloyd, S. W.; Viatle, M. A.; Petersson, K.; Innings, F. 2000. Effects of pulsed electric fields on microorganisms in orange juice using electric field strengths of 30 and 50 kV/cm". *Journal of Food Science*, 65(6): 984-986.
- Pataro, G.; Senatore, B.; Donsì, G.; Ferrari, G. 2011. Effect of electric and flow parameters on PEF treatment efficiency. *Journal of Food Engineering*, 105: 79-88.
- Pribylova, L.; Montigny, J.; Sychrova, H. 2007. Osmoresistant yeast *Zygosaccharomyces rouxii*: the two most studied wild-type strains (ATCC 2623 and ATCC 42981) differ in osmotolerance and glycerol metabolism. *Yeast*, 24: 171-180.
- Saldaña, G.; Puértolas, E.; Condón, S.; Álvarez, I.; Raso, J. 2010. Modeling inactivation kinetics and occurrence of sublethal injury of a pulsed electric field-resistant strain of *Escherichia coli* and *Salmonella Typhimurium* in media of different pH. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 11: 290-298.
- Sampedro, F.; Rivas, A.; Rodrigo, D.; Martínez, A.; Rodrigo M. 2006. Effect of temperatura and substrate on PEF inactivation of *Lactobacillus plantarum* in an orange juice-milk beverage. *European Food Research and Technology*, 223(1): 30-34.

Somolinos, M.; García, D.; Mañas, P.; Condón, S.; Pagán, R. 2010. Organic acids make *Escherichia coli* more resistant to pulsed electric fields at acid pH. *International Journal of Food Microbiology*, 136: 381–384

Smith, J.P.; Daifas, D. P.; El-Khoury, W.; Koukoutsis, J. 2004. Shelf life and safety concerns of Bakery products. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 44, 19e55.

Vojdani, J. D.; Beuchat, L. R.; Tauxe, R. V. 2008 .Juice-associated outbreaks of human illness in the United States, 1995 through 2005. *Journal Food Protection.* 71(2): 356-364.

Walking-Ribeiro, M.; Noci, F.; Cronin, D. A.; Lyng, J. G.; Morgan, D. J. 2009. Shelf life and sensory evaluation of orange juice after exposure to thermosonication and pulsed electric fields. *Food and Bioproducts Processing*, 87: 102-107.

FIGURAS

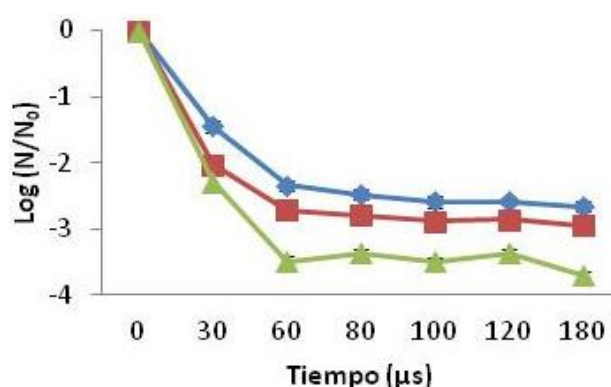


Figura 1. Curvas de inactivación para *E. coli* O157:H7 mediante PEAI en zumo de naranja a intensidad de campo de 40 kV/cm y temperaturas (♦) 5°C, (■) 25°C, (▲) 40°C.

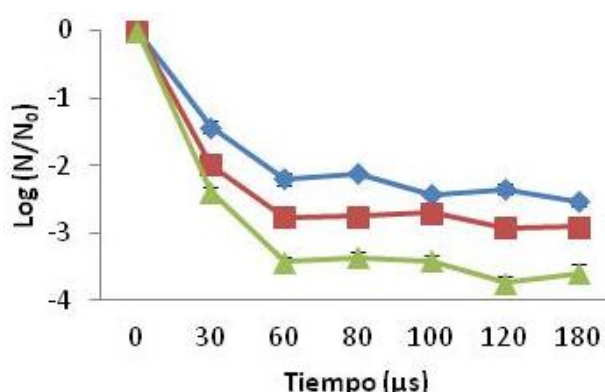


Figura 2. Curvas de inactivación para *Z. rouxii* mediante PEAI en zumo de naranja a intensidad de campo de 40 kV/cm y temperaturas (♦) 5°C, (■) 25°C, (▲) 40°C.

TABLAS

Tabla 1. Parámetros cinéticos del modelo de Weibull. R² ajustado, MSE para *E. coli* O157:H7.

Intensidad kV/cm	T (°C)	Modelo Weibull		R ² ajustado	MSE
		<i>b</i>	<i>n</i>		
25	5	0,21	0,49	96,35	0,05
	25	0,54	0,33	98,2	0,03
	40	0,73	0,27	97,68	0,04
35	5	1,04	0,18	93,99	0,1
	25	1,21	0,16	93,2	0,09
	40	1,42	0,14	98,21	0,03
40	5	0,65	0,28	96,69	0,06
	25	1,18	0,18	98,54	0,03
	40	1,32	0,21	96,24	0,08

Tabla 2. Parámetros cinéticos del modelo de Weibull. R² ajustado, MSE para *Z. rouxii*.

Intensidad kV/cm	T (°C)	Modelo Weibull		R ² ajustado	MSE
		<i>b</i>	<i>n</i>		
25	5	0,34	0,42	96,84	0,06
	25	0,5	0,34	97,04	0,05
	40	0,76	0,25	96,97	0,05
35	5	0,44	0,34	98,73	0,01
	25	0,46	0,36	97,81	0,04
	40	0,66	0,3	93,85	0,1
40	5	0,65	0,27	97,54	0,04
	25	1,18	0,18	97,68	0,05
	40	1,39	0,2	97,07	0,06

COMPORTAMIENTO REOLÓGICO DE JUGO DE TUNA, PIÑA Y SUS MEZCLAS

Esperilla-Ramírez J.¹, Mujica-Paz H.¹, Martín- Belloso, O.², Welti-Chanes J.¹, Valdez-Fragoso A.¹

¹Escuela de Biotecnología y Alimentos, Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores Monterrey. Av. Eugenio Garza Sada 2501 Sur, Col. Tecnológico, C.P. 64849, Monterrey, Nuevo León, México. a.valdez@itesm.mx.

²Departamento de Tecnología de Alimentos, Universidad de Lleida, Rovira Roure 191, Lleida 25198, España.

INTRODUCCIÓN

Los jugos son apreciados en la industria de alimentos, por su alto contenido nutritivo, rico en azúcares, vitaminas y minerales (Sáenz & Sepúlveda, 2001). El jugo de tuna (fruto del nopal *Opuntia ficus-indica*), se caracteriza por ser rico en carbohidratos como glucosa y fructosa, así como en su alto contenido de potasio, fósforo, calcio y vitamina C (Gutiérrez et al., 2010); Kuti & Galloway, 1994; Sáenz & Sepúlveda, 2001). Por otro lado, el jugo de piña se caracteriza por tener un alto contenido de vitamina C y enzimas como la bromelaína (Taussig et al., 1988).

Hasta ahora, se han llevado a cabo estudios reológicos en jugo de tuna (Cerezal et al., 2007) y en jugo de piña (Shamsudin et al., 2013). Sin embargo, no se han determinado las propiedades reológicas de la mezcla de estos jugos. Estas propiedades reológicas, definen el comportamiento de los fluidos como Newtonianos y no Newtonianos. Los fluidos Newtonianos pueden ser descritos por modelos como la ley de la potencia $\tau = k \dot{\gamma}^n$, en donde (τ) es esfuerzo de corte, ($\dot{\gamma}$) tasa de corte, k el índice de consistencia o viscosidad y n el índice de comportamiento, con valores igual a 1 (Cerezal et al., 2007). Por otro lado, el comportamiento de los fluidos no Newtonianos está descrito por modelos como el Herschel–Bulkley $\tau = \tau_0 + k \dot{\gamma}^n$, en donde k y n son diferentes de 1 (Cerezal et al., 2007). Para valores de n entre 0 y 1 el fluido se cataloga como pseudoplástico, mientras que a valores mayores a 1 se cataloga como dilatantes (Cerezal et al., 2007).

En la industria de los alimentos, el conocer estas propiedades reológicas, permite establecer el diseño de operaciones unitarias para el procesamiento de jugos (Dak et al., 2006). Estas operaciones involucran procesos de pasteurización, concentración y secado por aspersión a diferentes temperaturas (Dak et al., 2006).

Por lo tanto el objetivo de este estudio es evaluar el comportamiento reológico de jugo de tuna, piña y sus mezclas a diferentes temperaturas.

MATERIALES Y MÉTODOS.

Jugos y mezclas

Para obtener los jugos se utilizó tuna (*Opuntia ficus-indica*), variedad verde Villanueva y piña (*Ananas comosus*), variedad MD-2. Los frutos frescos fueron lavados y pelados para obtener solo la pulpa. Luego, el jugo se obtuvo utilizando un extractor casero (Hamilton Beach, 67800, China). En tubos falcón se realizaron las siguientes mezclas en proporción tuna y piña 1:1, 3:1 y 1:3. Además se separaron muestras de jugo de tuna y piña sin mezclar. Posteriormente se agitó cada una de las muestras para obtener una mezcla homogénea.

Ensayos reológicos

Los ensayos reológicos se llevaron a cabo en un reómetro (Anton Paar, MCR 502, E.U.A.) utilizando cilindros concéntricos de cono-placa. Se tomaron 20 ml. de muestra por triplicado y se depositó cada uno en el cilindro concéntrico exterior. Las mediciones reológicas se llevaron a cabo en 3 niveles de temperatura (15°C; 30°C y 45°C) y 5 niveles de composición de jugo de tuna y piña 1:1, 3:1, 1:3, así como jugo de tuna y piña puro. Luego se usó el software Anton Para RheoPlus para medir el esfuerzo de corte τ (Pa) en un rango de velocidad de corte $\dot{\gamma}$ de 2.5 a 1000 (1/s).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Los valores de k y n obtenidos con los modelos de Ley de la Potencia y Herschel–Bulkley se muestran en las Tablas 1 y 2, respectivamente.

Las propiedades reológicas, k y n , de los jugos de tuna puro y las mezclas tuna:piña 3:1 y 1:1 a temperatura de 15°C no obtuvieron un buen ajuste ($R^2 < 0.80$) para ningún de los dos modelos que se analizan en este estudio. Sin embargo, se observó, a esta misma temperatura, que a mayor proporción de piña en las mezclas, el ajuste aumenta tanto en el modelo de la Ley de la Potencia, como en el de Herschel–Bulkley.

En otras palabras, a 15°C, el comportamiento reológico de jugo de piña puro es descrito mejor por estos modelos que el del jugo de tuna. Según lo reportado, esto puede atribuirse a la concentración de sólidos solubles y a la diferencia del tipo de pulpa, entre la piña y la tuna (Keshani et al., 2012). Además, se ha demostrado que el porcentaje de pectina en la composición de la pulpa del jugo de tuna, favorece fenómenos como la tixotropía. Este fenómeno se refiere a un decremento, dependiente del tiempo, en los valores del índice de

consistencia k , debido a la aplicación de una velocidad de corte, y la subsecuente recuperación de k cuando la velocidad de corte es removida (El-Samahy et al., 2006).

Por otro lado, tal y como se muestra en las Tablas 1 y 2, en los rangos de temperatura de 30-45°C, el ajuste que se obtiene para los modelo de Ley de potencia y Herschel–Bulkley es alto ($R^2 > 0.9$). De acuerdo a las Figuras 1 y 2, en este rango de temperatura se observa que el índice de consistencia k disminuye conforme aumenta la temperatura, en las mezclas de jugo de tuna:piña 1:1, 3:1, 1:3, así como en las muestras puras. Este decremento en k , se debe a que al incrementarse la temperatura, partículas grandes en los jugos se rompen y producen partículas más pequeñas que afectan la interacción partícula-partícula en el material (Keshani et al., 2012). Sin embargo, hay diferencia en los valores de k de un modelo a otro, en donde el modelo de Herschel–Bulkley obtiene mejores ajustes para el jugo de tuna puro y las mezclas 1:1, 3:1 y 1:3. Mientras que el modelo de Ley de Potencia tiene un ajuste ligeramente mejor para el jugo de piña puro.

Lo anterior, se debe al comportamiento de los jugos de tuna y piña puros y sus mezclas. De acuerdo a los valores de índice de comportamiento n , para el rango de temperaturas de 30-45°C, todas las muestras de los jugos son fluidos pseudoplásticos no-newtonianos. Sin embargo, el ajuste al modelo de Herschel–Bulkley para las mezclas y el jugo de tuna puro, indican que tienen umbral de fluencia alejado de 0. A diferencia del jugo de piña puro cuyo umbral de fluencia es cercano a 0 y tiene ligeramente mejores ajustes usando el modelo de la Ley de la Potencia. Lo anterior, se explica debido a que el incremento de la temperatura disminuye el valor del umbral de fluencia (Ahmed, 2004). Sin embargo, en general el comportamiento del jugo de tuna, piña y sus mezclas está mejor descrito por el modelo de Herschel–Bulkley, ya que de acuerdo a lo reportado el umbral de fluencia existe también en jugo de piña puro (Shamsudin et al., 2013). En donde el comportamiento de este último sería el de un plástico de Bingham (Shamsudin et al., 2013).

Con respecto al índice de comportamiento n , este es prácticamente constante a temperaturas de 30-45°C. Sin embargo a temperaturas de 15°C, exhibe valores por debajo de los que se obtienen a temperaturas mayores. Sin embargo, el bajo ajuste de las mezclas de tuna y mezclas que se obtienen con los modelos usados en este estudio, no podrían describir correctamente el valor de n para estas temperaturas, a excepción de las muestras de jugo de piña puro, en donde se observa un incremento en n , al aumentar la temperatura. Sin embargo, todo lo anterior se explica debido a que el fluido está perdiendo su comportamiento pseudoplástico y se convierte en uno menos viscoso (Andrade Pizarro et al., 2010).

CONCLUSIONES.

El comportamiento no definido, por los modelos de Herschel–Bulkley y Ley de Potencia, de las muestras de jugo de tuna puro, y mezclas a 15°C, pueden ser resultado debido al resultado del contenido de pulpa en los jugos, así como también por fenómenos como la tixotropía.

En general, el comportamiento de las muestras de jugos de tuna, piña y sus mezclas fue descrito por el modelo de Herschel–Bulkley como fluidos no-newtonianos con umbral de fluencia. En donde para el caso de las muestras de jugo de tuna, y mezclas es un comportamiento pseudoplástico. Mientras que para las muestras de jugo de piña se comportan como un plástico de Bingham.

Por último, el aumento de los índices de comportamiento n y decremento en los índices de consistencia k , indican que el fluido está perdiendo su comportamiento pseudoplástico conforme aumenta la temperatura.

REFERENCIAS

- Andrade-Pizarro R.D., Torres-Gallo R., Montes-Montes E.J., Pérez-Sierra O., Bustamente-Vargas C.E., Mora-Vargas B.B. Effect of temperature on the rheological behavior of zapote pulp (*Calocarpum sapota* Merr). *Revista Técnica de la Facultad de Ingeniería. Universidad del Zulia* 2010, 33:138-114.
- Cerezal P., Castro M., Segundo E., Duarte G. A research note on rheological behavior of some processed products from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*). *Journal of Texture Studies* 2007, 38 (6): 738-754.
- Dak, M., Verma, R.C., Sharma, G.P. Flow characteristics of juice of “Totapuri” mangoes. *Journal of Food Engineering* 2006, 76, 557–561.
- El-Samahy S., El-Hady A., Habiba A., Moussa T. Chemical and rheological characteristics of orange yellow cactus pear pulp from Egypt. *Journal of the Professional Association for Cactus Development* 2006, 8:39-51
- Gutiérrez M., Rodríguez G., Cárdenas M., Botello E., Jiménez H., Martínez R., Bolaños R. A strategy for biotechnological processes design: prickly pear (*Opuntia ficus-indica*) wine production. *Chemical Engineering Transactions* 2010, 20:1520-1550
- Keshani S., LuqMan A., Russly A. Effect of temperature and concentration on rheological properties pomelo juice concentrates. *International Food Research Journal* 2012, 19(2):553-562.
- Kuti J., Galloway C. Sugar composition and invertase activity in prickly pear. *Journal of Food Science* 1994, 59(2), 387-393
- Saézn C., Sepúlveda E. Cactus pear juices. *Journal of the Professional Association for Cactus Development* 2001, 4:3-11

Shamsudin R., Su C., Mohd N., Ramli W. Rheological properties of ultraviolet-irradiated and thermally pasteurized Yankee pineapple juice. *Journal of Food Engineering* 2013, 116:548-553

Taussig S., Batkin S. Bromelain, the enzyme complex of pineapple (*Ananas comosus*) and its clinical application. An update. *Journal of Ethnopharmacology* 1988, 22(2):191-203

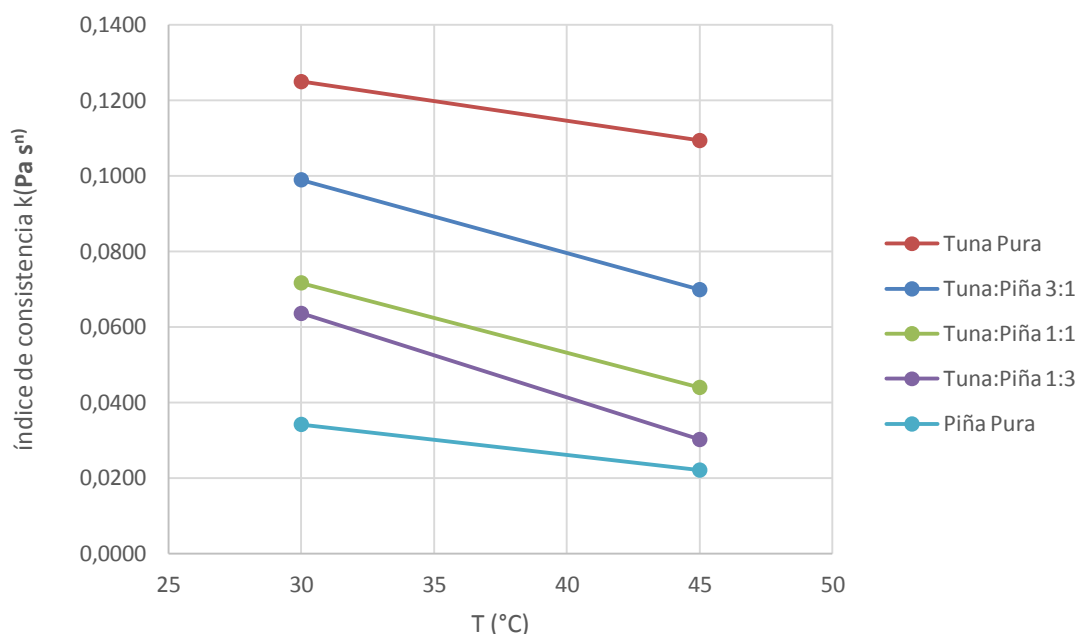


Figura 1. Índices de consistencia (Pa sⁿ) vs Temperatura (°C) en muestras de jugo de tuna, piña y mezclas obtenidos a partir del modelo de la Ley de Potencia.

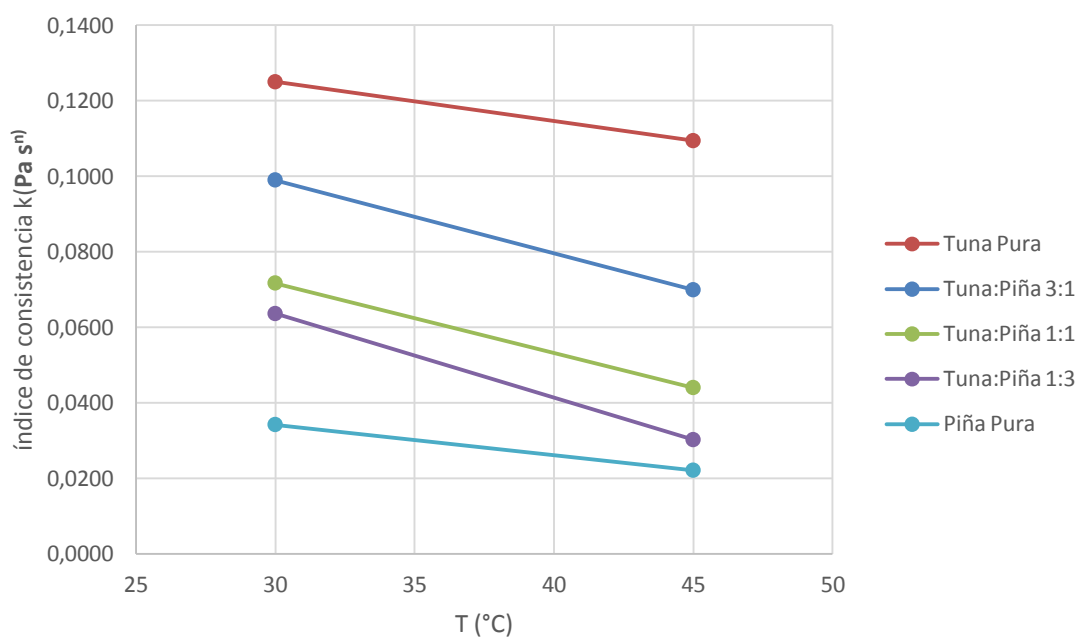


Figura 2. Índices de consistencia (Pa sⁿ) vs Temperatura (°C) en muestras de jugo de tuna, piña y mezclas obtenidos a partir del modelo de Herschel–Bulkley.

Tabla 1. Propiedades Reológicas de jugo de tuna, piña y mezclas usando el modelo de la Ley de la Potencia.

Muestra	Proporción	T (°C)	k (Pa s ⁿ)	n	R ²
Tuna	Pura	15	6.8628	0.0711	0.5366
Tuna	Pura	30	0.6255	0.3784	0.9659
Tuna	Pura	45	0.4362	0.4037	0.9686
Tuna:Piña	3:1	15	2.9485	0.4696	0.7206
Tuna:Piña	3:1	30	0.3589	0.4407	0.9631
Tuna:Piña	3:1	45	0.2194	0.4797	0.9646
Tuna:Piña	1:1	15	4.3023	0.1102	0.6702
Tuna:Piña	1:1	30	0.2375	0.4902	0.9590
Tuna:Piña	1:1	45	0.1501	0.5214	0.9314
Tuna:Piña	1:3	15	2.8236	0.17	0.8149
Tuna:Piña	1:3	30	0.1496	0.5594	0.9741
Tuna:Piña	1:3	45	0.0779	0.6164	0.9441
Piña	Pura	15	0.7190	0.3798	0.9610
Piña	Pura	30	0.0853	0.6390	0.9404
Piña	Pura	45	0.0589	0.6571	0.9591

Tabla 2. Propiedades Reológicas de jugo de tuna, piña y mezclas el modelo de Herschel–Bulkley.

Muestra	Proporción	T (°C)	k (Pa s ⁿ)	n	R ²
Tuna	Pura	15	1.8689	0.1775	0.6143
Tuna	Pura	30	0.1250	0.6151	0.9686
Tuna	Pura	45	0.1094	0.6081	0.9759
Tuna:Piña	3:1	15	0.5365	0.3796	0.6565
Tuna:Piña	3:1	30	0.0990	0.6317	0.9925
Tuna:Piña	3:1	45	0.0699	0.6511	0.9949
Tuna:Piña	1:1	15	1.621	0.196	0.7123
Tuna:Piña	1:1	30	0.0717	0.6704	0.9885
Tuna:Piña	1:1	45	0.0440	0.7064	0.9803
Tuna:Piña	1:3	15	0.2217	0.4758	0.8429
Tuna:Piña	1:3	30	0.0636	0.6901	0.9944
Tuna:Piña	1:3	45	0.0302	0.762	0.9791
Piña	Pura	15	0.1712	0.5884	0.9317
Piña	Pura	30	0.0342	0.7819	0.9335
Piña	Pura	45	0.0221	0.8099	0.9561

ESTUDIO DE LA APTITUD DE DISTINTOS CULTIVARES DE TRIGO SARRACENO EN LA ELABORACIÓN DE BIZCOCHOS SIN GLUTEN.

Miriam Alvarez², Margarita Barrachina¹, Benito Fernández¹, Eva García-Méndez¹, Susana Gutierrez¹, Carmen Siliuto¹, Pedro Caballero².

¹Centro de Investigación y Formación Agraria (CIFA), 39600 Muriedas, Cantabria (Spain)

²Escuela Técnica Superior de Ingenierías Agrarias de la Universidad de Valladolid, 34004 Palencia (Spain)

Email: carmensiliuto@cifacantabria.org

Enmarcado dentro del Programa de Desarrollo Rural en Cantabria, el sector agroalimentario tiene una importancia socioeconómica relevante, que se refuerza en las zonas rurales, debido a la disminución paulatina de la ganadería y a la búsqueda de soluciones que permitan el mantenimiento de una actividad agrícola respetuosa con el medio ambiente y al aumento de la población celiaca en la sociedad actual. En este sentido, el cultivo del trigo sarraceno surge como alternativa agrícola para mejorar la competitividad del sector agrario y apoyado en la búsqueda de productos de calidad y con un valor añadido.

La celiaquía es una enfermedad autoinmune causada por la intolerancia al gluten de ciertos cereales. Los resultados de un número reciente de estudios han demostrado la necesidad que tiene el mercado de productos de calidad libres de gluten. Las investigaciones actuales se dirigen al empleo nuevas materias primas libres de gluten, cómo el trigo sarraceno (*Fagopyrum esculentum* Moench), poligonácea que se describe por sus beneficios agronómicos y un excelente perfil de nutrientes.

El objetivo de este trabajo fue caracterizar la calidad de la harina obtenida de la molturación de granos enteros de trigo sarraceno de los diferentes cultivares ensayados en Cantabria. Así como el estudio del comportamiento de esta harina en su transformación alimentaria para la elaboración de dos tipos de bizcochos libres de gluten y el análisis de las características de los mismos. Las harinas de trigo sarraceno se definieron por una excelente fuente de almidón, proteínas, antioxidantes, fibras y oligoelementos. Han demostrado una óptima calidad funcional y tecnológica como materia prima en la elaboración de productos sin gluten, aunque se ha observado que esta idoneidad depende del cultivar del cual se obtenga la harina, así como la localidad donde se ha sembrado.

INTRODUCCIÓN

El trigo sarraceno (*Fagopyrum esculentum* Moench) también llamado alforfón, trigo negro, soba o fajol se trata de un cultivo minoritario que se cultiva ampliamente en Asia,

Federación Rusa, Unión Europea, América del Norte, América del sur y Australia (Campbell, 1997).

Es una planta anual herbácea, con hábito de crecimiento indeterminado que pertenece a la familia de las poligonáceas. Se considera un pseudocereal ya que sus semillas (aquenios) tienen un uso y una composición química similar al de los cereales (Aii, 2007). El interés de este cultivo va en aumento, a causa de su gran valor nutricional, escasas exigencias agronómicas, ciclo de cultivo corto y su efecto alelopático (García-Méndez, 2010).

Las semillas de esta especie se caracterizan como una de las mayores fuentes de proteínas de alto valor biológico, libres de gluten y por lo tanto apreciadas por enfermos celíacos.

La enfermedad celíaca se define como intolerancia permanente al gluten que se encuentra en algunos cereales como el trigo, cebada y centeno, entre otros, y se presenta en individuos genéticamente predispuestos. Este colectivo de personas, deben seguir obligatoriamente un régimen alimenticio estricto durante toda la vida, que consiste en la ingesta de alimentos sin gluten.

El gluten se considera el componente fundamental para el desarrollo de la estructura de muchos productos de panificación. Para ello, la búsqueda de alternativas en la elaboración de productos de panadería y pastelería sin gluten ha supuesto un gran desafío para este sector (Gallagher, 2004). Para la utilización de harinas sin gluten se requiere un adecuado procesado, y la utilización de otros ingredientes en la formulación que mejoran el carácter palatable del producto.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se definieron las muestras de semillas de trigo sarraceno en función del cultivar, fecha de siembra (F1 la tercera semana del mes de mayo y F2 la primera semana del mes de julio) y localidad. Los campos de ensayo se emplazaron en cuatro municipios de Cantabria, de diferente altitud y condiciones ambientales, se siembran cuatro ecotipos distintos, tres variedades tradicionales de origen japonés *Shinano Natsusoba* (V1), *Shinano I Gou* (V2), *Nagawa Zairai* (V3) y una variedad tradicional española *Fajol* (V4).

Las semillas enteras se acondicionan y se someten a un proceso de molienda y tamizado. En el Laboratorio de Análisis de Tierra y Sanidad Vegetal del Centro de Investigación y Formación Agrarias (CIFA) se realizaron los análisis proximales de las harinas integrales según el correspondiente método oficial (Horwitz, 2005).

Se caracterizó el proceso de gelatinización RVA (Rapid Visco Analyzer (Newport Scientific Pty.Limited, Warriewood, Australia) y el efecto de la retrogradación del almidón mediante un analizador de textura universal *TEXTURE ANALYSER TA-XT2* (Stable Micro Systems, Surrey, UK).

Se realizó el estudio de la transformación agroalimentaria de los distintos cultivares ensayados, utilizando la harina integral como materia prima en la elaboración de bizcocho tipo tradicional y esponja.

Se caracterizaron las masas batidas a través de la medida de la densidad con un picnómetro y su comportamiento reológico utilizando un reómetro modelo RheoStress 1 ThermoHaake, con un rotor PP20 y un baño PHOENIX de ThermoHaake.

Se estudió la calidad del producto mediante la determinación de las propiedades morfogeométricas (pérdida de peso, volumen de bizcocho y simetría de rodajas, color de la corteza y miga) de las rodajas de bizcocho.

La textura se puede considerar como una manifestación de las propiedades reológicas de un alimento, se considera un atributo importante de calidad. Se realizó un ensayo de doble penetración con el perfil de textura TPA (Texture Profile Analysis).

El resultado de las determinaciones llevadas a cabo con las harinas de trigo sarraceno se sometió al análisis de la varianza, siguiendo el modelo lineal generalizado del programa Statgraphics Centurion XVI para determinar las diferencias entre muestras. El método utilizado fue LSD DE FISHER para detectar las diferencias estadísticamente significativas entre las muestras.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Los cultivares que obtuvieron los mayores rendimientos harineros fueron *Fajol* (V4) y *Shinano Natsusoba* (V1), en ambas siembras, y en Cóbreces y Valderredible y en la primera siembra *Shinano I Gou* (V2) en la localidad de Cóbreces. Las harinas de los cultivares *Shinano Natsusoba* (V1) en Cóbreces y *Fajol* (V4) en Valderredible resultaron las harinas de granulometría más fina.

El resultado de los análisis proximales señaló como componente mayoritario el hierro en el cultivar *Nagawa Zairai* (V3). El valor medio del contenido en cenizas resultó similar al obtenido en un estudio de la composición de diferentes formulaciones de harina de trigo sarraceno, que no especificaban el cultivar ensayado (Inglett, 2009). El mayor porcentaje de cenizas se presentó en el cultivar *Shinano Natsusoba* (V1) en todas las localidades. En Soba

resultó el valor más elevado en el porcentaje de cenizas y menor porcentaje de humedad de la harina, lo que pudo influir en el proceso de molienda.

Se considera importante el porcentaje de proteína ya que las harinas de trigo sarraceno se caracterizan por una proporción alta de lisina, que los cereales suelen deficitarios, aunque es de baja digestibilidad, posiblemente debido a los taninos, ácido fítico, e inhibidores de proteasas (Ikeda, 1991). Las proteínas determinan un producto final de mejor calidad nutricional ya que contienen una amplia gama de aminoácidos (Pomeranz, 1975).

El contenido medio de proteína resultó similar al de un artículo realizado por (Barta, 2010) que se centro en la evaluación de un ensayo de cuatro cultivares de *Fagopyrum esculentum* sembrados en dos localidades de diferente altitud. En el cual se definían similares condiciones de cultivo que los ensayos agronómicos que se realizaron en Cantabria, en ausencia de fertilizantes y productos químicos.

Las harinas de trigo sarraceno cuyo contenido en fenoles y flavonoides fue mayor correspondieron a la localidad de Celada excepto en el cultivar *Shinano Natsusoba* (V1). Estas harinas se definieron con un alto porcentaje de cascarilla. Esto puede deberse a que el contenido en compuestos fenólicos aumenta desde interior del grano hasta la cascarilla de semillas de trigo sarraceno según estudio realizado por Hung, (2010) de las características de las harinas de la fracción de almidón de granos enteros de trigo sarraceno. En otro estudio realizado por Hung (2008) se concluyó que el aporte de los componentes con una gran capacidad antioxidante se realiza en la molienda de granos enteros de trigo sarraceno.

Los parámetros analizados con el RVA se apreciaron *temperaturas de gelatinización* similares a las obtenidas de un estudio del almidón del maíz y del trigo, realizado por Grant (1998). Se determinó el punto de máxima viscosidad en la localidad de Valderredible en el cultivar *Shinano Natsusoba* (V1). Las muestras con valores de recristalización más bajos indican, por lo tanto que la velocidad de retrogradación del almidón es muy baja (Ragae, 2006) tal y como ocurre en las muestras sembradas en las localidades de Valderredible y Soba. En la localidad de Cóbreces, se analizó la mayor retrogradación del almidón en todos sus cultivares ensayados, y se alcanzó la viscosidad final mayor en el cultivar *Fajol* (V4), esto puede deberse a un mayor contenido de amilosa en este cultivar. Hara (2007) estudiaron las propiedades de gelatinización de harinas de trigo sarraceno descascarillado utilizando un Rapid Visco Analyse (RVA), obtuvieron valores de pico de viscosidad inferiores a los que se analizaron en el presente estudio, ya que en este estudio se trabajo con harina integral, por tanto la cascarilla puede ser la causa de obtener valores de viscosidad final más elevados y mejores propiedades de gelatinización

Las harinas de trigo sarraceno de la localidad de Cóbreces alcanzaron el mayor volumen de hinchamiento del almidón, por tanto mayor pico de viscosidad, debido a su mayor capacidad de absorción de agua. Al igual que un estudio sobre la fracción de almidón realizado por Ragae (2006) los picos de viscosidad y decaimiento de viscosidad más elevados coincidieron con el volumen de hinchamiento mayor.

Se relacionó la dureza del gel con la tasa de retrogradación resultó que los cultivares que experimentaron mayor retrogradación fueron *Shinano natsusoba* (V1) y *Nagawa Zairai* (V3). La fecha de siembra es otro factor cuyo efecto resultó ser significativo en la dureza de las pastas. Los cultivares que fueron sembrados en la primera fecha de siembra (F1) han experimentado una retrogradación mayor.

El comportamiento reológico de las masas batidas de los bizcochos demostró diferencias en cuanto el tipo de bizcocho. Las harinas del cultivar V1 en la localidad de Cóbreces alcanzaron el valor más alto de G' y se describieron con un alto porcentaje proteínas. En general el parámetro G' se relacionó con la elasticidad de las masas batidas. El bizcocho tipo esponja resultó más elástico que el bizcocho tradicional, esto pudo ser debido a que estas masas retienen mejor el aire entre sus celdas.

Se observó que el valor de G'' existían diferencias estadísticamente significativas en la interacción localidad*variedad, siendo las harinas procedentes de la localidad de Cóbreces en el cultivar *Shinano 1 Gou* (V2) las menos viscosas. En cambio las harinas originarias de Valderredible en los cultivares *Fajol* (V4) y *Zagawa Zairai* (V3) alcanzaron el mayor valor de G'' , esto pudo deberse al perfil fisicoquímico de estas harinas que se definieron por un bajo contenido en grasa y un alto porcentaje en fibra. Se puede asociar el módulo viscoso G'' de las masas batidas con término cohesividad. Se encontraron diferencias significativas en cuanto al tipo de bizcocho, ya que las pruebas reológicas de las masas batidas depende de su estructura, esto es, la disposición espacial de las moléculas, en este caso, resultó un mayor G'' en el bizcocho tipo esponja.

En general los valores de G''/G' tuvieron un valor mayor a 0,5, indicando el predominó el comportamiento viscoso sobre el comportamiento elásticos. Observando éstos valores en la localidad de Valderredible se obtuvo el valor más alto en este parámetro, es probable que se deba a que las harinas procedentes de esta localidad se caracterizaron fisicoquímicamente por un menor contenido en proteínas y un mayor contenido en fibra.

Se utilizó el ensayo rotacional para ayudar a predecir el comportamiento de las masas de trigo sarraceno en el horno. Al tratarse de un fluido viscoelástico el índice de flujo (n) es menor a la unidad. El mayor valor de n se observó en la localidad de Cóbreces. El parámetro

k es el índice de consistencia que se define como la capacidad de fluidez de la masa batida y esta directamente relacionado con la viscosidad aparente de la muestra. En este análisis la localidad de Cóbreces resultó el menor valor de k, al igual que el valor observado en el ensayo de barrido de frecuencias donde el valor mayoritario de G'' se encontró en la localidad de Cóbreces.

Se evaluó la aptitud de las harinas de trigo sarraceno en la elaboración de bizcocho resultando mayor volumen en el bizcocho tradicional y de la localidad de Cóbreces. El cultivar *Fajol* (V4) se caracterizó porque alcanzó el mayor volumen de bizcocho y la mayor pérdida de peso tras el horneado.

El color es una característica importante de los productos de panadería que junto con la textura y el aroma contribuye a las preferencias del consumidor. Se analizaron diferencias estadísticamente significativas en el valor de la luminosidad, el valor del tono y de la saturación de la corteza y de la miga, en cuanto al tipo de cultivar. Por tanto, los productos del cultivar *Shinano Natsusoba* (V1), se definen con el valor de luminosidad más bajo en corteza y miga y el tono de corteza y miga más próximo al rojo. A diferencia de los bizcochos elaborados con harinas del cultivar *Nagawa Zairai* (V3) que fueron más luminosos.

La simetría de las rodajas de bizcocho dependió de la localidad y la variedad de las harinas de trigo sarraceno, encontrándose diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) en la interacción de los dos factores. Los bizcochos mayor valor de simetría fueron en la localidad de Soba los cultivares *Nagawa Zaira* (V3) y *Fujol* (V4) (parámetros no mostrados).

En el análisis de textura de las rodajas de bizcocho se apreció el mayor valor de dureza resultó en los bizcochos elaborados con harina de Cóbreces y el cultivar *Shinano Natsusoba* (V1) fueron las harinas que tuvieron mayor contenido en proteína. El contenido en proteína se considera un índice de la mejora de las características mecánicas de las masas de trigo sarraceno, (Mukasa, 2003).

CONCLUSIONES

Los valores fisicoquímicos de las harinas analizadas se encuentran dentro de los descritos para esta especie. Los resultados se vieron influenciados por la fecha de siembra y el cultivar. Las harinas que presentaron un mayor potencial como materia prima en la elaboración de productos sin gluten, han resultado las procedentes de la localidad de Cóbreces, el cultivar *Shinano Natsusoba* (V1) y Valderredible el cultivar *Fajol* (V4), que se

definieron por un carácter más viscoso que elástico. Según los resultados obtenidos, la introducción del trigo sarraceno como sustituto de la harina de trigo, puede ser factible en la elaboración de productos sin gluten y en la mejora de la calidad de los mismos, por tanto se hace necesario seguir investigando para aportar más aplicaciones a la industria alimentaria. Sería importante ampliar estos estudios, en el conocimiento del contenido de compuestos antioxidantes debido a sus efectos beneficiosos sobre la salud humana.

BIBLIOGRAFÍA

AACC. (2000). *Approved Methods of American Association of Cereal Chemist*. St Paul. MN: The Association.

Aii, J., Nagano, M., Yamamoto, K., Wang, Y., and Campbell, C. (2007). A proposed model dwarf buckwheat plant k-chibi. *Proceedings of the 10th international symposium on buckwheat*, 14-18 of August, Yangling, Shaanxi, China. 2007. pp 221-225.

Alvarez, M. (2010). Estudio de las propiedades del almidón de harinas obtenidas a partir de diferentes cultivares de trigo sarraceno. Análisis de su potencial para el empleo en la elaboración de bizcochos sin gluten. *Biblioteca de la Universidad de Valladolid*.

Arendt, E.K., Gallagher, E., Gormley, T.R. (2004). Recent advances in the formulation of gluten free cereal-based products. *Trends in Food Science and Technology*, 15:143-152.

Arendt, E.K., Dal Bello, F., Renzetti, S. (2008). Microstructure, fundamental rheology and baking characteristics of batters and breads from different gluten free flours treated with a microbial transglutaminase. *Journal of Cereal Science*, 48 (1):33-45.

Barta, J., Kalinova, J., Moudry, J., and Curn, V. (2010). Effects of environmental factors on protein content and composition in buckwheat flour. *Cereal Res. Commun.* 4: 541-548.

Campbell, C. G. (1997) Buckwheat. *Fagopyrum esculentum* Moench. *International Plant Genetic Resources Institute*.

FACE. Federación de Asociaciones de Celíacos de España. <http://celiacos.org/>

Última visita 26/09/2013.

FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://faostat.fao.org> Última visita 31/09/2013

García-Mendez, E., Barrachina, M., Fernández, S., Gutiérrez, S., Méndez, S., Fernández, O., Fernández, B., (2010). Effects of buckwheat on weed populations in Cantabria (Spain). *Proceedings of the 11th international symposium on buckwheat*, 19-23 of July, Orel, Russia. 2010. pp 655-665.

Grant, L., Qian, J., Rayas-Duarte, P., (1998). Partial characterization of buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) starch. *Cereal Chemistry*, 75: 365-373

Hara, T., Matsui, K., Noda, T. y Tetsuka, T. (2007). Effects of preharvest sprouting on flour pasting viscosity in common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) noodles. *Plant Production Science*, 10(3):361-366.

Horwitz, W (2005). Official Methods of Analysis of AOAC International. *18th Edition. Journal of Association of Official Agricultural Chemists*.

Hung, P.V., Morita, N. (2008). Distribution of phenolic compounds in the graded flours milled from whole buckwheat grains and their antioxidant capacities. *Food Chemistry*, 109: 325-331.

Hung, P.V., Maeda, T., Morita, N. (2010). Characteristics of flour and starch fractionated from whole buckwheat grains. *Proceedings of the 11th international symposium on buckwheat*, 19-23 of July, Orel, Russia. 2010. pp 655-665.

Ikeda, K., Arai, R., Mori, K., Tougo, M., Kreft, I. and Yasumoto, K. (2001). Characterization of buckwheat groats by mechanical and chemical analyses. *Fagopyrum* 18: 37-43.

Inglett, G.E., Xu, J., Stvenson, D.G. & Chen, D. (2009). Rheological and pasting properties of buckwheat (*Fagopyrum esculentum Moench*) flours starch with and without jet-cooking. *Cereal Chemistry*, 86:1-6.

Mukasa, Y., Honda, Y., Suzuki T. (2003) Correlation between mechanical characteristics of buckwheat dough and constituent properties of buckwheat flour from 12 varieties. *National Agricultural Research Center for Hokkaido Region, National Agricultural Research Organization, Memuro-cho, Hokkaido*.

Pomeranz, Y., Marshall, H.G., Robbins, G.S. y Gilberston, J.T. (1975). Protein content and amino acid composition of maturing buckwheat (*Fagopyrum esculentum Moench*). *Cereal Chemistry*. 52:479-484.

Ragae, S. & Abdel-Aal, E.M. (2006). Pasting properties of starch and protein in selected cereals and quality of their food products. *Food chemistry*, 95: 9-18.

PROYECTO INIA: RTA2009-00099-00

MODELAMIENTO ESTADÍSTICO PARA LA PREDICCIÓN DE LA ACIDEZ, HUMEDAD, PH Y SÓLIDOS SOLUBLES, A PARTIR DE LA RESISTENCIA ELÉCTRICA DEL MANGO (*MANGÍFERA INDICA L.*) VARIEDAD HADEN EN DIFERENTES ESTADOS DE MADUREZ

Julio César Rojas Naccha ⁽¹⁾. **Hubert Luzdemio Arteaga Miñano**⁽²⁾. **Jhony Lenin Takanga Rodríguez**⁽³⁾

- (1) Docente de la Escuela de Ingeniería Agroindustrial. Universidad Nacional de Trujillo. Perú
- (2) Docente de la Escuela de Ingeniería Agroindustrial. Universidad Nacional de Trujillo. Perú
- (3) Ingeniero Agroindustrial. Egresado de Escuela de Ingeniería Agroindustrial. Universidad Nacional de Trujillo

RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo por finalidad determinar por medio del modelamiento estadístico las predicciones de cuatro características fisicoquímicas (acidez, humedad, pH y sólidos solubles) a partir de la resistencia eléctrica del mango variedad “Haden” en diferentes estados de madurez.

En la obtención de los datos se observó que la resistencia eléctrica tiene una estrecha relación inversa con los sólidos solubles, pH y la humedad mientras que la acidez se relaciona de manera directa. Luego se seleccionaron los modelos estadísticos lineales y no lineales que permitieron las mejores predicciones en las características fisicoquímicas mencionadas. El criterio de selección de los mejores modelos fue el coeficiente de determinación R^2 y el error absoluto obtenido de la comparación de los datos experimentales con los datos reales.

Se determinó que el modelo estadístico que permitió predecir los sólidos solubles fue $y = 1252.30943x^{-0.49555592}$ ($R^2=0.9835$, $R^2_{ajust.} = 0.9834$), cuyo contraste con los datos experimentales reales arroja un error absoluto máximo de 2.611%. Para la predicción de pH, el modelo estadístico fue $y = -1.31E-04x + 5.57621317$ ($R^2=0.9793$ y un $R^2_{ajust.} = 0.9791$), arrojando un error absoluto máximo de 2.898%. El modelo estadístico predictivo para la humedad fue $y = -8.57E-04x+91.6114721$ ($R^2=0.9648$, $R^2_{ajust.}=0.9643$), con un error absoluto máximo de 1.029%. Por último modelo estadístico predictivo para la acidez fue $y = 0.26713489+17.7985699/x^{0.5}$ ($R^2 =0.967$ y un $R^2_{ajust.} = 0.9666$), con un error absoluto máximo de 20.111%. En todos los casos “y” representa las características fisicoquímicas y “x” es la resistencia eléctrica en Ω (ohm).

I. INTRODUCCIÓN

Las propiedades físicas de los alimentos son el resultado de las interacciones fisicoquímicas en el sistema. Su medida, control y correlación con otras propiedades del producto ha cobrado en los últimos años una extraordinaria importancia en la Tecnología de Alimentos (Watkins y Bartsch, 1997).

La producción nacional del Perú está centralizada en la costa, siendo Piura el departamento con mayor producción y superficie cultivada. En la actualidad, los valles Piura (77.42 % de la producción nacional total pertenecen a este departamento) y Lambayeque son los que poseen el mayor porcentaje de producción de mangos en el Perú. Esto se debe a las condiciones favorables en cuanto a la naturaleza, la tecnología y la mayor capacidad empresarial. El Perú produce mangos durante el primer y último trimestre del año. Esto permite aprovechar los periodos en los que no producen los principales generadores del mercado, abasteciendo al mercado internacional. Se puede observar que el periodo de cosecha coincide con la estación de verano (AGROBANCO, 2007).

II. MATERIALES Y MÉTODOS

Esquema Experimental

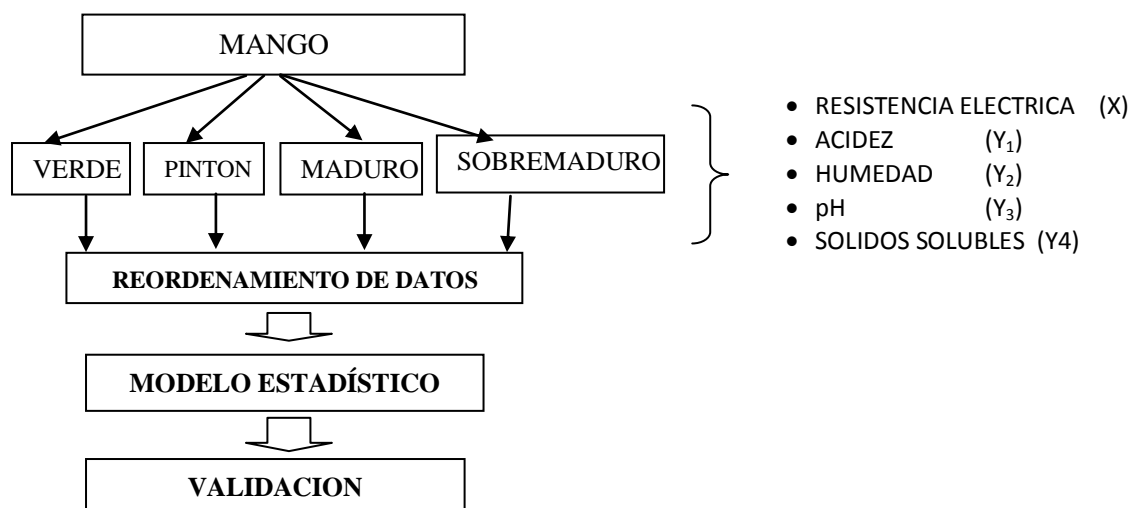


Figura 1. Diseño experimental para la determinación del modelamiento estadístico de las características fisicoquímicas a partir de la resistencia eléctrica del mango en diferentes estados de madurez.

La materia prima estuvo conformada por frutos de mango variedad Haden, adquiridos en el mercado mayorista La Hermelinda de la ciudad de Trujillo, Perú. Las frutas fueron lavadas, seleccionadas y clasificadas en frutos verdes, pintones, maduros y sobremaduros, siguiendo el criterio de Berger (2004).

Determinación de las propiedades fisicoquímicas.

Para la determinación de los sólidos solubles, pH, humedad y acidez se siguió los procedimientos de la A.O.A.C. (1995), mientras que para la determinación de la resistencia eléctrica se siguió la recomendación de Ezeike y Pos (1995). En todos los casos se se trabajó con una muestra de 20 mangos por cada estado de madurez.

Para la determinación de la resistencia eléctrica se utilizó una fuente de 2-5V de amplitud de onda variable OLIMPUS (2Khz – 50Mhz), amperímetro Asterix ± 0.1 mA y sonda prototipo de platino. Los electrodos fueron introducidos a una profundidad de 1cm con una separación de 1.5 cm, la que se mantuvo constante. Los electrodos se colocaron en la parte ubicada en los denominados hombros de la fruta, los cuales se ubican cerca al sector donde estuvieron unidos con anterioridad a sus respectivas plantas. Se indujeron los mangos a 5 Voltios con una frecuencia de 50 Hz.

Análisis Estadístico

Para el análisis estadístico se empleó el programa DATA FIT 8.2, trabajando con un nivel de significancia $\alpha = 0.05$. Se escogieron los modelos estadísticos que tuvieron mayor coeficiente de determinación (R^2), seleccionando los más cercanos a la unidad. En los modelos seleccionados se les realizó el análisis de varianza para apreciar su significancia. Para poder demostrar que el modelo es factible en su utilización se procedió a realizar un contraste con la realidad. Para dicho efecto se compararon los valores predichos con los valores obtenidos experimentalmente, el criterio de comparación fue el error porcentual.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las relaciones existentes entre la resistencia eléctrica y sus respectivas características fisicoquímicas, obtenidos según su estado de madurez, se muestran en las figuras 2, 3, 4 y 5.

En la Figura 2 se observa que la relación existente entre los sólidos solubles y la resistencia eléctrica se encuentran establecidas en forma inversa, como lo demostraron Ezeike y Pos (1995). Los valores elevados de la resistencia eléctrica, hasta 16 k Ω , son compatibles con lo encontrado por Ezeike y Pos (1995) en frutas y verduras.

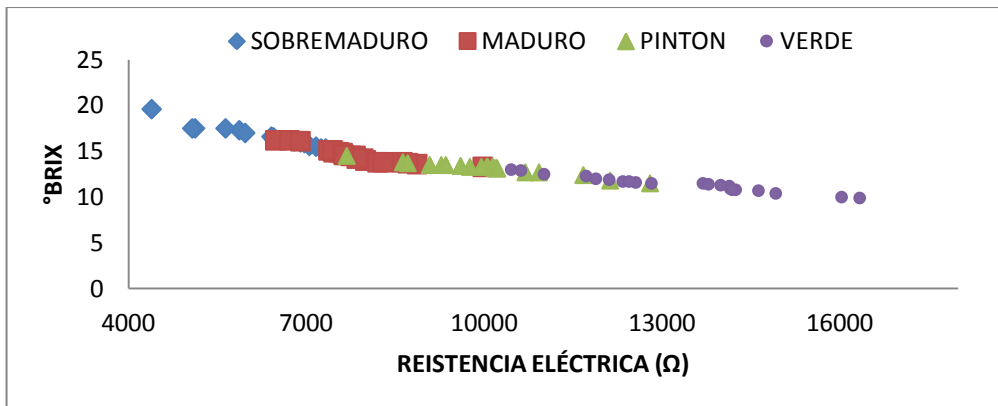


Figura 2. Relación de los sólidos solubles con la resistencia eléctrica del mango en cuatro estados de madurez.

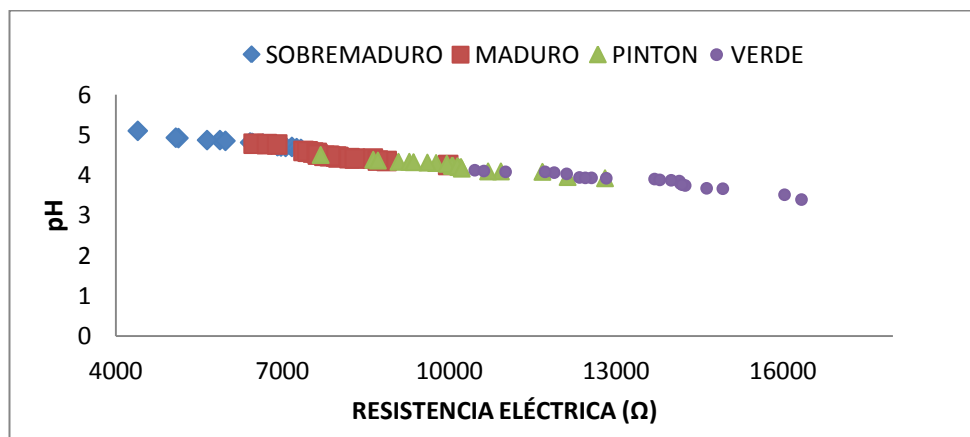


Figura 3. Relación del pH con la resistencia eléctrica del mango en cuatro estados de madurez.

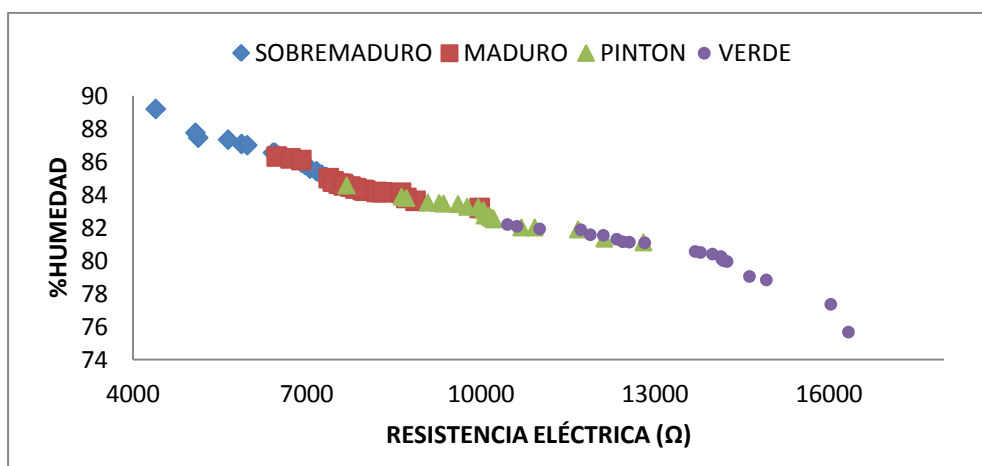


Figura 4. Relación de la humedad con la resistencia eléctrica del mango en cuatro estados de madurez.

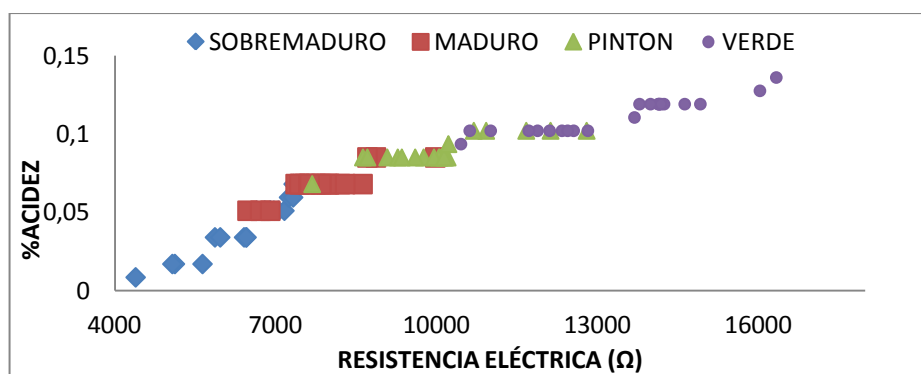


Figura 5. Relación de la acidez con la resistencia eléctrica del mango en cuatro estados de madurez.

En la Figura 3 se aprecia el incremento del pH de la fruta conforme avanza en su madurez, debido a la transformación de ácidos a azúcares simples. Además se observa que conforme el pH disminuye la resistencia eléctrica aumenta, mientras que en la Figura 5 se observa el efecto inverso, es decir que al aumentar la acidez, la resistencia eléctrica aumenta.

En la Figura 4 se aprecia la variación de la humedad en sus distintos estados de madurez y su relación inversa con la resistencia eléctrica del mango, tal como lo reportan Ezeike y Pos (1995), quienes indican que el agua contenida en las frutas y verduras por el hecho de ser un gran conductor de la electricidad permite ser el causante del orden inverso en la resistencia eléctrica.

Elección del modelo estadístico

En la Tabla 1 se observa la relación de los seis modelos seleccionados por su sencillez y ordenados de mayor a menor R^2 . Podemos apreciar que el R^2 y el $R^2_{ajust.}$ son superiores a 0.95, con lo que se logra buen ajuste. De éstos modelos se escogieron los que tuvieron menor complejidad, los que se muestran resaltados en la Tabla 1. Al respecto Mc. Cullogh y Searles (2001) señalan que la calidad de un modelo no es función de su tamaño ni complejidad, sino que depende de su utilidad en un estudio o experimento construido para responder preguntas de interés.

En la Tabla 2 se muestran los coeficientes de cada modelo estadístico seleccionado, con sus respectivos intervalos de confianza.

Tabla 1. Modelos para la predicción de los sólidos solubles, pH, humedad y acidez a partir de la resistencia eléctrica en el mango variedad Haden.

Propiedad	Modelo (y=)	Error Estándar	Suma Residual	Promedio Residual	Suma de Cuadrados Residual	R ²	R ² _{ajust.}
Sólidos Solubles (°Bx)	a*x^b	0.273031	-4.23E-02	-4.15E-04	7.45461148	0.98354	0.98338
	a/(1+b*x)	0.315739	4.13E-01	4.05E-03	9.96910421	0.97799	0.97777
	a+b/x	0.351756	-1.24E-14	-1.22E-16	12.3732407	0.97268	0.97241
	a+b*x^.5	0.425341	-2.66E-14	-2.61E-16	18.091471	0.96006	0.95966
	a*b^x	0.427719	4.11E-01	4.03E-03	18.2943727	0.95961	0.95920
pH	a*x^(b*x)	0.453340	4.48E-01	4.39E-03	20.5516781	0.95462	0.95417
	a+b*x^2+c/x	0.052169	2.46E-11	2.41E-13	0.2694426	0.98435	0.98404
	a*b^x*x^c	0.054812	-2.45E-03	-2.40E-05	0.29743089	0.98273	0.98238
	a*b^x	0.055219	1.29E-03	1.26E-05	0.30491814	0.98229	0.98212
	a*x^(b*x)	0.056367	4.07E-03	3.99E-05	0.31772113	0.98155	0.98137
Humedad (%)	a*x+b	0.059734	-1.69E-14	-1.65E-16	0.35681778	0.97928	0.97907
	a*(x-b)	0.059734	3.64E-14	3.57E-16	0.35681778	0.97928	0.97907
	a*b^x*x^c	0.435906	-9.20E-04	-1.12E-05	15.0111302	0.97041	0.96966
	a+b*x^.5	0.437698	2.27E-13	2.77E-15	15.326331	0.96979	0.96941
	a/(1+b*x)	0.456438	5.46E-03	6.66E-05	16.6668575	0.96715	0.96674
Acidez (%)	1/(a+b*x)	0.456438	5.46E-03	6.66E-05	16.6668575	0.96715	0.96674
	a*b^x	0.463800	3.53E-03	4.30E-05	17.2088651	0.96608	0.96565
	a*x+b	0.472759	3.27E-13	3.99E-15	17.8800905	0.96475	0.96431
	a+b/x+c/x^1.5	0.005259	6.52E-16	7.95E-18	0.002185	0.96732	0.96649
	a+b*x^.5+c/x^.5	0.005284	1.93E-15	2.35E-17	0.002205	0.96701	0.96617
Acidez (%)	a+b/x^.5	0.005251	-1.90E-14	-2.30E-16	0.002206	0.96700	0.96658
	a+b*x^.5+c/x	0.005301	-4.20E-16	-5.10E-18	0.00222	0.96679	0.96595
	a+b*x+c/x	0.005307	1.67E-16	2.03E-18	0.002225	0.96672	0.96587
	a+b/x	0.005801	-7.60E-16	-9.20E-18	0.002692	0.95972	0.95922

Tabla 2. Valores de los coeficientes de los modelos estadísticos e intervalos de confianza para los sólidos solubles, pH, humedad y acidez.

Propiedad	Variable	Valor	Intervalo 95% (+/-)	Límite Inferior	Límite Superior
Sólidos solubles (°Bx)	a	1252.3094	1.47E+02	1.11E+03	1.40E+03
	b	-0.4955559	1.30E-02	-5.09E-01	-4.83E-01
pH	a	-1.31E-04	3.77E-06	-1.34E-04	-1.27E-04
	b	5.5762132	3.84E-02	5.54E+00	5.61E+00
Humedad (%)	a	-8.57E-04	3.64E-05	-8.93E-04	-8.21E-04
	b	91.611472	3.62E-01	9.12E+01	9.20E+01
Acidez (% p/v)	a	0.2671349	7.84E-03	2.59E-01	2.75E-01
	b	-17.79857	7.32E-01	-1.85E+01	-1.71E+01

Tabla 3. Análisis de varianza para los diferentes modelos estadísticos.

Propiedad	Modelo	Fuente	G.L.	Suma de cuadrados	Cuadrado Medio	F calculado	F(prob)
Sólidos Solubles (°Bx)	$y=ax^b$	Regresión	1	4.45E+02	4.45E+02	5975.804	0
		Error	80	7.45E+00	7.45E-02		
		Total	81	4.53E+02			
pH	$y= ax+b$	Regresión	1	1.69E+01	1.69E+01	4726.479	0
		Error	80	3.57E-01	3.57E-03		
		Total	81	1.72E+01			
Humedad (%)	$y= ax+b$	Regresión	1	4.89E+02	4.89E+02	2189.775	0
		Error	80	1.79E+01	2.24E-01		
		Total	81	5.07E+02			
Acidez (%)	$y= a+b/x^{0.5}$	Regresión	1	6.46E-02	6.46E-02	2343.937	0
		Error	80	2.21E-03	2.76E-05		
		Total	81	6.68E-02			

En la Tabla 3 se observa que los valores Prob (F) son iguales a cero, siendo menores a 0.05, lo que permite estadísticamente aceptar estos modelos como significativos.

En la Tabla 4 se observa los máximos errores porcentuales absolutos obtenidos de la validación de los modelos estadísticos escogidos; también se observan los errores porcentuales promedio de los valores absolutos obtenidos de la contrastación de los valores predichos con los valores experimentales.

Tabla 4. Errores porcentuales absolutos encontrados en el proceso de validación de los modelos estadísticos seleccionados para cada propiedad fisicoquímica.

Propiedad fisicoquímica	Máximo error observado (%)	Error Promedio (%)
Sólidos solubles (°Bx)	1.611	1.62
pH	2.898	1.24
Humedad (%)	1.029	0.5
Acidez (%)	20.111	8.7

De lo observado en la Tabla 4, se puede considerar que los modelos estadísticos son satisfactorios para procesos de predicción, pues se obtiene errores promedio menores a 10%.

V. CONCLUSIONES

Los modelos estadísticos predictivos: $y = f(x)$, donde “y” = característica fisicoquímica (sólidos solubles, pH, humedad y acidez) y “x” = resistencia eléctrica, del mango variedad Haden fueron: $y=1252.30943x^{-0.49555592}$ ($R^2=0.9835$ y un $R^2_{ajust.} = 0.9834$), para los sólidos solubles; $y= -1.31E-04x+5.57621317$; ($R^2=0.9793$, $R^2_{ajust.} = 0.9791$) para el pH; $y= -8.57E-04x+91.6114721$ ($R^2=0.9648$, $R^2_{ajust.}=0.9643$) para la humedad; $y= 0.26713489+17.7985699/x^{0.5}$ ($R^2=0.967$, $R^2_{ajust.} = 0.9666$) para la acidez.

El contraste de los datos experimentales reales con los datos predichos por el modelo estadístico arrojó un error absoluto máximo de 2.611% para los sólidos solubles; 2.898% para el pH; 1.029% para la humedad y 20.111% para la acidez.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGROBANCO. 2007. Cultivo del mango. Disponible en: http://www.agrobanco.com.pe/pdfs/publicacionagroinforma/3_cultivo_del_mango.pdf
- A.O.A.C. 1995. Official methods of analysis association of analytical chemists. Editorial Board. USA.
- Berger, H. 2004. “Cosecha, índices de madurez y manejo de frutas y hortalizas”. Departamento de Producción Agrícola, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. Universidad de Chile.122-128
- Ezeike, G. y Pos, J. 1995. A simple moisture sensor for root crops Proceedings First International Congress on Engineering and Food, Boston, Mass: 5-8
- Mc. Cullogh y Searle, S. 2001. SAS for Mixed Models. Littelring: 4-5
- Watkins, C. y Bartsch, J. 1997. Calibration and use of penetrometers, refractometers, gas monitoring equipment, and thermometers in fruits: 31-36

APLICACIÓN DE INDICADORES NATIVOS DE FLUORESCENCIA PARA LA QUANTIFICACIÓN RÁPIDA DE DAÑO TÉRMICO DURANTE EL PROCESADO DE LA LECHE

Joan-Josep Gallardo-Chacón, Heather Taterka, Anna Zamora, Adriana Valeria Rocha Humboldt, Jinfang Liu, Jordi Saldo, Manuel Castillo

CERPTA (CER Plata Pilot de Tecnonogia dels Aliments). Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, Campus UAB, 08193, Bellaterra, Cerdanyola del Vallés, Barcelona

I. INTRODUCCIÓN

La industria lechera está entre las industrias alimentarias más destacadas a nivel europeo implicando el 33% de la producción total de leche (FAOSTAT, 2011). Además se trata de un sector en constante crecimiento (UE Lex, 2012).

El procesado industrial de lácteos requiere la aplicación de tratamientos térmicos de diferente intensidad dependiendo del tipo de producto que se desee elaborar con el fin de eliminar microorganismos patógenos, garantizar la seguridad alimentaria y prolongar su vida útil (Bylund, 2003). Desafortunadamente, el tratamiento térmico no sólo permite eliminar los gérmenes patógenos y saprófitos, así como ciertos enzimas que producen deterioro de la leche, sino que también induce cambios indeseables como la generación de sabores extraños, la modificación de propiedades físico-químicas y la aparición de compuestos indeseados.

Es posible evaluar el daño térmico utilizando marcadores químicos clásicos (Claeys *et al.* 2002), aunque recientemente se están investigando alternativas que resulten más rápidas y económicas. Entre ellas, la fluorescencia “front-face” permite la medición directa de muestras turbias, siendo una alternativa muy interesante para el diseño de dispositivos de control de proceso.

El objetivo de este estudio fue identificar marcadores fluorescentes en leche que se correlacionen con marcadores tradicionales y que se puedan utilizar como predictores “inline” del daño térmico de la leche durante su procesado.

II. MATERIAL & MÉTODOS

Se analizó el comportamiento de los marcadores en función del porcentaje de leche tratada (PLT).

2.1 Tratamiento de muestras

Se reconstituyó leche desnatada en polvo de alta calidad “low heat skim milk powder”

suministrada por Chr. Hansen (Barcelona, España) con agua desionizada (Milli-Q) hasta un contenido final de sólidos totales del 12% (w/w).

El tratamiento térmico se realizó mediante autoclave a una temperatura de 121°C durante 20 min (Hinrichs y Rademacher, 2002; Bylund, 2003). A partir de aquí, se realizaron mezclas con diferentes porcentajes de leche tratada y no tratada para emular la formación nativa de los compuestos derivados del tratamiento térmico.

2.2 Determinación química de 5-hidroximetilfurfural

La técnica empleada para la determinación química de *HMF* viene definida por el método de Kenney y Bassette (1959). Después de tratamiento de la muestra se leyó la absorbancia (*A*) a 443 nm.

Para calcular la concentración de *HMF* ($\mu\text{mol L}^{-1}$) se utilizó la siguiente ecuación proporcionada por el método:

$$[HMF](\mu\text{molL}^{-1}) = (A - 0,055) \cdot 87,5 \quad (\text{Ec. 1})$$

2.3 Determinación química de grupos sulfhidrilo

Para la determinación de los grupos sulfhidrilo/tiol (*-SH*) totales en las muestras de leche, se utilizó el método rápido de determinación propuesto por Guingamp et al. (1993). Los resultados se expresaron como concentración de L-cisteína (*M*) mediante una curva de calibrado entre $0-10^{-7}$ M.

2.4 Determinación de fluorescencia

Las determinaciones de fluorescencia correspondientes a los diferentes marcadores evaluados en este estudio (*CM*, *Trp* y *Rb*) se realizaron mediante un espectrofluorímetro de sobremesa (Cary Eclipse Fluorescence Spectrophotometer, Agilent Technologies, Madrid, España) y un accesorio con geometría “*front-face*” (“*Solid Sample Holder Accesory*” y “*Cubete Kit*”, Agilent Technologies), ajustado a un ángulo de incidencia de 35°.

Las longitudes de onda tanto de excitación como de emisión fueron seleccionadas en función del compuesto a determinar, tal y como queda recogido en la **Tabla 1**. El “*slit*” utilizado en todos los casos fue de 5 nm tanto para excitación como para emisión.

Tabla 1 Longitudes de onda de excitación y emisión empleadas para la determinación fluorimétrica de los fluoróforos analizados.¹

<u>Compuesto</u>	<u>Excitación (nm)</u>	<u>Emisión (nm)</u>	<u>Parámetro</u>
<i>CM</i>	330	420	F_{CM}
<i>Trp</i>	290	340	F_{Trp}
<i>Rb</i>	367 – 370 – 450	530	$F_{Rb367}-F_{Rb370}-F_{Rb450}$

¹*CM*: compuestos de Maillard; *Trp*: Triptófano; *Rb*: Riboflavina.

Fuentes: (Dufour y Riaublanc, 1997; Birlouez-Aragon *et al.*, 1998; Wold *et al.*, 2002; Miquel Becker *et al.*, 2003; Schamberger y Labuza, 2006; Bosch *et al.*, 2007).

2.5 Análisis estadístico

Todos los datos fueron procesados y analizados utilizando “*Statistical Analysis System*” (SAS, versión 9.2, 2009, SAS Institute Inc., Cary, NC, EE.UU). Todas las mediciones fueron realizadas por triplicado.

III.RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3. 1 Comportamiento de los marcadores clásicos y de su fluorescencia asociada

El uso de mezclas de leche tratada y no tratada permite evitar el efecto matriz y refuerzan la linealidad de las determinaciones ya que es posible controlar la variación en la concentración de los analitos en su estado nativo en el producto.

Respecto a la concentración de *HMF* se observó un incremento en la concentración proporcional a la cantidad de leche tratada en la mezcla (Fig. 1). Los valores van de no detectado hasta 50 μM , cubriendo el rango de concentraciones esperables en cualquier producto industrial. Estos resultados son coherentes con los descritos en la literatura (Van Boekel, 1998; Hendrickx, 2001) y verifican la linealidad de la técnica. Finalmente, se puede confirmar que con la técnica de análisis de *HMF* es posible hacer un seguimiento del tratamiento térmico en leche. Sin embargo, hay que destacar que se trata de una técnica tediosa, que consume tiempo y reactivos, y que genera diversos residuos. Mediante un análisis de la fluorescencia asociada a los compuestos de Maillard (Fig. 1) se observa la misma tendencia, con un incremento lineal significativo hasta *PLT* inferiores al 60% (correspondiente a aprox 30 μM); se incluirían en este rango la mayoría de tratamientos térmicos que se aplican normalmente sobre el producto. Por encima del 60% de *PLT* se observó una saturación de la señal de fluorescencia que se podría explicar en base al “*efecto de filtro interno*” que se genera en las determinaciones de fluorescencia a concentraciones

altas de analito (Geddes y Lakowicz, 2006).

Se analizó también la concentración de grupos $-SH$, que mostraron una disminución lineal inversamente proporcional a la adición de leche tratada (Fig. 2A). La desnaturalización térmica induce el desplegamiento de las proteínas globulares y los grupos $-SH$ se vuelven accesibles transformándose en oxidables y confiriendo poder reductor a la leche calentada (Singh y Fox, 1985; Haque y Kinsella, 1988). El tratamiento térmico acelera, por tanto, la oxidación de los grupos $-SH$ constituyendo su concentración un índice de la desnaturalización de las proteínas (Miyamoto *et al.*, 2009). En este caso también, aunque los datos son muy relevantes para evaluar el efecto de la temperatura en la leche, la metodología es compleja y no permite la obtención rápida de resultados. Teniendo en cuenta esto y la relación de los grupos $-SH$ con la desnaturalización de las proteínas de la leche, se utilizó la fluorescencia asociada al triptófano en este estudio. En la Fig. 2B, se observa una disminución de la fluorescencia del triptófano proporcional a la cantidad de leche tratada de la mezcla. Este fenómeno se podría explicar porque los cambios en el “ambiente químico” que rodea al *Trp*, asociados al desplegamiento de las proteínas, ejercen un importante efecto en sus propiedades fluorescentes y espectro de emisión (Lakowicz, 2006). De manera que con la desnaturalización de las proteínas de la leche se produciría una disminución en la fluorescencia en el rango de emisión del estudio.

3.2 Correlación entre marcadores químicos y fluorescentes

El comportamiento de la concentración de *HMF* y $-SH$ y de los marcadores fluorescentes relacionados permitió la elaboración de modelos predictivos basados en la información extraída del análisis de fluorescencia.

En el caso de *HMF* (**Tabla 2**), todos los modelos de predicción encontrados fueron altamente significativos ($P < 0,0001$). El mejor modelo de una sola variable (**Tabla 2**, Modelo I) utilizó como predictor la fluorescencia de triptófano, F_{Trp} . Este resultado no es exactamente el esperado ya que se preveía que el modelo de predicción incluyese como principal predictor a los componentes intermedios de Maillard, directamente relacionados con el *HMF*. El mejor modelo de predicción de dos variables (**Tabla 2**, Modelo II) incorporó, también inesperadamente, como predictor fluorescente, además de F_{Trp} , la F_{Rb450} . Finalmente, el mejor modelo de tres variables (**Tabla 2**, Modelo III) empleó como predictores los dos anteriormente mencionados junto a la fluorescencia de los componentes intermedios de Maillard, F_{CM} . Sin embargo el Modelo III, sólo presentó significación ($P < 0,05$) para dos de sus términos de regresión, por lo que se evaluó un modelo mucho más

sencillo, sin ordenada en el origen y con sólo dos predictores (**Tabla 2**, Modelo IV). Dicho modelo incluyó como predictores F_{Trp} y F_{Rb450} , y presentó valores de R^2 y de SEP de 0,94 y $6,55 \mu\text{mol L}^{-1}$.

Para los grupos sulfhidrilo (**Tabla 3**), todos los modelos de predicción de $[-SH]$ encontrados fueron altamente significativos ($P < 0,0001$). El mejor modelo de una sola variable (**Tabla 3**, Modelo I) utilizó como predictor la fluorescencia de triptófano, F_{Trp} . Este resultado es lógico ya que tanto la disminución de los grupos tiol como los cambios de fluorescencia del triptófano originados como consecuencia del daño térmico están claramente asociados al desplegamiento de proteínas del suero como resultado de la desnaturalización de dichas proteínas por el calor.

El mejor modelo de predicción de dos variables (**Tabla 3**, Modelo II) incorporó como predictor fluorescente, además de F_{Trp} , la fluorescencia de los componentes intermedios de Maillard. Este predictor probablemente resulta de una asociación indirecta entre la disminución de grupos $-SH$ y la generación de precursores de color pardo, que tienen lugar a partir de los residuos aminoacídicos y glucídicos presentes en la leche, inducida por la reacción de Maillard, dependiente del tratamiento térmico. Finalmente, el mejor modelo de tres variables (**Tabla 3**, Modelo III) empleó como predictores los dos anteriormente mencionados junto a la fluorescencia de la vitamina B_2 determinada a 367 nm, F_{Rb367} , que aparentemente también podría contener cierta información en relación con la concentración de grupos tiol. Sin embargo el Modelo III, que presenta el mayor R^2 al emplear tres predictores y una ordenada en el origen, no presenta significación ($P \geq 0,05$) para dos de sus términos de regresión, por lo que fue evaluado un modelo mucho más simple y práctico; sin ordenada en el origen y con sólo dos predictores (**Tabla 3**, Modelo IV). Dicho modelo:

$$[-SH]=\beta_1 \cdot F_{\text{Trp}} + \beta_2 \cdot F_{\text{CM}} \quad (\text{Eq.2}),$$

que sólo incluyó como predictores F_{Trp} y F_{CM} , presentó un R^2 de 0,92 y un error estándar de predicción (SEP) de $0,01 \mu\text{mol de L-cisteína L}^{-1}$.

IV.CONCLUSIONES

Estos resultados garantizan la viabilidad de sensores para el control del procesado térmico de la leche basados en fluorescencia en configuración “front-face”, ya que se ha podido demostrar la existencia de correlaciones entre los marcadores clásicos de tratamiento térmico y los datos obtenidos del espectro de fluorescencia de moléculas nativas.

V. TABLAS

Tabla 2. Modelos de predicción de la concentración de HMF mediante marcadores fluorescentes.¹

	Modelo	β_0	β_1	β_2	β_3	R ²	SEP
I**	$[HMF] = \beta_0 + \beta_1 \cdot F_{TTP}$	61,37**	-0,1793**	-	-	0,743	7,941
II**	$[HMF] = \beta_0 + \beta_1 \cdot F_{TTP} + \beta_2 \cdot F_{Rb450}$	-10,64	-0,1712**	1,572*	-	0,827	6,690
III**	$[HMF] = \beta_0 + \beta_1 \cdot F_{TTP} + \beta_2 \cdot F_{Rb450} + \beta_3 \cdot F_{CM}$	29,43	-0,2200**	1,547*	-0,6048	0,841	6,614
IV**	$[HMF] = \beta_1 \cdot F_{TTP} + \beta_2 \cdot F_{Rb450}$	-	-0,1738**	1,3463**	-	0,942	6,545

¹N = 21, R², coeficiente de determinación; SEP, error estándar de predicción corregido para las medias; $\beta_0, \beta_1, \beta_2, \beta_3$, coeficientes de predicción; * modelos o coeficientes de predicción significativos al 95%; ** modelos o coeficientes de predicción significativos al 99,99%. [HMF] concentración de hidroximetilfurfural; F_{TTP}, fluorescencia de triptófano; F_{CM}, fluorescencia de componentes intermedios de Maillard; F_{Rb450}, fluorescencia de riboflavina a una excitación de 450 nm.

Tabla 3. Modelos de predicción de la concentración de grupos -SH mediante marcadores fluorescentes.¹

	Modelo	β_0	β_1	β_2	β_3	R ²	SEP
I**	$[-SH] = \beta_0 + \beta_1 \cdot F_{TTP}$	-0,0103	0,0004**	-	-	0,7140	0,0103
II**	$[-SH] = \beta_0 + \beta_1 \cdot F_{TTP} + \beta_2 \cdot F_{CM}$	0,1435*	0,0002**	-0,0026*	-	0,7789	0,0093
III**	$[-SH] = \beta_0 + \beta_1 \cdot F_{TTP} + \beta_2 \cdot F_{CM} + \beta_3 \cdot F_{Rb367}$	0,1079	0,0002*	-0,0028*	0,0013	0,7935	0,0092
IV**	$[-SH] = \beta_1 \cdot F_{TTP} + \beta_2 \cdot F_{CM}$	-	0,0004**	-0,0002	-	0,9202	0,0101

¹N = 27, R², coeficiente de determinación; SEP, error estándar de predicción corregido para las medias; $\beta_0, \beta_1, \beta_2, \beta_3$, coeficientes de predicción; * modelos o coeficientes de predicción significativos al 95%; ** modelos o coeficientes de predicción significativos al 99,99%. [-SH], concentración de grupos tiol; F_{TTP}, fluorescencia de triptófano; F_{CM}, fluorescencia de componentes intermedios de Maillard; F_{Rb367}, fluorescencia de riboflavina a una excitación de 367 nm. Regresión del modelo IV obtenida sobre valores medios de determinaciones de dos réplicas.

VI.FIGURAS

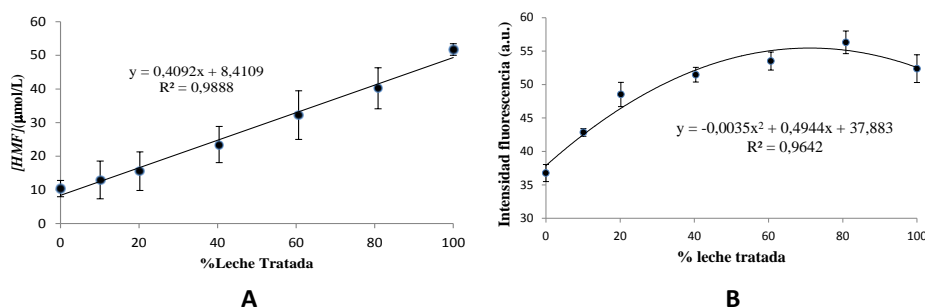


Figura 1.(A) [HMF] expresado en μmol de HMF L^{-1} de leche en función del porcentaje añadido de leche tratada (B) Fluorescencia de compuestos intermedios de la reacción de Maillard en mezclas de leche con distintas [HMF].

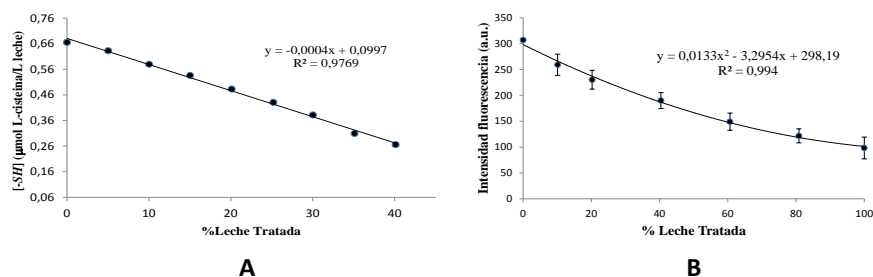


Figura 2.(A) [-SH] expresado en μmol de L-cisteina L^{-1} de leche en función del porcentaje añadido de leche tratada; (B) Fluorescencia de Triptófano en mezclas de leche.

VII.BIBLIOGRAFIA

FAOSTAT, 2011, Food and agricultura organization of the United Nations. Disponible en: <http://faostat.fao.org/site/291/default.aspx>

UE Lex, 2012. Informe de la comisión al parlamento europeo y al consejo. Disponible en: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=COM:2012:0741:FIN:ES:HTML>

Bylund, G. 2003. *Dairy processing handbook*, Tetra Pak Processing Systems AB Lund.Sweden

Claeys, W. L., Ludikhuyze, L. R., y Hendrickx, M. E. 2001. *Journal of dairy research*, 68(2), 287-301.

Hendrickx, M. E. (2001). *Journal of dairy research*, 68, 287-301.

Keeney, M., & Bassette, R. 1959.. *Journal of dairy science*, 42(6), 945-960.

Guingamp, M., Humbert, G., & Linden, G. 1993. *Journal of dairy science*, 76(8), 2152-2155.

Dufour, E., & Riaublanc, A. 1997. *Le Lait*, 77(6), 657-670.

Birlouez-Aragon, I., Nicolas, M., Metais, A., Marchond, N., Grenier, J., & Calvo, D. 1998. *International Dairy Journal*, 8(9), 771-777.

Wold, J. P., Jørgensen, K., & Lundby, F. 2002. *Journal of dairy science*, 85(7), 1693-1704.

Miquel Becker, E., Christensen, J., Frederiksen, C. S., & Haugaard, V. K. 2003. *Journal of dairy science*, 86(8), 2508-2515.

Schamberger, G. P., & Labuza, T. P. (2006). *Journal of Food Science*, 71(2), C69-C74.

Bosch, L., Alegría, A., Farré, R., & Clemente, G. 2007. *Food Chemistry*, 105(3), 1135-1143.

Van Boekel, M. A. J. S. 1998. *Food Chemistry*, 62(4), 403-414.

Geddes, C. D., & Lakowicz, J. R. 2006. *Reviews in Fluorescence 2006*. Springer.

Singh, H., & Fox, P. F. 1985. *Journal of Dairy Research*, 52(4), 529-538.

Haque, Z., & Kinsella, J. E. 1988. *Journal of Dairy Research*, 55(01), 67-80.

Miyamoto, Y., Matsumiya, K., Kubouchi, H., Noda, M., Nishimura, K., & Matsumura, Y. 2009. *Food science and technology research*, 15(6), 631-638.

Lakowicz, J. R. (2009). *Principles of fluorescence spectroscopy*. Springer.

EFFECTO DE LA REFRIGERACIÓN SOBRE LA COAGULACIÓN DE LA LECHE DE CABRAS LECHERAS SUPLEMENTADAS CON ACEITE DE SOJA EN CONDICIONES DE ESTRÉS TÉRMICO

Abdel-Gawad, A.R.^{1,2}, O. Arango¹, S. Hamzaoui³, A.A.K. Salama³, G.Caja³, M. Castillo¹

¹ Centre Especial de Recerca Planta Tecnologia dels Aliments (CERPTA), XaRTA, TECNIO, Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona.

²Dairy Science Department, Faculty of Agriculture, Fayoum University, Fayoum, Egypt.

³Grup de Recerca en Remugants (G2R), Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona.

Autor para correspondencia: ahmed.rabiea@uab.cat

RESUMEN

La reducción del rendimiento quesero y de la calidad de la leche son preocupaciones importantes de la industria quesera. El estrés por calor en las cabras afecta de forma negativa a la calidad de la leche y del queso producido con ésta. Además, la leche a menudo se almacena a temperatura de refrigeración durante algunos días antes de la fabricación del queso, y no está claro el efecto que tendría la refrigeración sobre la coagulación de la leche en cabras bajo estrés térmico en comparación con animales control. Para esta investigación se obtuvo leche de ocho cabras Murciano-Granadinas bajo condiciones de termoneutralidad (TN) o de estrés térmico (HS). En cada grupo, las cabras recibieron alimentación suplementada con aceite de soja al 3% (S) en base seca o sin suplementación (C). Los tratamientos fueron por tanto TN-C, TN-S, HS-C, y HS-S. Durante el experimento, las cabras se mantuvieron en jaulas metabólicas durante períodos de 19 días. En el primer día del experimento, se recogió leche, que fue pasteurizada y refrigerada a 4°C. La coagulación de la leche a 32°C inducida usando cuajo animal, se monitorizó mediante dispersión de luz de infrarrojo cercano (NIR) y un reómetro. Los tiempos de coagulación y de corte de la cuajada se evaluaron visualmente. La suplementación con soja produjo un aumento significativo de la velocidad de coagulación, que se tradujo en disminución de los indicadores ópticos, reológicos y visuales de coagulación. El tiempo de almacenamiento de la leche en refrigeración provocó una disminución significativa ($P < 0,05$) en la velocidad de coagulación de la leche. El día 4 de almacenamiento, la velocidad de coagulación de la leche alcanzó un mínimo comenzando a aumentar ligeramente. Por último, la leche de animales sometidos a estrés por calor coaguló más lentamente ($P < 0,05$) que la de los animales control. Los resultados sugieren que tanto la administración de suplementos de aceite de soja como el

estrés por calor tienen un impacto, que tendría que ser considerado en fabricación de queso de cabra.

Palabras clave: calidad de la leche, estrés térmico, queso de cabra, suplementación, NIR.

1. INTRODUCCIÓN

La productividad y la eficiencia animal son influidas significativamente por factores ambientales. La temperatura ambiente por encima de la zona neutral térmica es perjudicial para la lactancia, el crecimiento y la reproducción de todas las especies de importancia pecuaria, pero los efectos sobre la industria láctea son económicamente más graves (St. Pierre et al., 2003). La reducción de los ingresos asociados con el estrés por calor no es sólo una consecuencia de la disminución en la producción de leche, sino que también incluye impedimentos de reproducción, aumento de los costos de atención de salud, y la reducción de la calidad de la leche. A pesar de los notables avances en el diseño de la construcción de las instalaciones de alojamiento de los animales y la tecnología de refrigeración, el estrés por calor sigue siendo un problema muy costoso para la industria láctea. Cabras lecheras bajo condiciones de estrés calórico producen leche con menos concentración de grasa y esto parece estar también relacionado con el ratio forraje/concentrado de la dieta (Beede and Collier, 1986). Cabras lactantes expuestas a condiciones de estrés por calor pueden producir leche con menor concentración de sólidos no grasos, posiblemente debido a una síntesis reducida de proteína microbiana en el rumen y menor ingesta proteínica debido a baja ingesta de materia seca (DM). El contenido de sólidos no grasos se reduce debido al estrés por calor. Estas disminuciones en el porcentaje de proteína de la leche debido pueden ser debidas al descenso de la síntesis de proteína microbiana en el rumen y al bajo nivel de ingesta de proteínas (M. L. Rhoads et al 2009). En un intento de compensar la reducción de la concentración de grasa de la leche, la alimentación de cabras bajo condiciones de estrés por calor se suplementó con aceite de soja. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto potencial que ambos factores, el estrés por calor y la suplementación con aceite de soja, pueden ejercer sobre la aptitud para la coagulación de la leche.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Diseño experimental

Se utilizaron ocho cabras de raza Murciano-Granadina mantenidas en jaulas metabólicas en un diseño de cuadro latino con 4 réplicas, en períodos de 19 días (14 días de

adaptación al tratamiento y 5 para las mediciones). Las cabras fueron asignadas al azar a uno de los 4 tratamientos en un arreglo factorial. Los factores fueron no suplementación (C) o suplementación con 3% (en base seca) de aceite de soja (S) en condiciones de neutralidad térmica (TN) o de estrés por calor (HS). Esto dio lugar a 4 combinaciones de tratamiento: TN-C, TN-S, HS-C, y HS-S. La leche se recogió en el primer día del período de medición de 5 días. Inmediatamente después de la recogida, la leche se pasteurizó, se agitó y se distribuyó en recipientes de 500 mL que se mantuvieron a 4 °C hasta su uso, para la evaluación del efecto del almacenamiento refrigerado en la coagulación de la leche. Las muestras de leche se coagularon a 32 °C usando cuajo animal (250 mg · L⁻¹).

2.2 Determinación óptica del tiempo de coagulación y de corte

Una aplicación interesante de la tecnología de sensores de dispersión de luz en la coagulación de la leche ha sido propuesta recientemente por Castillo et al. (2004). Estos autores mostraron una interacción significativa entre la cinética de coagulación (parámetros de dispersión de luz) y la cinética de sinéresis durante la fabricación de queso. Afirmaron que un sensor que tuviera la capacidad de controlar el contenido de humedad de la cuajada tendría un gran impacto en la producción de queso en el mundo en términos de calidad del producto, consistencia y eficiencia de la producción. El sensor óptico propuesto mide el cambio en la intensidad de la dispersión de radiación NIR (880 nm) utilizando dos fibras ópticas espaciadas 0,7 mm entre sí. La luz de un diodo emisor de luz (LED) se transfiere a la leche mediante una fibra óptica, mientras que la luz dispersada por la leche se transmite a través de una fibra adyacente a un detector **óptico (TSL 245, Taos, Dallas, TX, EE.UU.) (Figura 1)**.

2.3 Determinación de los tiempos de gelificación y de corte reológicos

Se utilizó reometría oscilatoria de pequeña amplitud (SAOR) con un Reómetro Dinámico Universal (Thermo Haake GmbH, Karlsruhe, Alemania) acoplado a un baño de agua para el control preciso de la temperatura y conectado a un compresor 106/E (FIAC SPA, Bolonia, Italia). Se utilizó un sensor de cilindros concéntricos (Z34) con diámetros de 34 mm y 36,88 para los cilindros interior y exterior respectivamente. Las pruebas se llevaron a cabo mediante la aplicación de una deformación del 3%, que está dentro de la región viscoelástica lineal para geles de coagulación enzimática (Zoon et al., 1988) y una frecuencia de 1 Hz. Una alícuota de 40 mL de leche con enzima se transfirió al sistema de medición (cilindro del reómetro) que se precalentó a la temperatura del ensayo. Una capa delgada de aceite vegetal se añadió en la superficie de la leche expuesta para evitar el enfriamiento por evaporación. Los datos reológicos se recogieron cada 25 s con el software 3 Rheowin Job Manager

instalado en un ordenador conectado al reómetro. Los parámetros reológicos que se determinaron fueron el módulo elástico o de almacenamiento (G'), el módulo viscoso o de pérdida (G'') y $\tan \delta$ ($\tan \delta = G'' / G'$). El tiempo de gelificación (t_{gel}) se definió como el tiempo cuando los geles alcanzaron un $G' \geq 1 \text{ Pa}$, mientras que el tiempo de corte (t_{cut}) se definió como el tiempo cuando los geles alcanzaron un $G' \geq 30 \text{ Pa}$ (van Marle y Zoon, 1995; Nicolau et al., 2010).

2.4 Determinación del tiempo de agregación visual

El tiempo de agregación visual (t_{clot}) se determinó utilizando una espátula que se introdujo en el gel hasta que se observó la aparición de pequeñas partículas de caseína en la superficie de la espátula.

2.5 Análisis estadístico

El análisis de la varianza (ANOVA) se realizó mediante el modelo lineal general (GLM) del Sistema de Análisis Estadístico (SAS ® 9.2.3 2009). Los coeficientes de correlación de Pearson (r), se determinaron con el procedimiento (CORR) de SAS ®. Las medias de mínimos cuadrados (LSMEANS) y la importancia de cada tratamiento se calcularon utilizando la suma de cuadrados tipo IV (Tipo IV SS). Las medias de los tratamientos se consideraron estadísticamente diferentes a $P < 0,05$. Se analizaron regresiones lineales en los datos recopilados para la predicción de algunas variables dependientes como t_{clot} , t_{gel} , t_{cut} , $t_{G'30}$, $t_{G'60}$, t_{firm} y $\tan \delta$ usando los procedimientos máximo R^2 , GLM, y no lineales (NLIN) de SAS ®, con las variables independientes en combinación con parámetros generados a partir del perfil de dispersión de luz tales como t_{max} , t_{2max} , t_{2min} , t_{2max2} y t_{2min2} y parámetros calculados tales como t_{maxX} (t_{max} por X), donde X podría ser la concentración de proteína (P), de grasa (F), la proporción de grasa a proteína (FP) o la temperatura (T).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se llevó a cabo un análisis de la varianza para determinar las principales fuentes de variación en las variables dependientes estudiadas. En el anova preliminar (Tabla 1) se seleccionaron como efectos principales los siguientes: leche de cabras bajo estrés térmico, leche de cabras suplementadas con aceite de soja, días de almacenamiento (días) y la variable cualitativa “período”. En este trabajo sólo se discute el efecto de la suplementación con aceite de soja y del tiempo de refrigeración, ya que el efecto del estrés térmico ha sido presentado en un trabajo previo (Abdelgawad et al, 2011).

3.1 Efecto de la suplementación con aceite de soja en la coagulación de la leche

Las medias de mínimos cuadrados de los parámetros de tiempo ópticos, reológicos y visual obtenidos durante la coagulación de leche de cabra suplementadas y no suplementadas con aceite de soja se presentan en la Tabla 1. Todos los parámetros relacionados con la coagulación de la leche, el tiempo de corte y la sinéresis de la cuajada se vieron afectados por la suplementación con aceite de soja. Se observó que la leche de las cabras suplementadas con aceite de soja tuvo tiempos de coagulación y de corte más cortos que la leche de cabras sin suplementación.

3.2 Efecto del tiempo (días) de almacenamiento en la coagulación de la leche

Los LSM de los parámetros ópticos de tiempo, reológicos y visuales en función del tiempo de almacenamiento (días) se presentan en la Tabla 1. Todos los parámetros relacionados con la coagulación de la leche y el tiempo de corte fueron afectados por el tiempo de almacenamiento. Se observó que al aumentar el tiempo de almacenamiento hasta el tercer día todos los parámetros aumentaron, pero en el cuarto día todos los parámetros comenzaron a disminuir, posiblemente debido al crecimiento bacteriano en la leche (Figura 2).

4. CONCLUSIONES

Los resultados muestran que la leche de los animales bajo efecto de estrés térmico y suplementados con aceite de soja coagula más rápido que la leche de los animales bajo estrés térmico no suplementados. También los resultados muestran que con el aumento del tiempo de almacenamiento de la leche en refrigeración, se observa un incremento en el tiempo de coagulación hasta el día 3 y una posterior disminución a partir de dicho día. Los resultados sugieren que los factores evaluados tienen un impacto en la coagulación de la leche, que tendría que ser considerado en las operaciones de fabricación de queso.

BIBLIOGRAFICA

Abdel-Gawad, A.R., S. Hamzaoui, A.A.K. Salama, G.Caja, B. Guamis, M. Castillo. Light backscatter evaluation of milk coagulation properties in dairy goats supplemented with soybean oil under heat stress conditions, *XI International Conference on Goats*, September, 2011, 19-21, Canary Islands, Spain

Beede, D. K., and R. J. Collier. 1986. Potential nutritional strategies for intensively managed cattle during thermal stress. *Journal of Animal Science*. 62:543–554.

Rhoads, M. L., Rhoads, R. P., VanBaale, M. J., Collier, R. J., Sanders, S. R., Weber, W. J., Crooker, B. A. Effects of heat stress and plane of nutrition on lactating Holstein cows: I. Production, metabolism, and aspects of circulating somatotropin and L. H. Baumgard. *Journal of Dairy Science*. 92 1986-1992

St-Pierre, N.R., B. Cobanov, and G. Schmitkey. 2003. Economic losses from heat stress by U.S. livestock industries. *Journal of Dairy Science*. 86:(E. Suppl.):E52-77.

Van Hooydonk A.C.M., and Van Den Berg G., Control and determination of the curd -setting during cheesmaking, Brussels, Belgium: *International Dairy Federation*,1988 Bulletin 225.

Van Marle M. E., and Zoon P., Rheological properties microbially and chemically acidified skim-milk gels, *Netherlands Milk and Dairy Journal*, 49. 1995, 4765.

Zoon P., Van Vilet T., and Walstra P., Rheological properties of rennet induced skim milk gels. 2. The effect of temperature, *Netherlands Milk and Dairy Journal*, 42. 1988, 271-294.

Table 1. Influencia de los efectos principales en las variables ópticas, visuales y reológicas¹.

Modelo	<i>Cabras suplementadas</i>		<i>Días</i>			
	LSM		LSM			
Parámetro	Suplementadas	Control	1	2	3	4
<i>V0</i>	1.570 ^a	1.446 ^b	1.521 ^a	1.505 ^b	1.510 ^{bc}	1.496 ^{bd}
<i>t_{max}</i>	13.85 ^a	18.03 ^b	14.85 ^a	16.35 ^b	16.69 ^b	15.85 ^b
<i>t_{2min}</i>	15.66 ^a	19.90 ^b	16.75 ^a	18.07 ^b	18.58 ^b	17.72 ^b
<i>t_{clot}</i>	15.83 ^a	21.23 ^b	17.18 ^a	18.35 ^b	19.33 ^c	19.23 ^c
<i>t_{gel}</i>	19.05 ^a	24.84 ^b	20.60 ^a	22.51 ^{bc}	22.96 ^b	21.7 ^{ac}
<i>t_{cut}</i>	28.47 ^a	36.04 ^b	27.57 ^a	31.66 ^b	36.15 ^b	33.64 ^b
<i>t_{G30}</i>	33.92 ^a	41.41 ^b	33.69 ^a	39.19 ^b	39.52 ^b	38.27 ^b

¹Número de observaciones, N=64;. Medias de mínimos cuadrados (LSM) con las mismas letras no son significativamente diferentes P<0.05.

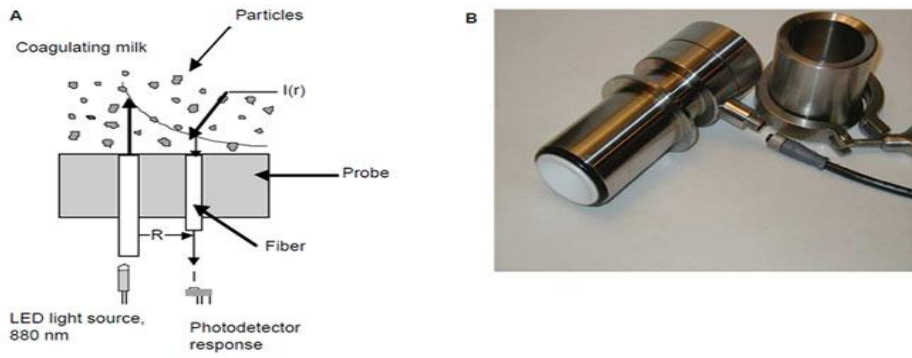


Figura 1. Origin of the sensor signal dispersion in milk during coagulation. According to Payne and Castillo (2007).

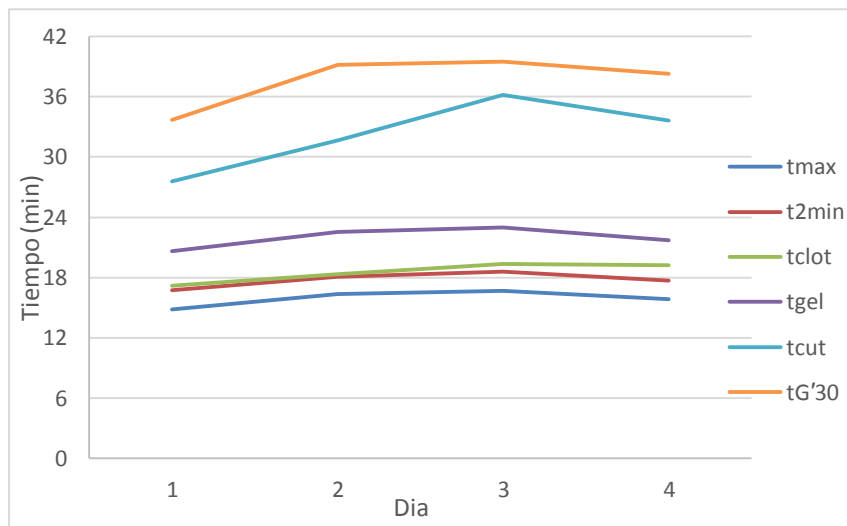


Figura 2. Efecto del tiempo de almacenamiento en refrigeración sobre la coagulación de la leche

INACTIVACION DE PECTINMETILESTERASA Y PEROXIDASA EN TRITURADO DE NARANJA MEDIANTE PULSOS ELÉCTRICOS DE ALTA INTENSIDAD DE CAMPO

González-Maldonado A. J., Mújica-Paz H., Welti-Chanes J., Valdez-Fragoso A.

Escuela de Biotecnología y Alimentos, Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey, Av. Eugenio Garza Sada Sur 2501 Col. Tecnológico, Monterrey N.L. CP 64849, México *a.valdez@itesm.mx

INTRODUCCIÓN

En la producción de jugo de naranja se generan grandes cantidades de cáscaras que, por su alto contenido en compuestos funcionales se pueden mezclar con jugo de naranja para preparar un triturado utilizado como base de bebidas refrescantes, con alto valor funcional y sensorial (Escobedo-Avellaneda et al., 2012). Sin embargo, las cáscaras tienen también enzimas deteriorativas como la peroxidasa (POD), que provoca cambios oxidativos y sensoriales, y la pectin metilesterasa (PME), que hidroliza la pectina causando la precipitación de la pulpa y la pérdida de turbidez de las bebidas (Rothschild y Karsenty, 1974).

Las enzimas PME y POD requieren de altas temperaturas (~90°C) para su inactivación, lo que deteriora las propiedades sensoriales y nutritivas de las bebidas. Una alternativa al tratamiento térmico es la aplicación de pulsos eléctricos de alta intensidad de campo (PEAIC), tratamiento no térmico que busca inactivar enzimas, sin afectar la calidad organoléptica del producto (Van-Loey et al., 2001).

El efecto de los PEAIC en la actividad enzimática depende del tipo de enzima, de las variables de operación del proceso (frecuencia, intensidad de pulso, ancho de pulso, etc.) y de las características del alimento (composición, conductividad eléctrica, etc.) (Yeom et al., 2002; Martín-Belloso & Eléz-Martínez, 2005; Eléz-Martínez et al., 2006). Se ha reportado que los pulsos eléctricos de alta intensidad de campo pueden inactivar parcial o totalmente las enzimas y en algunos casos incrementar su actividad en diversos vegetales y en jugo de naranja (Leong y Oey, 2014; Eléz-Martínez et al., 2003, Van-Loey et al., 2001). Sin embargo, no se ha reportado el efecto de la aplicación de PEAIC en enzimas presentes en mezclas de cáscara/jugo de naranja. Por ello, el objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de la aplicación de PEAIC sobre la actividad de la PME y la POD iónica y soluble en triturado de naranja.

MATERIALES Y MÉTODOS

Análisis fisicoquímico. Se preparó una mezcla de cáscara/jugo de naranja en una relación 30/70 (p/p) y se midió por triplicado la conductividad eléctrica (conductímetro Hanna Ec.215, Rumania) a 20 °C, el pH (potenciómetro Thermo scientific, Orion 3 start, Singapur), los sólidos solubles (refractómetro digital Atago 01148, USA) y la acidez total (AOAC, 1998).

Tratamiento de las muestras. El triturado de naranja se trató en un equipo ELCRACK-HVP 5, Alemania. Se utilizó un diseño experimental con dos variables numéricas: ancho de pulso de 25 y 30 μ s y frecuencia de 100 y 200Hz, y una variable categórica con un nivel de intensidad de campo eléctrico alto (22.14 kVcm^{-1}) y uno bajo (18.99 kVcm^{-1}) aplicados como se muestra en la Tabla 1.

Medición enzimática. Los extractos de la PME del triturado de naranja se obtuvieron por extracción salina de acuerdo al procedimiento descrito por Şebnem & Ahmet (2010). La medición de la actividad de la PME se realizó por titulación potenciométrica utilizando el método reportado por Kimball (1999).

La extracción de la POD iónica y soluble se realizó de acuerdo al método descrito por Eléz-Martínez et al., (2006) y la actividad de estas enzimas, se midió usando la técnica espectrofotométrica reportada por Cano et al., (1997).

Para cada enzima se reporta el promedio de 7 mediciones y la actividad se expresa como % de actividad residual (%AR=actividad enzimática en las muestras tratadas/ actividad enzimática de la muestra no tratada o control*100). Los valores de %AR son adimensionales y van de 0 (si no se detecta actividad de la enzima) a 100% cuando la enzima después de tratamiento conserva su actividad inicial (Marsellés-Fontanet y Martín-Belloso, 2007).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como resultado de la aplicación de los PEAIC al triturado de naranja se observó un incremento de temperatura del mismo. Pero, dado que la temperatura después de los tratamientos fue siempre menor a 43°C se puede considerar a los tratamientos como no térmicos (Espachs-Barroso et al., 2006) y el efecto observado sobre la actividad de la enzima se puede atribuir a los PAIC aplicados a las muestras.

El triturado de naranja tuvo un pH de 3.97 ± 0.02 , un contenido de sólidos solubles totales de 13.9 ± 0.10 °Brix y una acidez total de 0.49 ± 0.11 g ácido cítrico/100 g muestra. La conductividad eléctrica de la mezcla cáscara/jugo de naranja a 20 °C fue de 0.306 ± 0.06 S m^{-1} , similar a la reportada por Loeffler (2006) para jugo de naranja.

La actividad enzimática inicial de la PME en el triturado de naranja fue de 1.07 ± 0.07 $\mu\text{eq min}^{-1} \text{ml}^{-1}$, mientras que la de la POD soluble fue de 2.64 ± 0.1 $\Delta\text{Abs min}^{-1} \text{ml}^{-1}$ y la de la POD iónica fue de 0.94 ± 0.07 $\Delta\text{Abs min}^{-1} \text{ml}^{-1}$.

Del análisis estadístico de los resultados se observó que intensidad de campo (variable categórica) y la frecuencia y el ancho de pulso (variables numéricas), así como la interacción de estas dos últimas tuvieron efecto significativo ($p < 0.05$) sobre la actividad de las tres enzimas estudiadas.

En este estudio la actividad residual de las enzimas POD y PME disminuyó con todos los tratamientos aplicados. En las Fig. 1 y 2 se muestra el efecto de la aplicación de PEAIC en la inactivación de las enzimas POD iónica y soluble y PME.

En la Fig. 1a y Fig. 1b se observa que cuando el triturado de naranja se trató con un nivel alto de intensidad de pulso (22.1 kV cm^{-1}), un ancho de pulso ($30 \mu\text{s}$) y una frecuencia de (200 Hz) se obtuvo la más alta inactivación de las enzimas POD iónica y soluble. Se observa también que la POD iónica cuya AR fue de 34% fue más sensible al tratamiento que la soluble que presentó una AR de 43% en esas condiciones de tratamiento.

La intensidad de campo eléctrico (22.14 kVcm^{-1}), con la que se logró el porcentaje de inactivación más alto de ambas fracciones de la POD, es menor a la intensidad de campo eléctrico utilizada en otros estudios como el reportado por Van-Loey et al., (2001), quienes con pulsos de 30 kVcm^{-1} aplicados durante 40 ms en suspensión acuosa de rábano se logró una inactivación de la POD menor del 10%.

Por otra parte, la actividad enzimática de la PME alcanzó un alto porcentaje de inactivación (84%) cuando el triturado de naranja se procesó con un nivel alto de intensidad de campo eléctrico (22.14 kVcm^{-1}), un ancho de pulso de $30 \mu\text{s}$ y una frecuencia de 200 Hz (Fig. 2).

Van-Loey et al., (2001) reportaron una inactivaron $< 10\%$ de la PME de cáscara de naranja en suspensión acuosa cuando aplicaron 30 kVcm^{-1} durante un tiempo de tratamiento de 40 ms.

Por su parte, Yeom et al. (2002) en jugo de naranja lograron una inactivación de la PME de 88% con un tiempo de tratamiento de $59 \mu\text{s}$ y 35 kVcm^{-1} , similar al 80 % de inactivación de PME en jugo de naranja procesado con una intensidad de campo de 35 kVcm^{-1} , ancho de pulso de $4 \mu\text{s}$ y 200 Hz de frecuencia reportada por Eléz-Martínez et al., (2003).

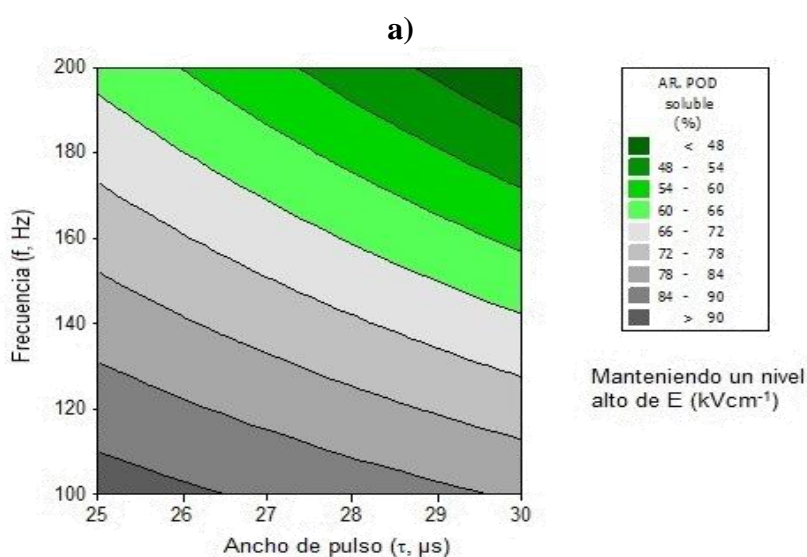
CONCLUSIONES

Este estudio mostró que la aplicación de PEAIC redujo la actividad de las enzimas POD iónica y soluble y de la PME presentes en la mezcla de cáscara/jugo de naranja. La intensidad de campo eléctrico, la frecuencia, y ancho de pulso tuvieron efecto significativo en la actividad de las enzimas. El tratamiento con un ancho de pulso de 30 μs , frecuencia de 200 Hz y nivel alto de intensidad de campo eléctrico (22.1 kW cm^{-1}), generó el más alto porcentaje de inactivación enzimática. La PME con una AR=16% fué la enzima más sensible al tratamiento de PEAIC seguida de la fracción soluble de la POD con una AR=33% y de la fracción iónica de la POD con una AR=43%).

FIGURAS Y TABLAS

Tabla 1. Tratamientos de pulsos eléctricos de alta intensidad de campo aplicados al triturado de naranja

	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
Intensidad de campo (E , kVcm^{-1})	Baja	Alta	Baja	Alta	Baja	Alta	Baja	Alta
Ancho de pulso (τ , μs)	25	25	30	30	25	25	30	30
Frecuencia de pulso (f , Hz)	100	100	100	100	200	200	200	200



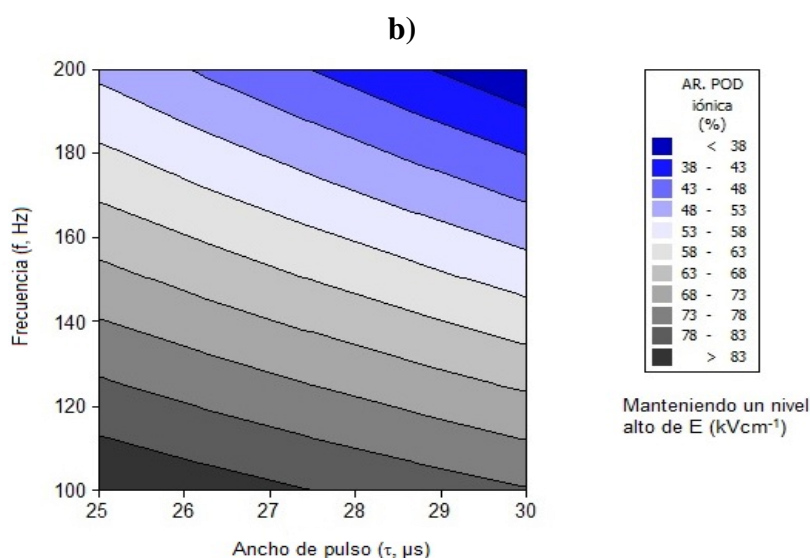


Figura 1. Efecto de τ y f en la actividad residual de la fracción soluble (a) y iónica (b) de la POD en triturado de naranja tratado con una intensidad de campo de 22.14 kV cm^{-1} .

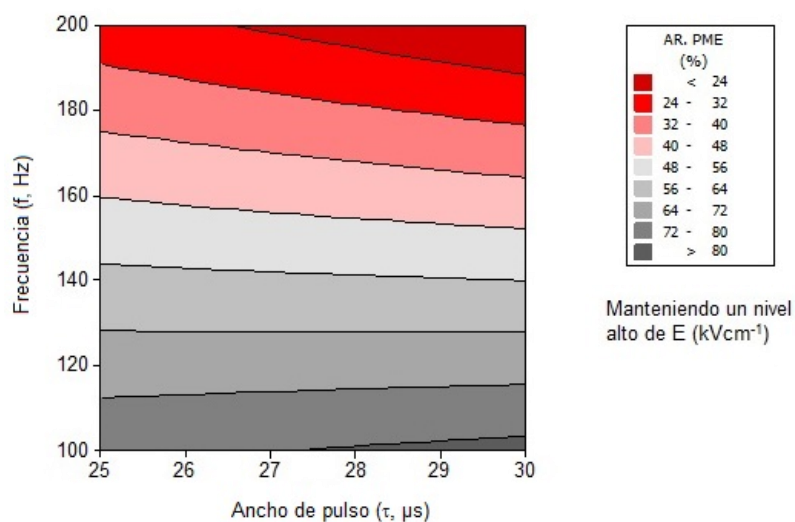


Figura 2. Efecto de τ y f en la actividad residual de la PME en triturado de naranja tratado con una intensidad de campo de 22.14 kV cm^{-1} .

BIBLIOGRAFÍA

- AOAC. *Official Methods of Analysis 942.15*. (1998). Acidity (titratable) of fruit products. Washington, D.C: Association of Official Analytical Chemists.
- Cano, M., Hernández, A. & De Ancos, B. (1997). High pressure temperature effects on enzyme inactivation in strawberry and orange products. *Journal of Food Science*, 62(1), 85-88.

- Eléz-Martínez, P., Aguiló-Aguayo, I. & Martín-Belloso, O. (2006). Inactivation of orange juice peroxidase by high-intensity pulsed electric fields as influenced by process parameters. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(1): 71-81.
- Eléz-Martínez, P., Aguiló-Aguayo, I., Barbosa-Cánovas, G. V. & Martín-Belloso, O. (2003). Inactivation of peroxidase in orange juice processed by high intensity pulsed electric fields. *Proceedings Workshop on Nonthermal Food Preservation*, 40-42.
- Escobedo-Avellaneda, Z., Serment-Moreno, V., Valdez-Fragoso, A., Mújica-Paz, H. & Welti-Chanes, J. (2012). Phytochemicals and antioxidant activity of comminuted orange (*Citrus sinensis* L.). <http://www.icef11.org/content/papers/fpe/fpe599.pdf>, recuperado el 7 de enero de 2013.
- Espachs-Barroso, A., Van-Loey, A., Hendrickx, M. & Martín-Belloso, O. (2006). Inactivation of plant pectin methylesterase by thermal or high intensity pulsed electric field treatments. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 7: 40 -48.
- Kimball, D. A. (1999). *Citrus processing: a complete guide*. pp 450, Aspen Publishers, Inc. Gaithersburg, Maryland.
- Leong, S. Y. & Oey, I. 2014, Effect of pulsed electric field treatment on enzyme kinetics and thermostability of endogenous ascorbic acid oxidase in carrots (*Daucus carota* cv. Nantes). *Food Chemistry*, 46(1): 538-547.
- Loeffler, M.J. (2006). Generation and application of high intensity pulsed electric fields. In: Barbosa-Canovas, G.V. (Ed.) *Pulsed Electric Fields Technology for the Food Industry: Fundamentals and applications*, pp 26-33, USA, Springer.
- Marsellés-Fontantel, A. & Martín-Belloso, O. (2007). Optimization and validation of PEF processing conditions to inactivate oxidative enzymes of grape juice. *Journal of Food Engineering*, 83:452-462-
- Martín-Belloso, O. & Elez-Martínez, P. (2005). Enzymatic inactivation by pulsed electric fields. In: Wen Sun, D. (Ed.). *Emerging Technologies for Food Processing*, 155-181. Academic Press Ireland.
- Rothschild, G. & Karsenty, A. (1974). Influence of holding time before pasteurization, pasteurization and concentration on the turbidity of citrus juices. *Journal of Food Science*, 39(5): 1042-1044.
- Şebnem, Ş. & Ahmet, Y. (2010). Commercially suitable pectin methylesterase from Valencia orange peels. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 34: 109-119.
- Van-Loey, A., Verachtert, B. & Hendrickx, M. (2001). Effects of high electric field pulses on enzymes. *Trends in Food Science and Technology*, 12(3-4): 94-102.
- Yeom, H., Zhang, Q. & Chism, G. (2002). Inactivation of pectin methyl esterase in orange juice by pulsed electric fields. *Journal of Food Science*, 67(6): 2154-2159.

DESNATURALIZACIÓN DE LAS PROTEÍNAS DEL SUERO EN LECHE DESNATADA RECONSTITUIDA: DISPERSIÓN DE LUZ Y TAMAÑO DE LA MICELA DE CASEÍNA EN FUNCIÓN DEL PH Y LA TEMPERATURA DE TRATAMIENTO

Taterka^{1*}, H., Castillo, M¹.

¹Centre Especial de Recerca Planta de Tecnologia dels Aliments (CERPTA), XaRTA, TECNIO, Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193-Bellaterra, Spain.

*Autor para correspondencia: HeatherMichelle.Taterka@uab.cat

1. INTRODUCCIÓN

El tratamiento térmico de la leche es un proceso esencial en la industria láctea que puede dar lugar a la desnaturalización parcial de las proteínas de suero. Como resultado, los grupos sulfhidrilo (-SH) quedan disponibles y pueden unirse a la superficie de las micelas de caseína. Esta asociación puede afectar a las propiedades funcionales de la leche ejerciendo efectos relevantes en el procesado posterior de la leche para la elaboración de derivados lácteos tales como queso y yogur entre otros.

En la leche tratada térmicamente, varios factores pueden contribuir al grado de desnaturalización de las proteínas del suero, tales como el tiempo de tratamiento, la temperatura, el pH y la concentración, estructura y susceptibilidad térmica de las proteínas (Singh, 2004). Un mayor grado de desnaturalización expone grupos sulfhidrilo que de otro modo estarían ocultos dentro de la estructura proteica, ocasionando uniones entre micelas de caseína y/u otras interacciones proteína-proteína. Para que las proteínas de suero de leche (WP) se unan a las micelas de caseína deben ocurrir dos etapas. En la primera, la β -lactoglobulina (β -lg) debe desplegarse para exponer sus grupos (-SH), luego la proteína debe formar un puente disulfuro con la κ -caseína (κ -CN) de la superficie micelar. Después del tratamiento térmico, y una vez que las interacciones proteína-proteína han tenido lugar, la matriz láctea contiene tres tipos de proteínas del suero: proteínas del suero nativas, agregados solubles de proteínas del suero y agregados que han formado una asociación en la superficie de la micela de caseína.

La unión de proteínas del suero produce un aumento en el tamaño de las micelas de caseína (incremento de hasta 30-35 nm de diámetro) de la leche tratada térmicamente en comparación con la leche sin tratar (Anema and Li, 2003a). Adicionalmente, se ha observado que la unión de proteínas del suero a las micelas de caseína depende del pH, encontrándose un máximo de unión a pH 6,3 y un mínimo a pH de aproximadamente 7,1 (Figura 1)

(Kethireddipalli et al., 2010, Vasbinder and de Kruif, 2003). Como consecuencia, se ha observado que a un bajo pH la leche presenta un mayor cambio en el tamaño de partícula comparado con el que se produce a pHs más altos. Este fenómeno también depende de la temperatura de tratamiento térmico, ya que se ha observado un mayor aumento del tamaño de partícula cuando las temperaturas de tratamiento son más altas, como consecuencia de un mayor grado de desnaturalización de las proteínas del suero (Anema et al., 2004, Vasbinder et al., 2003).

Se ha encontrado que la luz dentro del rango espectral de 200-1100 nm es dispersada por las micelas de caseína presentes en la leche. Por consiguiente, se han desarrollado mediciones de dispersión de luz con el fin de modelizar el grado de desnaturalización de las proteínas del suero de la leche durante los tratamientos térmicos, asumiendo que las proteínas de suero desnaturalizadas se unen a las micelas de caseína y que esto resulta en un cambio en el tamaño de micela (Lamb et al., 2013). Es por tanto, de gran interés investigar más a fondo la relación entre las medidas ópticas de dispersión de luz y los cambios de tamaño de las partículas de caseína resultantes de la unión de las proteínas de suero desnaturalizadas a la superficie micelar en función del pH de la leche, como consecuencia del amplio potencial de aplicabilidad que dicho fenómeno de interacción puede presentar en el procesado de la leche y los productos lácteos.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Reconstitución de la leche y ajuste del pH

Se reconstituyó leche desnatada en polvo (Chr. Hansen, Barcelona, España) en agua Mili - Q hasta un contenido final de sólidos de 12 % (*p/p*). El pH de la leche se ajustó, a 21°C, a 6,3; 6,7 y 7,1 usando HCl 0,5 M o NaOH 0,5 M. La mezcla, se agitó bien y luego se dejó equilibrar durante al menos 2 h en un lugar oscuro, antes de la lectura final del pH para la realización posterior de reajustes menores, en caso necesario.

2.2 Tratamiento térmico

Para minimizar los tiempos de calentamiento y enfriamiento, se diseñó un sistema que consta de dos placas rectangulares finas de acero inoxidable con separación de 6 mm en medio de las cuales se depositaron 80 mL de leche tras el reajuste final de pH. El tratamiento térmico se realizó introduciendo el sistema dentro de un baño termostático a 80 o 90°C durante 10 min al final de los cuales fue retirado y puesto en agua con hielo durante 3 min. Cada tratamiento se llevó a cabo por triplicado.

2.3 Sistema óptico y mediciones

Los principales componentes del sensor óptico empleado fueron una fuente de luz halógena de tungsteno (LS- 1, Ocean Optics, Inc. Dunedin, FL, EE.UU.), dos cables de fibra óptica con un diámetro de 0,8 mm que conectan el sensor óptico a la fuente de luz y al detector, y un sistema de detección de alta resolución constituido por un espectrómetro miniatura de fibra óptica (modelo HR4000, Ocean Optics, Inc. Dunedin, FL, EE.UU.) con un ancho de banda de detección de 200 a 1100 nm. El sistema óptico se configuró para medir la dispersión de luz (reflectancia a 180°). Los perfiles espectrales se generaron utilizando el software Spectra Suite (Ocean Optics, Inc. Dunedin, FL, EE.UU.).

La cubeta de medida consistió en un cilindro de 2,54 cm de diámetro, con capacidad de 20 mL y con la sonda de fibra óptica de detección ubicada en ángulo de 180°. Aunque los espectros de emisión fueron recogidos en el rango espectral de 200 a 1100 nm, sin embargo, para el propósito de este estudio, sólo se consideró la intensidad máxima (aproximadamente a 570 nm).

2.4 Determinación del tamaño de partícula

El tamaño de partícula se midió utilizando un analizador de tamaño de partícula Malvern Zetasizer 4 (Malvern Instruments Ltd., Malvern, Worcs, Reino Unido) a $20 \pm 0,5^\circ\text{C}$. El ángulo de detección se fijó en 90° y las muestras se suspendieron en un tapón Ca/imidazol (imidazol 20 mM, CaCl_2 5 mM, NaCl 30 mM, pH 7,0) a una concentración de 1:2 con el fin de suspender adecuadamente las micelas de caseína y asegurar su estabilidad durante las mediciones (Anema, 1997, Anema and Li, 2003^a, Anema et al., 2004).

2.5 Fraccionamiento de los componentes de la leche

Las proteínas de suero nativas fueron fraccionadas de la leche usando precipitación inducida por ácido mediante el ajuste del pH de la leche a 4,6 adicionando una solución 2 M de HCl gota a gota con agitación continua. Después de 20 min a temperatura ambiente, la leche con el pH ajustado se transfirió a un tubo de centrífuga y se centrifugó a 3000 g durante 5 min. El sobrenadante se filtró usando papel de filtro Whatman de grado 1 y el suero de leche ácido libre de caseína se recogido en un tubo de ensayo.

2.6 Determinación de la concentración de proteínas

La concentración de proteína nativa en el suero de leche ácido se determinó mediante HPLC-UV siguiendo el método oficial IDF Standard 178:1996.

2.7 Análisis estadístico

Todos los datos fueron analizados mediante SAS ("Statistical Analysis System", versión 9.2, SAS Institute Inc., Cary, NC, EE.UU.).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las muestras de leche tratadas térmicamente se analizaron mediante dispersión de luz y, en paralelo, se realizó el análisis de tamaño de partícula y de la concentración de proteínas nativas por HPLC. Se realizó un análisis de varianza con el fin de determinar las principales fuentes de variación en las variables dependientes (Tabla 1). Se observaron efectos significativos de la temperatura de tratamiento térmico y del pH sobre la dispersión de luz (LB) y sobre el tamaño de partícula (PS). También hubo efecto significativo de la temperatura sobre la concentración total de proteínas (TPC) nativas, si bien el pH no influyó sobre esta variable. El efecto del pH sobre la desnaturalización de las proteínas es complejo y contribuye sólo con un efecto mínimo (Law and Leaver, 2000). La interacción entre pH y temperatura sólo tuvo efecto significativo sobre el tamaño de partícula.

3.1 Efecto del pH en la dispersión de luz, el tamaño de partícula y la concentración de proteínas de la leche

Se encontró que la intensidad máxima de dispersión de luz y el tamaño de las partículas disminuyen significativamente con el aumento del pH de la leche (Figura 2). Además, hubo una correlación negativa significativa entre dispersión de luz y el tamaño de partícula con respecto al pH, mientras que en el caso de la concentración de proteína total, no hubo ninguna correlación (Tabla 2). Es interesante observar la relación entre la dispersión de luz y el tamaño de partícula con el cambio de pH, ya que es probablemente el resultado de la unión de proteínas de suero a la superficie de la micela de caseína, ya que se ha demostrado que esto aumenta el diámetro total en la leche tratada térmicamente (Anema and Li, 2003a), y que esta relación es altamente dependiente del pH (Anema and Li, 2003b, Kethirdedipalli et al., 2010, Vasbinder and de Kruif, 2003).

3.2 Efecto de la temperatura sobre la dispersión luz, el tamaño de partícula y la concentración de proteína de la leche

Se observó un aumento significativo de la dispersión de luz y del tamaño de la partícula y una disminución significativa en la concentración de proteína nativa total con el aumento de la temperatura (Figura 2B). Hubo una correlación negativa significativa entre la concentración de proteínas nativas totales y la temperatura, mientras que en el caso de la

dispersión de luz y el tamaño de la partícula la correlación no fue significativa (Tabla 2). A pesar de que se observó un aumento general en la dispersión de luz y en el tamaño de la partícula con el aumento de la temperatura, el efecto se debe principalmente al pH. Con un aumento de la temperatura se observó mayor desnaturalización de proteínas, sin embargo las características de unión cambian más drásticamente con el cambio en el pH.

3.3 Relación entre la dispersión de la luz y el tamaño de partícula de las micelas de caseína en función del pH de la leche

Como la unión entre las micelas de caseína y las proteínas desnaturalizadas del suero depende en gran medida del pH de la leche, pareció interesante realizar un análisis por separado en las distintas condiciones de pH de la leche para observar con más detalle las relaciones de interés. En el caso de la dispersión de luz, se observaron diferencias significativas con el aumento de temperatura a pH 6,3, lo que se debió probablemente a un incremento en la señal como resultado de la unión de proteínas desnaturalizadas del suero a la superficie de las micelas de caseína. Este efecto, aunque menos marcado, también se observó a pH 7,1 lo cual puede estar relacionado con la formación de grandes agregados proteicos que permanecen solubles y que cambian las propiedades de dispersión de la luz. Además se observó una correlación positiva significativa entre la temperatura y la dispersión de luz en estos dos valores de pH, mientras que a pH 6,7 no hubo ninguna tendencia ni correlación. Se ha observado muy poca asociación entre micelas de caseína y proteínas desnaturalizadas del suero a pH 6,7 (Anema and Li, 2003a). Con respecto al cambio de tamaño de partícula, se observaron diferencias significativas con el aumento de la temperatura sólo a pH 6,3. Previamente se ha observado que la asociación de proteínas en la superficie micelar ocasiona un cambio significativo en el tamaño de las partículas a pH 6,3 (Anema and Li 2003b), mientras que a pHs más altos la agregación de proteínas que no quedan asociadas a la micela debe dar lugar a un cambio relativamente pequeño o incluso a una disminución en el tamaño de partícula si se compara con el tamaño original de las micelas (Guyomarc'h et al., 2003), lo cual puede explicar los resultados obtenidos. Un aspecto adicional a resaltar es que la correlación positiva entre la dispersión de luz y el tamaño de partícula sólo fue significativa en el caso de pH 6,3, lo que demuestra aún más este punto.

4. CONCLUSIONES

Los resultados encontrados demuestran que existe un gran potencial para el desarrollo de un sensor de fibra óptica en configuración de dispersión para la determinación inline de desnaturalización de las proteínas de suero de leche en los rangos normales de pH de la leche.

5. BIBLIOGRAFÍA

Anema SG (1997) The effect of chymosin on κ -casein-coated polystyrene latex particles and bovine casein micelles. *International Dairy Journal* 7: 553-558.

Anema SG and Li YM (2003a) Association of denatured whey proteins with casein micelles in heated reconstituted skim milk and its effects on casein micelle size. *Journal of Dairy Research* 70: 73-83.

Anema SG and Li YM (2003b) Effect of pH on the association of denatured whey proteins with casein micelles in heated reconstituted skim milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 1640-1646.

Anema SG, Lowe EK, Li YM (2004) Effect of pH at heating on the acid-induced aggregation of casein micelles in reconstituted skim milk. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie* 37: 779-787.

Anema SG (2008) On heating milk, the dissociation of κ -casein from the casein micelles can precede interactions with the denatured whey proteins. *Journal of Dairy Research*. 75: 415-421.

Guyomarc'h F, Law AJR, Dalgleish DG (2003) Formation of soluble and micelle-bound protein aggregates in heated milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51: 4652-4660.

IDF Standard 178:1996 Determination of the content of acid soluble β -lactoglobulin using reverse phase HPLC

Kethireddipalli P, Hill AR, Dalgleish DG (2010) Protein interactions in heat-treated milk and effect on rennet coagulation. *International Dairy Journal*. 20: 838-843.

Lamb A, Payne F, Xiong YL, Castillo M (2013) Optical backscatter method for determining thermal denaturation of β -lactoglobulin and other whey proteins in milk. *Journal of Dairy Science*. 96: 1356-1365.

Law AJR, Leaver J (2000) Effect of pH on the thermal denaturation of whey proteins in milk. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 48:672-679.

Singh H (2004) Heat stability of milk. *International Journal of Dairy Technology* 57:111-119

Vasbinder AJ and de Kruif CG (2003). Casein-whey protein interactions in heated milk: the influence of pH. *International Dairy Journal*. 13:669-677

Vasbinder AJ, Alting AC, de Kruif CG (2003). Quantification of heat-induced casein-whey protein interactions in milk and its relation to gelation kinetics. *Colloids and Surfaces Biointerfaces*. 31:115-123

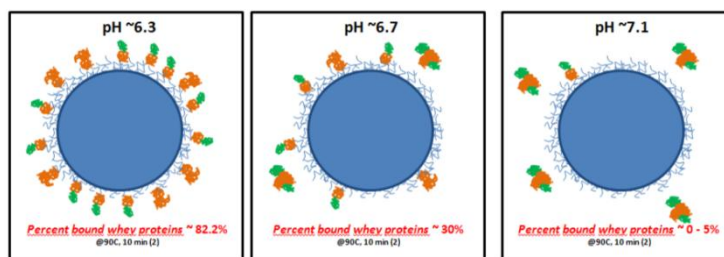


Figura 1. Efecto del pH sobre la interacción entre las proteínas de suero desnaturalizadas y la micela de caseína (Kethireddipalli et al., 2010).

Tabla 1. Analisis de varianza y estadísticos F para las variables dependientes^a

Modelo	Fuente de variación				
	R ²	F	pH (2DF) F	T (1DF) F	pHxT (2DF) F
LB	0.992	178***	610***	18.8**	2.34ns
PS	0.984	86.9***	206***	77.4***	59.8***
TPC	0.766	4.67*	0.14ns	26.9***	0.620ns

^aN = 18; T, temperatura; LB, intensidad de dispersión de luz a 570 nm; PS, tamaño de partícula (radio); TPC, concentración total de proteína. R², coeficiente de determinación; F, estadístico ANOVA; DF, grados de libertad; * P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001, ns no significativo.

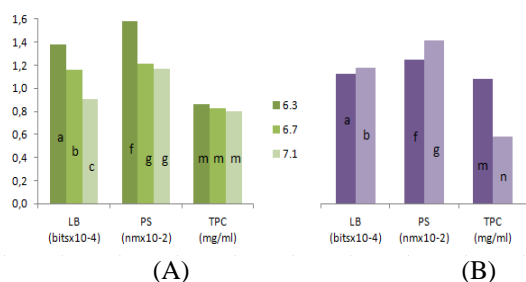


Figure 2. Influencia de los factores principales, pH (A) y temperatura (B), sobre las medias de mínimos cuadrados (LSM) de los parámetros medidos. Las LSMs marcadas con la misma letra no presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$); número de réplicas 3; N=18.

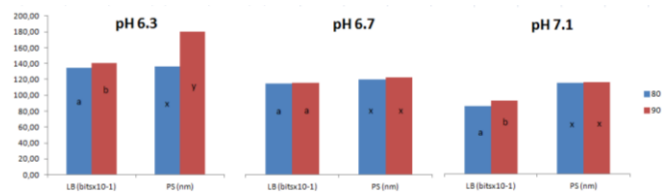


Figure 3. Influencia de la temperatura sobre las medias de mínimos cuadrados (LSM) de los parámetros medidos. Las LSMs marcadas con la misma letra no presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$); número de réplicas 3; N=16

Tabla 2. Coeficientes de correlación de Pearson

	LB	PS	TPC
PS	0,774***	---	---
pH	-0,984***	-0,745***	-0,080 ns
T	0,122 ns	0,344 ns	-0,793***

* P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001, ns not significant.

**Tabla 3
Coeficientes de correlación de Pearson
(separados por pH)**

pH		
	LB	PS
6.3	PS	0,874*
	T	0,857* 0,984*
6.7	PS	0,150ns
	T	0,309ns 0,553ns
7.1	PS	0,451ns
	T	0,862* 0,241ns

* P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001, ns not significant.

INFLUENCIA DE LA ACIDEZ DE LA LECHE DE BUFALA EN LAS CARACTERISTICAS DEL QUESO DOBLE CREMA

Arteaga M, Margarita⁽¹⁾; Simanca S, Mónica⁽¹⁾, Sáez F, Luz⁽²⁾; Velásquez A, Gretty⁽²⁾

(1) Docente asociado – Investigador. Programa de Ingeniería de Alimentos, Facultad de Ingeniería, Universidad de Córdoba, Colombia. E-mail:

mrarteaga@correo.unicordoba.edu.co

(2) Ingeniera de Alimentos, Universidad de Córdoba

INTRODUCCION

El crecimiento de la producción de la leche de búfala, en los últimos 30 años fue del 248%, el de la leche de vaca solo del 40,5%, esto muestra la importancia de la evolución de este tipo de leche. La lechería bubalina se posiciona actualmente como una alternativa pecuaria promisoría, tanto a nivel de grandes, medianos y pequeños productores en países de América Latina y el Caribe. Colombia Tiene una población estimada de 170.000 cabezas, destacándose una producción importante de leche y sus derivados. (Patiño, 2011)

El queso doble crema es un producto autóctono colombiano, fresco, ácido, de forma cilíndrica, color blanco crema, textura cerrada, sin ojos o con algunos pocos, posiblemente por el aire atrapado durante el hilado y el moldeo, queso semiblando de mediano a alto contenido de materia grasa. Este queso se elabora a partir de leches ácidas, durante la fabricación se somete a un tratamiento mecánico y térmico que da como resultado una cuajada fibrosa y elástica o plástica. (Rodríguez y Novoa, 1994; Mejía y Sepúlveda, 1999).

La leche de búfala por tener una composición diversa a la leche de vaca, aporta a sus derivados características sensorialmente y fisicoquímicas diferentes a las que transmite la leche de vaca.

El objetivo de esta investigación es evaluar el efecto que tiene la acidez de la leche de búfala en la las características fisicoquímicas y sensoriales del queso doble crema.

MATERIALES Y MÉTODOS.

Materiales: Para la elaboración de los quesos doble crema se utilizo leche de búfalas producida en la Región de Córdoba (Colombia). Los quesos fueron obtenidos en la planta piloto y caracterizada en los laboratorios de Análisis de alimentos, lactología y microbiología de alimentos pertenecientes al programa de Ingeniería de alimentos de la Universidad de Córdoba sede Berástegui, ubicada en el Departamento de Córdoba (Colombia).

Métodos: Caracterización de la leche de Búfala. A la leche cruda se le realizaron los análisis fisicoquímicos presentados en la tabla 1. La toma de muestras y preparación de la leche para la iniciación del proceso de elaboración del queso doble crema se realizó según los métodos 925.20 y 925.21 de la A.O.A.C. adaptado respectivamente. **Elaboración de queso doble crema.** La metodología que se utilizó para la obtención de queso doble crema a partir de leche de Búfala, se basó en el proceso descrito por Rodríguez y Novoa (1994), este procedimiento estuvo sometido a diferentes cambios como fueron la corrección de la acidez de la leche acida, acidez de coagulación de la leche, tiempos de proceso, ya que la leche de búfala no presenta las mismas características tecnológicas que la leche de vaca para la elaboración de queso doble crema, debido a su composición. Estas condiciones se determinaron mediante la realización de preensayos y otra investigación. En la figura 1 se observa el proceso utilizado. **Tratamientos:** Se realizaron 6 tratamientos, variando el método de coagulación de la leche (Cultivos lácticos o ácido láctico) y el valor de la acidez necesaria para producir la coagulación de la leche (46, 50 y 54°D) dichos tratamientos se muestran en la Tabla 2. El cultivo láctico utilizado fue mesófilo compuesto de *Lactococcus lactis Subsp. Lactis* y *Lactococcus lactis Subsp. cremoris*. **Caracterización fisicoquímica, microbiológica y sensorialmente del queso doble crema.** En la tabla 3 y 4 se presentan los análisis y método utilizado para determinar las características fisicoquímicas y microbiológicas respectivamente. A los quesos se les evaluaron los atributos sensoriales de sabor, olor, textura y color mediante pruebas descriptivas de calificación proporcional utilizando un equipo de 8 jueces semientrenados. **Procesamiento de datos:** Se utilizó un diseño completamente al azar. Se realizaron 4 repeticiones por tratamiento en duplicado. Se realizó un análisis de varianza, si había diferencias significativas se utilizaron curvas de tendencia de la acidez. Cuando no hay interacción, se aplica la prueba de Duncan o Bonferroni de acuerdo si resulte significativo o no. Se utilizó el programa SAS versión 8 y hoja de cálculo Excel para la interpretación de los resultados.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CARACTERIZACIÓN DE LA LECHE DE BÚFALA. En la tabla 5, se presentan los valores promedio obtenidos de los análisis físico-químicos de la leche de búfala en cada tratamiento y el promedio general y en la tabla 6 se encuentran los valores reportados por otros autores.

El contenido de grasa, proteína, lactosa, cenizas, sólidos totales, acidez y pH variaron entre valores de 5.29 y 6.49%, 3.93 y 4.12%, 5.09 y 5.98%, 0.75 y 0.83%, 12.93 y 15.72%, 0,14 y 0,29% ácido láctico y 5.64 a 6.70, respectivamente. La prueba de antibióticos para las muestras de cada tratamiento resultó negativa. Si se comparan los resultados obtenidos con los valores publicados por otros autores (Tabla 6), se evidencian en algunos parámetros coinciden con los reportados por algunos autores, pero en la mayoría se muestra que existe una variabilidad.

Entre los factores que pueden afectar la composición fisicoquímica de la leche de búfala se consideran la raza, etapa de lactancia, factores genéticos y propios del individuo, manejo, el número de partos, la alimentación y las condiciones ambientales. Yadav (2002), Hurtado et al. (2005), Teixeira et al. (2005) y Lopes (2006) citado por Andrade et al. (2009) y Patiño (2011)

CARACTERIZACIÓN FISICOQUÍMICA DEL QUESO DOBLE CREMA. Los resultados promedios obtenidos del análisis fisicoquímico del queso doble crema en los diferentes tratamientos, se muestran la tabla 7.

pH y acidez. El análisis estadístico de los resultados de pH y acidez muestra que existen diferencias significativas entre tratamientos en ambos parámetros. El queso doble crema analizado presentó un pH que varió entre 5.64 y 6.0. Los valores obtenidos se encuentran por encima del reportado por Rodríguez y Novoa (1994) de 4.9-5.2, y por Jaramillo *et al.* (1999) de 5.2, la diferencia con estos valores se debe a que son quesos elaborados a partir de leche de vaca, para la cual se utilizan valores de acidez de la mezcla por debajo al utilizado en nuestro estudio (0.38-0.44% AL para leche de vaca y 0.46-0.54% AL para leche de Búfala). La acidez obtenida varió entre 0.41 y 0.59% AL., según el análisis estadístico se observa que hay diferencia significativa entre los valores promedios. Los valores obtenidos se encuentran por debajo al reportado por Jaramillo et al. (1999) de 0.63% AL.

Humedad. Los valores de humedad variaron entre 44.27 y 47.32%. El análisis estadístico indicó que hay diferencia estadísticamente. Los valores obtenidos se encuentran por debajo al reportado por Jaramillo *et al.* (1999) que es de 50%, lo cual pudo deberse al desuerado en el momento de hilar, el suero no fue adsorbido por el queso y se obtuvo un producto más seco, lo cual concuerda con lo reportado por Weber (1990) quien afirma que en una cuajada acidificada, la aptitud intrínseca de un coágulo mixto (como el del queso doble crema) a desuarse es consecuencia de las fuerzas de contracción que ejercen una presión sobre las paredes que retienen el lactosuero y la permeabilidad de éstas. Estas fuerzas disminuyen con

la acidificación, mientras que la permeabilidad aumenta con esto, hasta que el estado micelar es destruido. Como consecuencia del aumento de la permeabilidad se esperaría un desuerado más drástico y por lo tanto una disminución en el contenido de humedad del producto. A mayor acidez mayor contracción de la cuajada, por lo tanto una mayor expulsión de agua de la misma.

Proteína. El análisis estadístico muestra que no hubo diferencias significativas entre los valores promedios de proteína obtenidos en los tratamientos, lo cual quiere decir, que la variación de los niveles de acidez de la mezcla y el método de acidificación de la leche acida no afectó el contenido de proteína del queso doble crema. Los valores obtenidos de proteína variaron de 31.52% a 31.68% valores muy por encima de los reportados por Rodríguez y Novoa (1994) (20-22%) y por Jaramillo *et al.* (1999) (21%) para el queso doble crema de leche de vaca, este hecho se ve relacionado con el contenidos alto de proteína especialmente la caseína que tiene la leche de búfala respecto a la leche de vaca, y este componente de la leche incide en el rendimiento ya que tiende a transferirse al queso en un 70% (Santos, 1996.).

Grasa. Según el análisis estadístico existen diferencias significativas en el contenido de grasa de los tratamientos. Los valores de la grasa en los 6 tratamientos varían entre 12.56% y 19.56%, siendo el tratamiento 6 con un contenido de 19.56% quien más se asemeja a los valores reportados por Rodríguez y Novoa (1994) para el queso doble crema (21-24%) y por Jaramillo *et al.* (1999) para este mismo (22%), posiblemente a la alta acidez que contrae el coagulo y se da una mayor expulsión de suero, siendo expulsado junto con este parte de grasa que se encuentra atrapada mecánicamente en la cuajada. Esto puede atribuirse a que la materia grasa no participa en la formación del coagulo; se encuentra atrapada de forma inerte. Cuando el porcentaje de materia grasa y su grado de dispersión aumenta, una pequeña fracción de la materia grasa es extraída con el lactosuero; estas pérdidas aumentan en función de la riqueza de la leche en materia grasa y con la intensidad de trabajo mecánico antes y después de la coagulación (Weber, 1990) citado por Puente y Soto (2007). Otro factor que influye es el tamaño de los glóbulos de grasa; los que más se retienen son los de tamaño medio seguido de los de diámetro reducido, y los de menor rendimiento queso son los glóbulos de mayor tamaño. Esto es debido a que los glóbulos de mayor tamaño flotan al la superficie, no incorporándose a la cuajada y pasan al suero, y los muy pequeños no son atrapados en la red tridimensional de la cuajada y salen fácilmente al suero (Jaramillo, 1991),

esto poniéndolo en consideración dado que los glóbulos de grasa de la leche de búfala son de mayor tamaño en comparación a los de leche de vaca.

Sal. El análisis estadístico realizado señala que existieron diferencias significativas entre los tratamientos. Se debe posiblemente a una pequeña expulsión de suero durante el hilado que no fue reabsorbido, el cual pudo arrastrar parte de la sal adicionada. Por lo tanto es recomendable mayor porcentaje de sal que la utilizada con el proceso con leche de vaca. Los valores de sal varían entre 0.63% y 0.82%, los cuales se encuentran por debajo al reportado por Jaramillo *et al.* (1999) para el queso doble crema que es del 1.28%. Los datos reportados por Puente y Soto (2007) para el quesillo a partir de leche de Búfala está entre 0.6% y 0.7 % similares a los obtenidos en el queso doble crema con leche de búfala.

Ceniza. Los datos encontrados arrojan que el contenido de ceniza varía entre 3.54% y 4.65%. El análisis estadístico muestra que existen diferencias significativas entre tratamientos, lo cual indica que el método de acidificación y el nivel de acidez de la mezcla influyen sobre el contenido de esta en el queso doble crema. Los quesos blancos elaborados sin fermentos ni acidificación (a pH alrededor de 6.2 - 6.5) retienen mayor proporción de minerales que un queso altamente ácido como el Mozzarella (pH alrededor de 5.3), y al final de su fabricación, prácticamente todo el fosfato de la leche está solubilizado, mientras que solo cerca del 14% del calcio sigue presente dentro de las micelas de caseína (Cunningham, 2000).

CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA DEL QUESO DOBLE CREMA. En la tabla 8 se presenta el valor promedio de las características microbiológicas del queso doble crema en los diferentes tratamientos. Los resultados obtenidos del análisis de Coliformes fecales, recuento de mohos y levaduras, *Stafilococcus Aureus* coagulasa positiva y Salmonella, en los tratamientos no presentan diferencias estadísticamente significativas entre sí. Las muestras analizadas cumplen con los establecidos por INVIMA, para este tipo de productos.

ANÁLISIS SENSORIAL DEL QUESO DOBLE CREMA. Los resultados promedios obtenidos del análisis sensorial del queso doble crema en los diferentes tratamientos se registran en la tabla 9.

Sabor. El análisis estadístico mostró que los tratamientos 6 y 2 son iguales estadísticamente, pero diferentes a los tratamientos 1, 3, 4 y 5 que son iguales entre sí, siendo los tratamientos 6

y 2 quienes más se acercaron a las características de sabor de un queso doble crema el cual debe ser moderadamente ácido y salado con un sabor ligeramente amargo (ICTA, 1986).

El defecto de sabor que se encontró fue un sabor insípido respecto al estándar, esto posiblemente se debe a que durante el hilado no se adsorbió todo el suero quedando una parte de sal en él o una adición de sal insuficiente ya que la cantidad adicionada (1.5% del peso de la cuajada) era para el queso doble crema elaborado con leche de vaca por lo que se recomienda adicionar un porcentaje mayor para este tipo de queso.

Olor. Para esta variable analizada se tiene que el tratamiento 5 y 1 son diferentes estadísticamente a los demás tratamientos y entre sí, mientras que los tratamientos 2, 3, 4 y 6 son iguales estadísticamente. Siendo el tratamiento 5 el más parecido a las características de olor de este queso el cual es moderadamente lácteo y ácido (ICTA, 1986), mientras que los demás tratamientos presentaron deficiencias en estas características.

Textura. El análisis estadístico de la variable textura nos muestra que los tratamientos son estadísticamente diferentes. Los tratamientos 4 y 5 son los que más se asemejan a las características del queso doble crema el cual debe ser un producto semiblando con estructura de pechuga de pollo (Rodríguez y Novoa, 1994). La textura de los quesos de estos tratamientos no presentan una consistencia blanda, esto pudo deberse al bajo contenido en grasa y humedad del queso, debido a la baja acidez de la mezcla (Mejía y Sepúlveda, 1999) que no permite una adecuada desmineralización previa al hilado y las altas temperaturas en el hilado que causa una mala incorporación de grasa. Sin embargo se pudo apreciar una apariencia de capas (hilos) o pechuga de pollo (ICTA, 1986) característica de estos tipos de quesos.

Color. También existen diferencias estadísticamente significativa, los tratamientos 1, 4 y 5 son los que más se asemeja en cuanto a color a las características de un queso doble crema normal el cual se caracteriza por presentar un color blanco crema o ligeramente amarillento; los demás tratamientos presentaron colores más fuertes, verdoso, este color en algunos tratamientos es posiblemente debido a la presencia de riboflavina (vitamina B2) la cual es la responsable de la fluorescencia verdosa del suero y esta se destruye con facilidad si se expone a la luz solar brillante (Helen, 1997).

CONCLUSIONES

Las características físico-químicas, organolépticas y microbiológicas obtenidas en el queso doble crema son buenas, permitiendo elaborar un producto de buena calidad al compararlo con el de leche de vaca.

Los quesos doble crema elaborados con la leche del búfala, presenta niveles inferiores en humedad, grasa, sal y acidez respecto al elaborado con leche de vaca, pero presentan niveles superiores de proteína y pH.

El queso doble crema elaborado con una acidez de 0.54% Al. y con ácido láctico es el tratamiento que más cerca se encuentra a los parámetros de un queso doble crema con leche de vaca, presentando mejores valores de grasa (19.56%), sal (0.87%).

Los quesos obtenidos presentan buenas condiciones microbiológicas lo que los hace aptos para consumo en caso de elaborarlos para su comercialización, teniendo en cuenta que se sigan todas las condiciones de sanidad.

Las características de olor y color de estos quesos se asemejan al queso doble crema estándar establecido en este estudio, mientras que los atributos de sabor y textura se encuentran más alejados del estándar.

BIBLIOGRAFÍA.

Andrade, R; Vélez, G; Arteaga, M; Díaz, Y; Sánchez, S. 2009. Efecto de la neutralización y adición de edulcorante en las propiedades fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales del arequipe de leche de búfala. *Vitae Revista de la Facultad de Química farmacéutica*. ISSN 0121-4004 V.16 N 2. P 201 -209.

Hurtado, L; Cerón, M; Lopera, M; Bernal, A; Cifuentes, T; 2005. Determinación de parámetros físico-químicos de leche Bufalina en un sistema de producción orgánica. <http://cipav.org.co/lrrd/lrrd17/1/hurt17001.htm>. [Accedido: 12-15-2012].

ICTA. 1986. Manual de elaboración de queso doble crema. Inventario y desarrollo de la tecnología de productos lácteos campesinos en Colombia. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, 58 p.

INVIMA. 1998. Manual de técnicas de análisis para control de calidad microbiológico de alimentos para consumo humano. Ministerio de salud. Santa fe de Bogotá, 124 p.

Jaramillo, M; Mejía, L; Sepúlveda, J. 1999. La leche y su control. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Departamento de Ingeniería Agrícola y Alimentos, Medellín, 175p.

Mejía, L; Sepúlveda, J. 1999. Tecnología de los quesos procesados y madurados. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Departamento de Ingeniería Agrícola y Alimentos, Medellín, 130 p.

Official Methods Of Analysis Of The Association Of Official Analytical Chemists. 1990. Kenneth Helkrich. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, 804-819, 840-849 p.

Patiño, Exequiel Maria. 2011. Producción y calidad de la leche bubalina. Tecnología en Marcha, Vol. 24, N.º 5, Revista Especial 2011, P. 25-35.

Puente, J; Soto, E. 2007. Estandarización del proceso de elaboración del quesoillo (queso de pasta hilada) con leche de búfala. Ingeniero de Alimentos. Universidad de Córdoba. Berastegui.

Rodríguez, C; Novoa, C. 1994. Guía para producir quesos colombianos. Banco Ganadero y Universidad Nacional de Colombia. Banco Ganadero, Suplemento Ganadero, Bogotá, 180 p.

Santos, A. 1996. Leche y sus derivados. Trillas, México, 290 p.

Teixeira, L; Bastianetto, E; Oliveira, D. 2005. Leite de búfala na indústria de produtos lácteos. Rev Bras Reprod Anim. 29 (2) P. 96-100.

Yadav, P; Mandal, A; Y Dahiya, D; 2002. Feeding pattern and mineral state of buffaloes in Panipat state of Haryana. Anim Nutr Feed Technol, 2(1). P 127-139.

Tabla 1. Metodología para la determinación de análisis fisicoquímicos de la leche cruda.

Análisis	Referencia	Método
Grasa.	British Standard N°696	Gerber.
Proteína.	920.105 de la A.O.A.C. adaptado.	Kjedahl
Ceniza.	A.O.A.C. Internacional 33.2.10 1995.	Método gravimétrico
Lactosa.	930.28 de la A.O.A.C. adaptado.	Método gravimétrico
Sólidos totales.	925.23 de la A.O.A.C. adaptado.	Estufa modificado
Antibióticos.	982.15 de la A.O.A.C. adaptado	
Acidez.	947.05 de la A.O.A.C. adaptado	Titulométrico
pH.	973.41 de la A.O.A.C. adaptado	Potenciométrico

Tabla 2. Tratamientos para elaborar queso doble crema.

Tratamiento	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Formulación	M1A1	M1A2	M1A3	M2A1	M2A2	M2A3

Donde: Método de acidificación: M1= Cultivo Láctico M2= Acido Láctico

Acidez de coagulación: A1=46°D A2=50°D A3=54°D. °D: grado Dornic.

Tabla 3. Metodología para la determinación de análisis microbiológico del queso doble crema.

Análisis	Referencia	Método
Coliformes fecales.	INVIMA (1998).	Técnica del número más probable (NMP)
Mohos y levaduras	INVIMA (1998).	Recuento en placa en siembra profunda
<i>Stafilococcus aureus</i> coagulasa positiva	INVIMA (1998)	Recuento en placa en siembra en superficie.
Salmonella	INVIMA (1998).	Pruebas bioquímicas

Tabla 4. Metodología para la determinación de análisis fisicoquímicos del queso doble crema.

Análisis	Referencia	Método
pH	973.41 A.O.A.C. adaptado.	Potenciometría
Acidez.	920.124 A.O.A.C adaptado.	Método titulométrico
Humedad.	948.12 A.O.A.C adaptado.	Método gravimétrico
Proteína	920.123 A.O.A.C. adaptado.	Método de Kjeldahl
Materia grasa	NEN 3059: 1957. LEIDEN, ISSO N° 3433. 1975)	Método de Van Gulik
Cloruros	A.O.A.C. Internacional 1995. 33.7.10.	Método titulométrico
Cenizas	A.O.A.C. Internacional 1995. 33.7.07.	Método gravimétrico

Tabla 5. Valores de las características físico químicas de la leche de Bufala (promedio).

Tratamientos	Grasa (%)	Proteína (%)	Ceniza (%)	Lactosa (%)	Sólidos Totales (%)	Acidez (%)	pH	Antibiótico
1	6,33	3,93	0,80	5,09	15,72	0,14	6,63	Negativo
2	6,40	4,12	0,83	5,37	15,06	0,18	6,62	Negativo
3	6,49	4,03	0,81	5,98	12,93	0,19	5,64	Negativo
4	5,29	3,93	0,76	5,14	15,37	0,18	6,43	Negativo
5	5,47	4,12	0,76	5,37	14,62	0,29	6,64	Negativo
6	5,48	3,93	0,75	5,14	15,66	0,16	6,7	Negativo
Promedio general	5,91	4,01	0,79	5,35	14,89	0,19	6,44	Negativo

Tabla 6. Valores de las características físico químicas de la leche de búfalas obtenido por otros autores.

Autores	Grasa (%)	Proteína (%)	Ceniza (%)	Lactosa (%)	Sólidos Totales (%)	Acidez (% AL)	pH
Hurtado et al. (2005)	6.65 – 7.36	-	-	-	16.17 - 17.66	0.15 – 0.18	-
Patiño y Guanzioli (2005)	5.20 ± 0.14	5.20 ± 0.14	0.78 ± 0.03	4.55	18.42 ± 0.16	-	6.9
Soto y Teherán (2007)	6.58 – 7.53	3.84 – 4.16	0.75 – 0.81	4.78	16.53 - 17.63	0.16 – 0.18	6.66 – 6.87
Puente y Soto (2007)	4.80 – 6.77	3.76 – 4.20	0.76 – 0.83	-	12.98 –17.19	0.16 – 0.22	6.32 – 6.53
Ahmad et al. (2008)	6.40 – 7.60	-	-	5.20 ± 0,11	-	-	6.81 ± 0.06
Andrade et al. (2010)	-	-	-	-	-	0.18 – 0.19	6.53 – 6.88
Patiño (2011)	6.37 – 7.34	3.93 – 4.42	0.75 – 0.85	3.83 – 5.55	16.31 –17.49	0.18 – 0.20	6.66 – 6.75

Tabla 7. Valores de las características fisicoquímicas del queso doble crema.

Tto	pH	Acidez (% AL)	Humedad (%)	Proteína (%)	Grasa (%)	Sal (%)	Ceniza (%)
1	5.71 b	0.53 c	46.65 b	31.52 a	12.56 d	0.63 e	4.30 b
2	5.92 a	0.58 ab	44.96 cd	31.68 a	15.23 c	0.77 c	4.65 a
3	5.91 a	0.54 bc	44.27 e	31.66 a	18.59 b	0.82 b	3.88 c
4	5.98 a	0.41 d	45.22 c	31.58 a	12.93 d	0.68 d	3.54 d
5	6.00 a	0.59 a	47.32 a	31.67 a	14.93 c	0.76 c	3.84 c
6	5.64 b	0.58 a	44.77 d	31.64 a	19.56 a	0.87 a	2.85 e

a,b,c,d,e: Medidas con letras iguales no difieren según la prueba de Duncan al 5% de significancia.

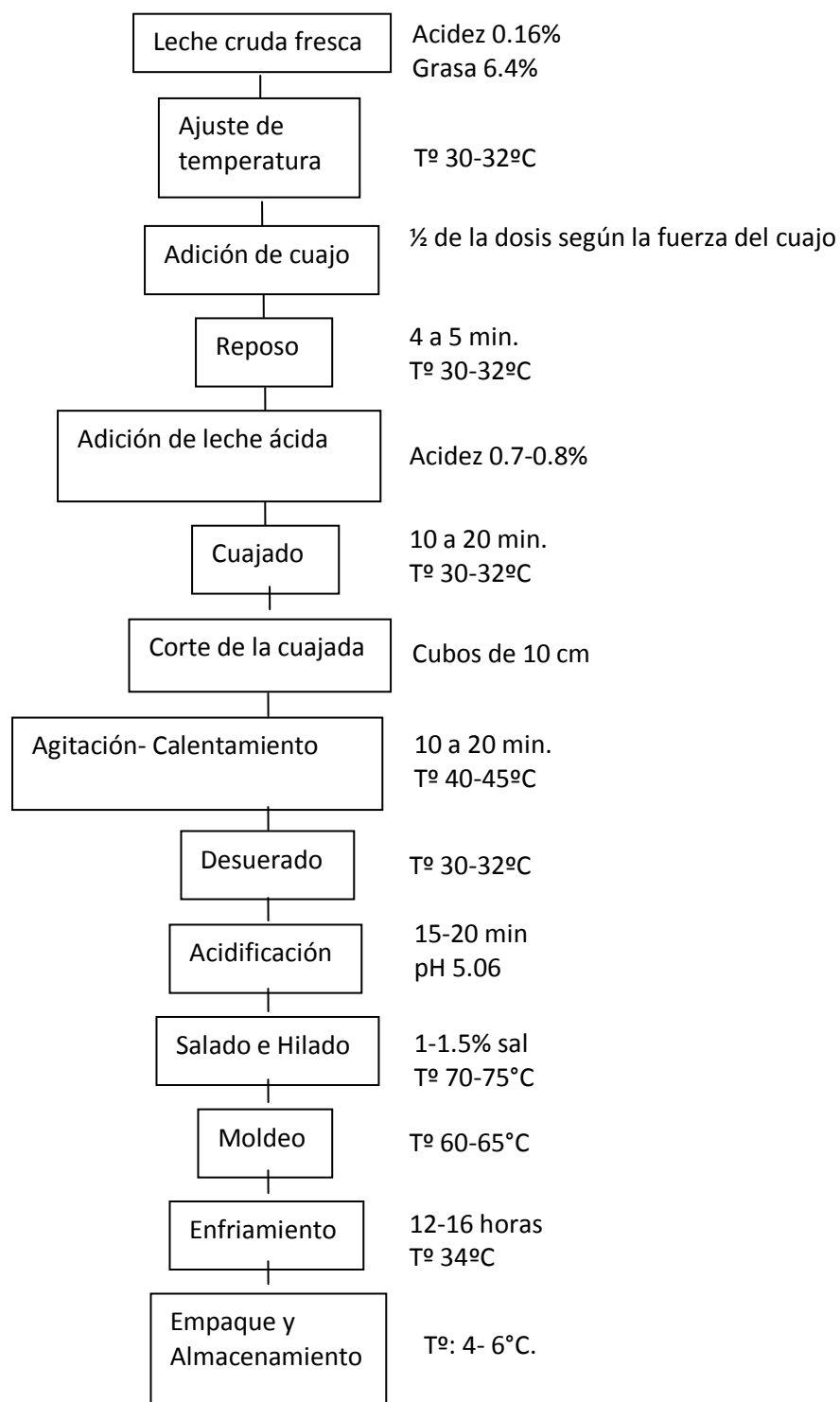


Figura 1. Diagrama de flujo de queso doble crema con leche de búfala.

Fuente: Rodríguez y Novoa (1994) con modificaciones según investigación

Tabla 8. Resultados del análisis microbiológico del queso doble crema.

Tratamiento	Coliformes fecales (NPM/g)	Moho y levadura/g	<i>Stafilococcus Aureus/g</i>	Salmonella
1	<3 a	214.85 a	<100 a	Ausente
2	<3 a	210.45 a	<100 a	Ausente
3	<3 a	197.85 a	<100 a	Ausente
4	<3 a	175.95 a	<100 a	Ausente
5	<3 a	194.35 a	<100 a	Ausente
6	<3 a	211.95 a	<100 a	Ausente

Tabla 9. Resultados del análisis sensorial del queso doble crema.

Tratamiento	Sabor	Olor	Textura	Color
1	2.71 b	2.09 c	1.61 c	4.39 d
2	3.23 a	3.89 b	1.61 c	5.36 c
3	2.8 b	3.83 b	1.56 c	6 a
4	2.76 b	3.8 b	2.39 a	4.11 d
5	2.8 b	4.35 a	2.46 a	4.09 d
6	3.45 a	3.93 b	2.1 b	4.75 c

a,b,c,d: Medidas con letras iguales no difieren según la prueba de Duncan al 5% de significancia.

EFFECTO DE LA HUMEDAD RELATIVA DURANTE LA FERMENTACIÓN DE MASAS SIN GLUTEN SOBRE LA CALIDAD DEL PAN

Sandra Pérez-Quirce; Eduardo de Sousa Esperança; Felicidad Ronda

Área de Tecnología de los Alimentos. Departamento de Ingeniería Agrícola y Forestal. E.T.S. de Ingenierías Agrarias. Campus de Palencia. Universidad de Valladolid. Correspondencia: fronda@iaf.uva.es

INTRODUCCIÓN

La celiaquía es una enfermedad provocada por la ingestión de gluten que afecta al sistema inmune de personas genéticamente susceptibles. Es uno de los trastornos genéticos humanos más comunes, con una incidencia del 1-2% en todo el mundo que continúa aumentando (Cabrera-Chávez y Calderón de la Barca, 2010). Actualmente, el único tratamiento seguro y eficaz para los enfermos celíacos es evitar la ingestión de alimentos que contengan gluten.

A pesar de los numerosos esfuerzos realizados los panes sin gluten existentes en el mercado son de calidad físico-química y sensorial sensiblemente inferior a los panes tradicionales de trigo. La búsqueda de alternativas tecnológicas que mejoren la calidad de de estos productos es necesaria (Schoenlechner et al., 2010).

La obtención de pan sin gluten de alta calidad es difícil de conseguir. Las proteínas del gluten tienen una función esencial al ser responsables del aporte de cohesividad, extensibilidad y elasticidad de la masa, gracias a lo cual son capaces de retener el gas producido durante la fermentación (Singh y MacRitchie 2001). En panes sin gluten resulta necesario el empleo de hidrocoloides capaces de imitar las propiedades viscoelásticas del gluten. El hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) es uno de los hidrocoloides más frecuentemente utilizados debido a su alta capacidad de retención de agua y de formación de gel que da lugar a un aumento de la viscosidad de la masa y una mejora de su estructura (Ahlborn et al., 2005). Es necesaria una hidratación elevada de estas masas, ya que la disponibilidad de agua tiene un papel relevante en la formación del gel y la consiguiente funcionalidad de los hidrocoloides (Antón, 2008). Las condiciones de procesado también son sensiblemente diferentes de las habituales.

El objetivo de este trabajo es el estudio del efecto de la humedad relativa durante la fermentación y del vapor en el horneado sobre la calidad del pan sin gluten.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Los panes se elaboraron con harina de arroz (Herba, Tarragona, España), y un 2% (base harina) de Hidroxi-propil-metil-celulosa (HPMC) SFE-4000 (Shin-Etsu Chemical Co Ltd., Japón). Otros ingredientes del pan fueron: sal (1.8%), azúcar (5%), aceite de girasol (6%) y levadura (3%) provenientes del mercado local.

Preparación de las masas

Para la elaboración de las masas se emplearon, además de los ingredientes mencionados arriba, porcentajes de hidratación variables entre 80% y 110%. Dichos ingredientes se mezclaron en una batidora Kitchen-aid profesional KPM5 (St. Joseph, Michigan, USA) durante 7 minutos y posteriormente durante 8 minutos más tras incorporar el agua junto con la levadura previamente hidratada en la misma. A continuación se colocó la masa en moldes de aluminio de 430 cm³ de capacidad, introduciéndose en la cámara de fermentación (marca SALVA, Lezo, España), durante 50 minutos a 28°C y a una humedad relativa de 70% y 90%. Posteriormente, se introdujeron en el horno marca SALVA (Lezo, España), durante 40 minutos a 190°C.

Evaluación de la calidad del pan

El volumen de pan se determinó por duplicado utilizando un analizador de volumen Volscan Profiler (Stable Microsystems, Surrey, Reino Unido).

La determinación de la textura de la miga se realizó con el texturómetro universal TA-XT2 (Stable Microsystems, Surrey, Reino Unido) junto con el software "Texture Expert". Para la realización del ensayo denominado "Análisis del perfil de textura" (TPA) de doble compresión se empleó una sonda cilíndrica de aluminio P/20 de 20 mm de diámetro para penetrar a un 50 % de profundidad, con una velocidad de ensayo de 1 mm/s y un tiempo de espera de 30 segundos entre la primera y segunda compresión. El análisis se llevó a cabo a 20±2°C sobre dos rebanadas de pan centrales de 20 mm de espesor y de dos panes de cada elaboración. La dureza de la corteza se midió con el mismo texturómetro a partir de la fuerza máxima obtenida mediante un ensayo de punción sobre la corteza mediante una sonda de aguja que penetró 0.5 mm a una velocidad de 1 mm/s.

El color de la corteza se midió con un colorímetro Minolta CN-508i (Minolta, Co.Ltd, Japón). Los resultados se obtuvieron en coordenadas CIE L* a* b* utilizando el iluminante estándar D65 y el observador estándar de 2° (CIE 1931) a una longitud de onda de 360 nm. A partir de estos valores se obtuvieron el tono (h) y el croma o saturación (C*), que

se calcularon con las ecuaciones $h = \arctan (b^*/a^*)$ y $C^* = ((a^*)^2 + (b^*)^2)^{1/2}$ (Ronda et al 2005). Estas medidas se realizaron sobre dos panes tomando 4 medidas sobre cada uno.

Se evaluó la humedad de la miga de los panes por duplicado mediante el método estándar 44 -19 de la AACC 2000. Se pesaron con la balanza de precisión aproximadamente 2 gramos de miga, sobre una capsula de acero inoxidable, que se introdujo en una estufa de ventilación forzada (WTB Binder) a 105°C durante 24 ± 2 h. La cápsula, una vez extraída de la estufa se pesó a temperatura ambiente tras su enfriamiento en desecador.

Análisis estadístico

Se utilizó el programa estadístico Statgraphics Centurion XVI (StatPoint Technologies Inc, Virginia, USA) para hacer el estudio de análisis de la varianza (ANOVA) a un nivel de significancia del $p < 0.05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Pudo confirmarse un efecto significativo de la hidratación de las masas sobre las características de los panes. Hidrataciones mayores, en el intervalo de estudio, condujeron a panes mejor desarrollados, de miga más blanda, de menor masticabilidad, y de mayor elasticidad, resiliencia y cohesividad. Los panes aumentaron su volumen específico hasta un 45% y disminuyeron su firmeza hasta en un 70%. El efecto fue más marcado al pasar del 80% al 95% de hidratación, pero también fue significativo con el aumento adicional hasta hidrataciones del 110%. Estos resultados confirman lo observado en trabajos previos con pan sin gluten (Pérez-Quirce et al. 2013).

Los panes obtenidos con una hidratación menor tuvieron una corteza más dura, si bien no se observó una diferencia significativa en su fracturabilidad.

La humedad relativa empleada durante la etapa de fermentación de la masa también ejerció un efecto significativo sobre las propiedades de calidad del pan sin gluten, tanto en las masas con elevada hidratación como en las menos hidratadas. Una humedad relativa próxima a la saturación durante la fermentación, condujo a panes más desarrollados, con un volumen un 20% mayor y una dureza hasta un 80% menor que los panes de hidratación equivalente fermentados a una humedad relativa del 70%.

La humedad de la miga se vio fundamentalmente afectada por la hidratación de la masa. Sin embargo, la humedad de la corteza y su actividad de agua se vieron también afectadas por la humedad relativa aplicada durante la fermentación de la masa. Resultó también significativa ($p < 0.05$) la interacción doble de estos factores. Es decir, el efecto de la

humedad de la fermentadora sobre la humedad de la corteza dependió de la cantidad de agua utilizada en la formulación de la masa. En las masas con una hidratación del 80% el empleo de una humedad relativa del 70% durante la fermentación condujo a una humedad final en la corteza del 14% mientras que el empleo de una humedad relativa del 90% lo aumentó hasta el 18%. El efecto más acusado de una humedad relativa baja durante la fermentación se observó sobre los panes obtenidos con la mayor hidratación. Sin embargo, el empleo de humedades relativas altas condujeron a cortezas de una humedad similar con independencia de la hidratación aportada a la masa ($p > 0.05$).

La inyección de vapor al inicio del horneado condujo a un ligero descenso del volumen específico de los panes, en particular de aquellos elaborados con una mayor hidratación. Este efecto podría deberse a que, hasta un cierto límite, una consistencia débil permite una mayor expansión de la masa y conduce a un mayor volumen del pan. Pero si este debilitamiento es excesivo, como ocurre en el caso de altos niveles de hidratación o presencia de agua elevada en la superficie de los panes, puede provocar el efecto contrario por una pérdida de la capacidad de retención del gas durante su expansión en el horno.

El aporte de vapor disminuyó las pérdidas de peso del pan durante el horneado en un 4%. También disminuyó la luminosidad de la corteza en un 20%. El tono de la corteza resultó significativamente más rojiza en los panes obtenidos con inyección de vapor. Este efecto es importante, habida cuenta de que los panes sin gluten adolecen habitualmente de un color excesivamente pálido. Sin embargo, con la inyección de vapor la humedad de la corteza se vio incrementada en un 20% y la fracturabilidad de la corteza y su crujencia se vieron disminuidas.

Todos los efectos comentados se vieron afectados significativamente con el empleo de otro HPMC de idénticas características espesantes que el descrito en el presente trabajo pero de diferente fuerza de gel. La diferente capacidad de retención de agua podría explicar gran parte de los efectos observados. Esto indica la especial atención que hay que prestar a esta propiedad de los hidrocoloides, poco atendida hasta el presente, y que permite predecir comportamientos en panificación muy diferentes (Ronda et al. 2013; Pérez-Quirce et al. 2013).

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la financiación recibida por el Ministerio de Economía y Competitividad (Proyecto AGL2012-35088) y por la Junta de Castilla y León (Proyecto VA252A12-2) para la realización de este trabajo.

BIBLIOGRAFIA

- Ahlborn, G. J.; Pike, O. A.; Hendrix, S. B.; Hess, W. M. & Huber, C. S. (2005). Sensory, mechanical and microscopic evaluation of staling in low-protein and gluten-free breads. *Cereal Chemistry*, 82: 328-335.
- Anton, A. A. (2008). Improving the nutritional and textural properties of wheat flour tortillas. *Cereal Research Communications* 36: 301-311.
- Cabrera-Chavez, F., & Calderon de la Barca, A. M. (2010). Trends in wheat technology and modification of gluten proteins for dietary treatment of coeliac disease patients. *Journal of Cereal Science* 52(3): 337-341.
- Pérez-Quirce, S. Collar, C.; Ronda F. (2013) Significance of healthy viscous dietary fibres on the performance of gluten-free rice-based formulated breads. *International Journal of Food Science and Technology*. In press
- Ronda, F., Perez-Quirce, S., Angioloni, A. & Collar, C. (2013). Impact of viscous dietary fibres on the viscoelastic behaviour of gluten-free formulated rice doughs: A fundamental and empirical rheological approach. *Food Hydrocolloids*, 32, 252-262.
- Schoenlechner R., Wendner M., Siebenhandl-Ehn S., Berghofer, E. (2010) Pseudocereals as alternative sources for high folate content in staple foods. *Journal of Cereal Science* 52 (3): 475-479
- Singh H. y MacRitchie F. (2001) Application of Polymer Science to Properties of Gluten. *Journal of Cereal Science* 33 (3) :231-243

VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS INSTRUMENTALES BASADAS EN ESPECTROSCOPIA INFRARROJA EN ANÁLISIS DE ACEITES VEGETALES

José Hugo Castorena García, Lucina Sánchez Sánchez, Verónica Reyes García, Maribel Cano Hernández, Victor Santiago Santiago, Marlon Rojas López

Castorena García José Hugo, (Doctor).

Profesor en Ingeniería en Industrias Alimentarias del Instituto Tecnológico del Altiplano de Tlaxcala. Km 7.5, Carretera Federal San Martín Texmelucan-Tlaxcala, San Diego Xocoyucan. 90122. Tel +52 2482842819. casmin@prodigy.net.mx; jh.castorena@gmail.com

Lucina Sánchez Sánchez

Ex Alumnas del Ingeniería en Industrias Alimentarias del Instituto Tecnológico del Altiplano de Tlaxcala. Km 7.5, Carretera Federal San Martín Texmelucan-Tlaxcala, San Diego Xocoyucan.

Verónica Reyes García, (Maestra en Ciencias) y Maribel Cano Hernández, (Doctora).

Profesoras en Ingeniería en Industrias Alimentarias del Instituto Tecnológico del Altiplano de Tlaxcala. Km 7.5, Carretera Federal San Martín Texmelucan-Tlaxcala, San Diego Xocoyucan. 90122. Tel +52 2482842819. rgvero_@hotmail.com; verónica.reyesga@udlap.mx; maribel_cano@hotmail.com

Victor Santiago Santiago, (Maestro en Ciencias).

Profesor en Ingeniería en Agronomía del Instituto Tecnológico del Altiplano de Tlaxcala. Km 7.5, Carretera Federal San Martín Texmelucan-Tlaxcala, San Diego Xocoyucan. 90122. Tel +52 (248)2842819. santiago@colpos.mx

Marlon Rojas López, (Doctor).

Profesor en Biotecnología Aplicada del Centro de Biotecnología Aplicada del Instituto Politécnico Nacional. Ex Hacienda San Juan Molino, Carretera Estatal Tecuexcomac-Tepetitla, Km. 1.5, Tlaxcala. 90700, México. Tel. +52 (248)4-848707. marlonrl@yahoo.com.mx

RESUMEN

Las determinaciones de índices químicos en aceites vegetales, están basadas generalmente en técnicas volumétricas, de óxido reducción y neutralización. Estas técnicas analíticas implican costos en reactivos, así como tiempos prolongados para la preparación de la muestra y valoración de la misma; por lo que es importante la aplicación de técnicas instrumentales. El propósito de este trabajo fue validar la técnica de espectroscopia infrarroja para cuantificar el índice de yodo (IY), acidez (IA), peróxido (IP) y saponificación (IS) en aceites de chía, amaranto, aguacate, nuez, canola y olivo. Se utilizó un espectrómetro Thermo Científic® modelo Nicolet iS10 FT-IR, utilizando la técnica de Reflectancia Total Atenuada (ATR) para la obtención de espectros FT-IR en el rango medio (4000-650 cm^{-1}) de los diferentes aceites vegetales. Los espectros de los aceites analizados se caracterizaron por

presentar bandas intensas de absorción a lo largo de 3007, 2955, 2925, 2854, 1746, 1575, 1462, 1456 y 1162, cm^{-1} . Los modelos con mejor ajuste fueron obtenidos por Regresión Lineal de Mínimos Cuadrados Parciales (RLMCP), los mejores modelos lineales ajustados para cada índice fueron: $IY = 83,87 - 298,77 (A/G) + 126,44 (A/F)$; con $R^2=0,90$; para $IA = 1,94817 - 1,124916(A/F) + 0,80144(AG)$ con $R^2=0,99$; para $IS = - 44,93707 + 93,93790 (A/E) + 162,05677 (G/H)$; $R^2=0,98$; para $IP = 11,61118 + 2,77441 (A/H) - 1,37996 (E/F)$; $R^2=0,92$. Los resultados se contrastaron con los análisis de los índices químicos de aceites vegetales, siguiendo las metodologías reportadas por la AOAC. La determinación de los índices de calidad de los aceites a través de IR con apoyo de técnicas estadísticas hace posible la correlación de resultados válidos como los que se obtienen por medio de técnicas tradicionales.

INTRODUCCIÓN

La espectroscopia infrarroja (FTIR) desde su desarrollo como técnica instrumental ha sido explorada en análisis de alimentos, y es considerada como una herramienta poderosa para análisis y estudio en aceites comestibles. Una ventaja importante de esta técnica es la rapidez con la que se hace el análisis, la muestra requiere de una preparación mínima, es un método no destructivo que favorece los análisis en línea de procesos. También ha sido utilizada en la caracterización y diferenciación de grasas y aceites, debido a la intensidad de los picos del espectro y la exactitud de la frecuencia a la cual aparece la máxima absorción, propiedad que los hace diferentes dependiendo de la naturaleza y composición de la muestra (Yaakob *et al.*, 2011). Por otra lado, la quimiometría es considerada una disciplina que emplea herramientas estadísticas y matemáticas para validar y calibrar modelos, a partir de datos relevantes generados en los experimentos químicos. Existen numerosas técnicas quimiométricas usadas en el estudio de grasas y aceites, tales como análisis de componentes principales, análisis discriminante, análisis de grupos (*cluster*) y calibración multivariada por regresión lineal de mínimos cuadrados parciales (RLMCP). La espectroscopia FTIR en combinación con técnicas quimiométricas ha sido enfatizada para análisis cuantitativo de varios alimentos tales como grasa en pastel, crema de coco y mezclas de aceites vegetales con grasa animal. También se ha empleado para detección de grasa butírica adulterada con grasa de otras fuentes por medio de FTIR a longitud de onda específica (Nurrulhidayaha *et al.*, 2013).

El propósito de este trabajo fue validar la técnica de espectroscopia infrarroja contrastándola con las técnicas reportadas por la AOAC en la determinación de los índices de yodo (IY), acidez (IA), peróxido (IP) y saponificación (IS) en aceites de chía, amaranto, aguacate, nuez, canola y olivo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación de la muestra.- De 15 a 20 g de muestra fueron colocados en una estufa a 65°C por 8 horas, posteriormente se trituró manualmente en mortero hasta formar un polvo. La extracción del aceite se realizó colocando 5,0 g de muestra finamente molida y seca en cartucho de celulosa, este fue colocado dentro del extractor Soxhlet, se utilizó hexano como solvente, la extracción duró 4 horas. El aceite recuperado fue utilizado para su posterior análisis químico e instrumental.

Índices químicos.- Estos se determinaron conforme a la metodologías reportadas de los siguientes autores. Para el índice de yodo (IY) por método de Wijs (Nielsen, 2003), índice de acidez por método volumétrico (Boekenoogen, 1964), índice de peróxidos por yodometría (Nielsen, 1998) e índice de saponificación por el método de Koettstorfer (Pearson, 1993).

Análisis instrumental con espectroscopia infrarroja (FTIR).- Los aceites obtenidos a partir del procedimiento de extracción Soxhlet, fueron analizados por espectroscopia infrarroja con la técnica Reflectancia Total Atenuada (FTIR-ATR). La obtención de los espectros, se realizó colocando 0,5 mL de cada aceite en la placa del portamuestras del ATR. Cada espectro fue registrado a partir del promedio de 90 barridos con una resolución de 4 cm^{-1} , en la región del infrarrojo medio (4000-650 cm^{-1}). Antes de tomar un nuevo espectro la placa de ATR se limpió cuidadosamente *in situ* con hexano y acetona. La limpieza del cristal ATR se verificó mediante la recogida de un espectro de fondo (*background*). Las mediciones se efectuaron en un espectrómetro FT-IR marca Thermo Científico® modelo Nicolet iS10, equipado con un software OMNIC (Versión 7.0), para la recolección de datos.

RESULTADOS

Los grupos funcionales de cada uno de los espectros FT-IR, obtenidos de los aceites, fueron asignados de acuerdo a la literatura reportada por Guillén y Cabo (1998); Nurrulhidayah *et. al.*, (2013); y Pretsch *et. al.*, (1980). En la **Figura 1**, se muestra el espectro FT-IR del aceite de olivo, como ejemplo representativo de los espectros de aceite utilizado en este estudio, el cual fue analizado para identificar las bandas de interés asociadas a los principales grupos funcionales que componen el aceite vegetal.

Los espectros de los aceites analizados se caracterizaron por presentar bandas intensas de absorción a lo largo de diferentes números de onda (**Tabla 1**) y también concentra los valores de absorción registrados en cada espectro para cada aceite analizado, así como los principales grupos funcionales asignados a cada número de onda. Al respecto, Guillén y Cabo (1998) en un estudio realizado de aceites comestibles y más recientemente Koca *et. al.*, (2010), al analizar la mantequilla, observaron señales intensas a 2900 y 2800 cm^{-1} , que corresponden a los grupos C-H (CH_2) y C-H (CH_3), respectivamente. Por otra parte, una señal débil a 3007 cm^{-1} fue asociada con $-\text{C}=\text{C}-$. La señal a 1745 cm^{-1} , fue asignada al $\text{C}=\text{O}$ correspondientes a los ácidos y ésteres. En la última parte del espectro, las bandas de 1300 a 1000 cm^{-1} , se asocian al enlace C-O de los ésteres.

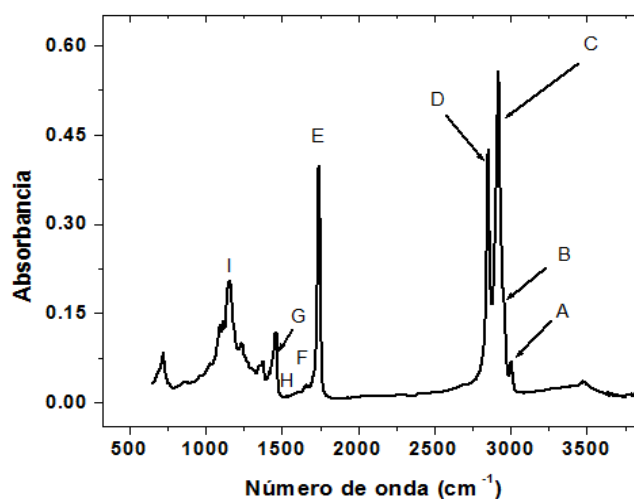


Figura 1. Espectro FT-IR del aceite de olivo y asignación de bandas

Tabla 1. Asignación de grupos funcionales e intensidad de cada banda en absorbancia

Frecuencia (cm^{-1})	Banda	Grupo Funcional	Aguacate	Canola	Amaranto	Olivo	Nuez	Chía
3007	A	$-\text{C}=\text{C}-$	0.0021	0.0039	0.0492	0.0513	0.0057	0.0083
2955	B	$(-\text{C}-\text{H}-)$ de CH_3	0.0140	0.0352	0.0572	0.0635	0.0122	0.0830
2925	C	$(-\text{C}-\text{H}-)$ de CH_2	0.0157	0.0196	0.0291	0.0271	0.0292	0.0739
2854	D	$(-\text{C}-\text{H}-)$ de CH_2	0.0382	0.0411	0.0332	0.0315	0.0194	0.0390
1746	E	$(\text{C}=\text{O})$	0.0017	0.0121	0.0185	0.0469	0.0408	0.0427
1575	F	$(\text{COO}-)$	0.0093	0.0064	0.0119	0.0110	0.0057	0.0084
1462	G	$(-\text{C}-\text{H}-)$ de CH_2	0.0117	0.0246	0.0117	0.0095	0.0138	0.0044
1456	H	$(-\text{CH}_3-\text{CH}_2)$	0.0244	0.0118	0.0219	0.0220	0.0126	0.0221
1162	I	$(-\text{C}-\text{O}-)$ de $-\text{CH}_2$	0.0129	0.0120	0.0131	0.0106	0.0259	0.0089

Las absorbancias se relacionaron entre sí, a través de cocientes, para todo el conjunto de las bandas identificadas (**Tabla 2**). A partir de estos resultados se construyó una matriz de correlaciones, y con el criterio del valor de la correlación más próxima a la unidad, derivado de los grupos funcionales involucrados en los cocientes, se realizó un ajuste por Regresión Lineal de Mínimos Cuadrados Parciales (RLMCP) para ajustar los mejores modelos lineales y validar su respectivo índice químico, con los datos del espectro de interés para cada aceite.

Tabla 2. Valores de cocientes obtenidos a partir de relaciones establecidas para los aceites

Relación	A/B	A/C	A/D	A/E	A/F	A/G	A/H	A/I	B/C	B/D	B/E	B/F
Aguacate	0.1500	0.1338	0.0550	1.2353	0.2258	0.1795	0.0861	0.1628	0.8917	0.3665	8.2353	1.5054
Canola	0.1108	0.1990	0.0949	0.3223	0.6094	0.1585	0.3305	0.3250	1.7959	0.8564	2.9091	5.5000
Amaranto	0.8601	1.6907	1.4819	2.6595	4.1345	4.2051	2.2466	3.7557	1.9656	1.7229	3.0919	4.8067
Olivo	0.8079	1.8930	1.6286	1.0938	4.6636	5.4000	2.3318	4.8396	2.3432	2.0159	1.3539	5.7727
Nuez	0.4672	0.1952	0.2938	0.1397	1.0000	0.4130	0.4524	0.2201	0.4178	0.6289	0.2990	2.1404
Chía	0.1000	0.1123	0.2128	0.1944	0.9881	1.8864	0.3756	0.9326	1.1231	2.1282	1.9438	9.8810

Relación	B/G	B/H	B/I	C/D	C/E	C/F	C/G	C/H	C/I	D/E	D/F	D/G
Aguacate	1.1966	0.5738	1.0853	0.4110	9.2353	1.6882	1.3419	0.6434	1.2171	22.4706	4.1075	3.2650
Canola	1.4309	2.9831	2.9333	0.4769	1.6198	3.0625	0.7967	1.6610	1.6333	3.3967	6.4219	1.6707
Amaranto	4.8889	2.6119	4.3664	0.8765	1.5730	2.4454	2.4872	1.3288	2.2214	1.7946	2.7899	2.8376
Olivo	6.6842	2.8864	5.9906	0.8603	0.5778	2.4636	2.8526	1.2318	2.5566	0.6716	2.8636	3.3158
Nuez	0.8841	0.9683	0.4710	1.5052	0.7157	5.1228	2.1159	2.3175	1.1274	0.4755	3.4035	1.4058
Chía	18.8636	3.7557	9.3258	1.8949	1.7307	8.7976	16.7955	3.3439	8.3034	0.9133	4.6429	8.8636

Relación	D/H	D/I	E/F	E/G	E/H	E/I	F/G	F/H	F/I	G/H	G/I	H/I
Aguacate	1.5656	2.9612	0.1828	0.1453	0.0697	0.1318	0.7949	0.3811	0.7209	0.4795	0.9070	1.8915
Canola	3.4831	3.4250	1.8906	0.4919	1.0254	1.0083	0.2602	0.5424	0.5333	2.0847	2.0500	0.9833
Amaranto	1.5160	2.5344	1.5546	1.5812	0.8447	1.4122	1.0171	0.5434	0.9084	0.5342	0.8931	1.6718
Olivo	1.4318	2.9717	4.2636	4.9368	2.1318	4.4245	1.1579	0.5000	1.0377	0.4318	0.8962	2.0755
Nuez	1.5397	0.7490	7.1579	2.9565	3.2381	1.5753	0.4130	0.4524	0.2201	1.0952	0.5328	0.4865
Chía	1.7647	4.3820	5.0833	9.7045	1.9321	4.7978	1.9091	0.3801	0.9438	0.1991	0.4944	2.4831

Los modelos lineales ajustados se representan de la siguiente forma, ejemplo:

$IA = \alpha + \beta(A/B) + \delta(A/C)$ donde α representa la ordenada al origen, β y δ son las pendientes asociadas a cada relación.

Las correlaciones que se obtuvieron para cada índice fueron las siguientes:

Índice de yodo.- químicamente el índice de yodo es relacionado con la presencia de los dobles enlaces asignado a 3007 cm^{-1} en (A), con este criterio el modelo lineal, seleccionado con mejor ajuste fue:

$$IY = 83.87 - 298.77 (A/G) + 126.44 (A/F); \quad R^2 = 0.90$$

Índice de acidez.- constituye una medida del grado de hidrólisis de una grasa y se considera como una medida del grado de descomposición del aceite o grasa, por acción de las lipasas o por alguna otra causa. Por lo que el grupo éster (COO), localizado a 1575 cm^{-1} (F), que se deriva de la descomposición de los ácidos grasos se consideró en el modelo lineal.

El modelo lineal con mejor ajuste fue:

$$IA = 1.94817 - 1.124916 (A/F) + 0.80144 (A/G); \quad R^2 = 0.99$$

Índice de saponificación.- se define como el número de miligramos de hidróxido de potasio que se requiere para neutralizar los ácidos grasos resultantes de la hidrólisis completa de un gramo de la muestra. El modelo lineal con mejor ajuste fue:

$$IS = -44.93707 + 93.93790 (A/E) + 162.05677 (G/H); \quad R^2 = 0.98$$

Índice de peróxidos.- se define como la cantidad en microgramos de oxígeno activo, en 1 g de sustancia, que indica el grado de envejecimiento en los aceites esenciales. El modelo lineal con mejor ajuste fue:

$$IP = 11.61118 + 2.77441 (A/H) - 1.37996 (E/F); \quad R^2 = 0.92$$

La validación de estos modelos se comparó con los resultados obtenidos de los diferentes índices químicos, obtenidos por las técnicas tradicionales. La **Tabla 3** muestra los valores de los índices químicos y los estimados a través de RLMCP.

Tabla 3. Comparación de los índices químicos obtenidos mediante la técnica tradicional (Q) y por espectroscopia FT- IR

Aceite	IY		IA		IS		IP	
	Q	FT-IR	Q	FT-IR	Q	FT-IR	Q	FT-IR
Aguacate	76,9	72,46	1,79	1,95	133	150	10,6	11,6
Canola	96,4	101,50	1,35	1,46	321	323	11,9	9,9
Amaranto	116,1	101,58	NR	NR	296	291	15,8	15,7
Olivo	95,9	108,00	0,45	0,48	135	128	11,9	12,2
Nuez	136,5	152,00	1,01	0,89	152	146	3,8	3,0
Chía	188,7	175,20	2,23	2,03	NR	NR	3,8	5,6

IY=Índice de Yodo; IA=Índice de acidez; IS=Índice de saponificación; IP=Índice de Peróxidos; NR= No se realizó

Una representación gráfica de los valores de los índices obtenidos con ambas técnicas se muestra en la (Figura 2).

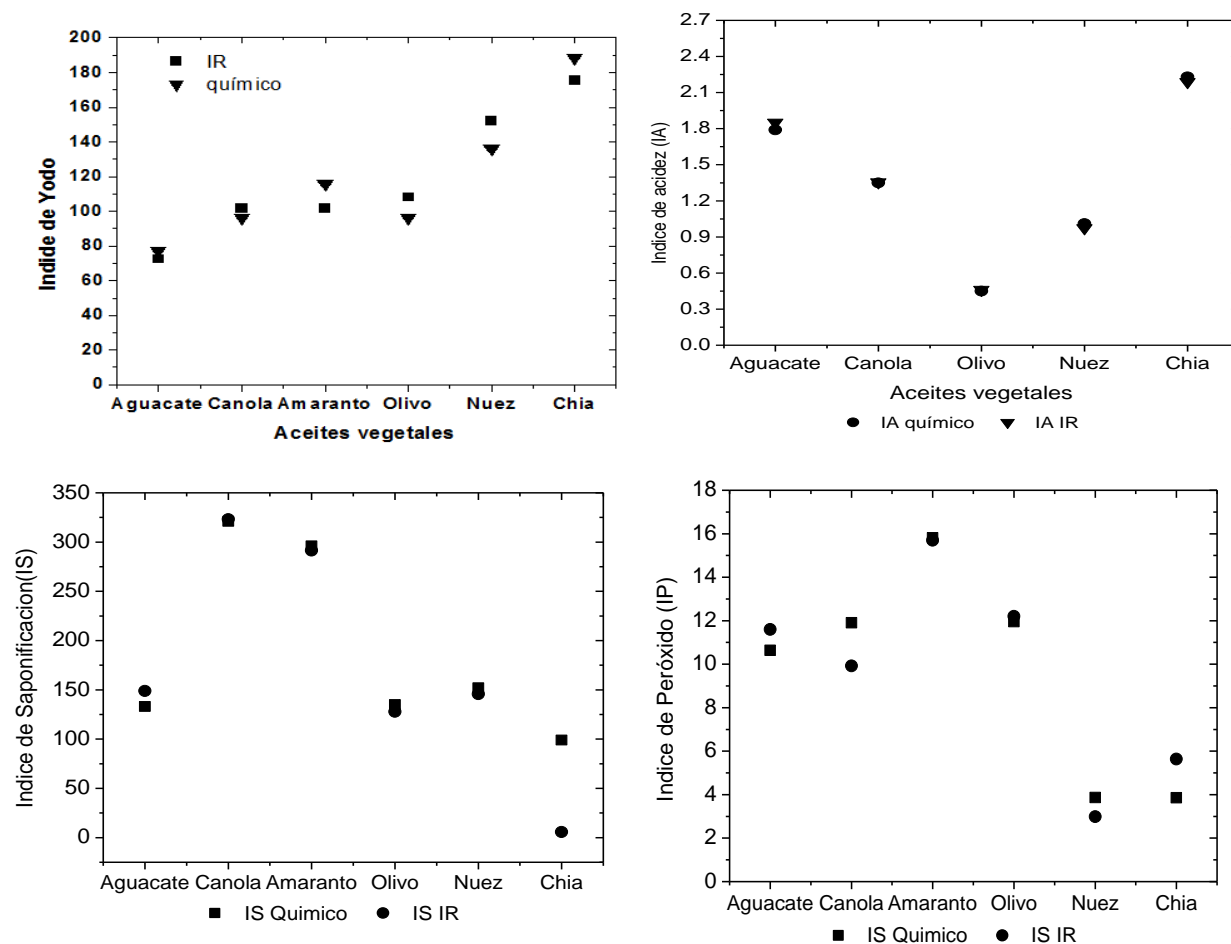


Figura 2. Representación gráfica de los valores de índices obtenidos con ambas técnicas

Se observa la correspondencia entre los resultados obtenidos por la técnica tradicional e IR para los índices químicos. Estudios realizados por Guillén y Cabo (1998) aplican la técnica de RLMCP para desarrollar y calibrar modelos lineales y con ellos obtener en varios

aceites comestible el IY; Che Man (1999), en un estudio similar en aceite de palma calibran un modelo lineal para obtener el IY.

CONCLUSIÓN

La técnica espectroscopia infrarroja puede ser utilizada como alternativa a los métodos tradicionales, esta técnica con el auxilio de herramientas estadísticas como la regresión con mínimos cuadrados parciales, hace posible la correlación de resultados que se obtienen en ambas técnicas.

BIBLIOGRAFÍA

Boekenoogen, H. A.1964. Analysis and characterization of oils, fat, and fat products; London.

Che Mana Y.B., Setiowatya G, and van de Voortb F.R. 1999. Determination of Iodine Value of Palm Oil by Fourier Transform Infrared Spectroscopy. Journal of the American Oil Chemists Society,76 (6), 693-699.

Guillén María y Cabo Nerea. 1998. Relationships between the Composition of Edible Oils and Lard and the Ratio of the Absorbance of Specific Bands of Their Fourier Transform Infrared Spectra. Role of Some Bands of the Fingerprint Region. Journal Agricultural Food Chemical, 46, 1788-1793.

Nielsen S. 2003 (ed); Food Analysis Laboratory Manual; Kluwer Academic/PlenumPublishers, Nueva York.

Nielsen S. 1998. (ed); Food Analysis Second Edition; An Aspen Publication, Gaithersburg, Maryland.

Nurrulhidayah, A.F., Che Man, Y.B., Rohman, A., Amin, I., Shuhaimi, M. and Khatib, A. 2013. Authentication analysis of butter from beef fat using Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy coupled with chemometrics. International Food Research Journal 20(3): 1383-1388.

Pearson. D. 1993. Técnicas de laboratorio para el análisis de alimentos; Acribia, Zaragoza (España).

Pretsch E, Clerc T, Seibl J, Simon W (1980). Tables for Structural, Elucidation of Organic Compounds by Spectroscopic Methods Ed Alhambra. Madrid, pp. 80-90.

Yaakob B., Che Man, Rohman A. Mansor T. S. T. 2011. Differentiation of Lard From Other Edible Fats and Oils by Means of Fourier Transform Infrared Spectroscopy and Chemometrics. Journal of Amerian Oil Chememist Society, 88, 187–192

EFFECTO DEL METODO DE ACIDIFICACION Y ACIDEZ DE LA LECHE DE BÚFALA EN EL PROCESO DE ELABORACION, VIDA UTIL Y RENDIMIENTO DEL QUESO DOBLE CREMA

Arteaga M, Margarita⁽¹⁾; **Sáez F, Luz**⁽²⁾; **Velásquez A, Gretty**⁽²⁾

(1) Docente asociado – Investigador. Programa de Ingeniería de Alimentos, Facultad de Ingeniería, Universidad de Córdoba, Colombia. E-mail: mrarteaga@correo.unicordoba.edu.co

(2) Ingeniera de Alimentos, Universidad de Córdoba

INTRODUCCION

El queso doble crema es un producto autóctono colombiano, fresco, ácido, de forma cilíndrica, color blanco crema, textura cerrada, sin ojos o con algunos pocos, posiblemente por el aire atrapado durante el hilado y el moldeo, queso semiblando de mediano a alto contenido de materia grasa. Este queso se elabora a partir de leches ácidas, durante la fabricación se somete a un tratamiento mecánico y térmico que da como resultado una cuajada fibrosa y elástica o plástica. (Rodríguez y Novoa, 1994; Mejía y Sepúlveda, 1999). La leche de búfala por ser notablemente diferente en cuanto a la composición a la de vaca ha planteado varios problemas tecnológicos de elaboración para la obtención de derivados lácteos. Actualmente, y gracias al desarrollo tecnológico alcanzado, se elaboran con muy buenos resultados una amplia gama de productos. Las principales variedades de quesos elaborados con leche de vaca son industrializadas con leche de búfala, destacándose el queso Mozzarella que adquiere características únicas y precios diferenciales al ser realizado con leche bubalina. (Patiño, 2011). El queso Mozzarella es un queso de pasta hilada igual que el queso doble crema. El objetivo de esta investigación es evaluar el efecto que tiene el método de acidificación y acidez de la leche de búfala en el proceso de elaboración, vida útil y rendimiento del queso doble crema.

MATERIALES Y MÉTODOS.

MATERIALES: Para la elaboración de los quesos doble crema se utilizó leche de búfalas producida en la Región de Córdoba (Colombia). Los quesos fueron obtenidos en la planta piloto y caracterizada en los laboratorios de Análisis de alimentos, lactología y microbiología de alimentos pertenecientes al programa de Ingeniería de alimentos de la Universidad de Córdoba sede Berástegui, ubicada en el Departamento de Córdoba (Colombia).

MÉTODOS: Caracterización de la leche de Búfala. A la leche cruda se le realizaron los análisis fisicoquímicos presentados en la tabla 1. La toma de muestras y preparación de la leche para la iniciación del proceso de elaboración del queso doble crema se realizó según los métodos 925.20 y 925.21 de la A.O.A.C. adaptado respectivamente. **Elaboración de queso doble crema.** La metodología que se utilizó para elaborar queso doble crema a partir de leche de Búfala, se basó en el proceso descrito por Rodríguez y Novoa (1994). **Tratamientos:** Se realizaron 6 tratamientos, variando el método de coagulación de la leche (Cultivos lácticos o ácido láctico) y el valor de la acidez necesaria para producir la coagulación de la leche (46, 50 y 54°D) dichos tratamientos se muestran en la Tabla 2. El cultivo láctico utilizado fue mesófilo compuesto de *Lactococcus lactis* Subsp. *Lactis* y *Lactococcus lactis* Subsp. *cremoris*. **Determinación del tiempo de vida útil del queso doble crema.** Se tomaron muestras de los quesos (1500 g.) de los diferentes tratamientos, se almacenaron por 30 días en condiciones de refrigeración (9-10°C) y cada 8 días se realizaron mediciones microbiológicas y fisicoquímicas. En la tabla 3 y 4 se presentan los análisis y método utilizado para determinar los diferentes análisis, respectivamente. **Rendimiento del queso doble crema.** El rendimiento teórico se estimó con base en la fórmula de Jensen (1971) citado por Brito, Niklitschek, y Molina (2002), se supuso que el comportamiento de transferencia de componentes de la leche de Búfala es igual a la de la leche de vaca. El rendimiento real se calculó por el número de Kg de queso obtenido a partir de 100 Kg de leche. Fórmula:

$$R = \frac{(0.9 \times MG_L + 0.7 \times P_L + 0.35 \times Z_L + 0.04 \times L_L) \times 100}{100 - (H_Q + S_Q)}$$

En donde; R : rendimiento (Kg de queso/100 Kg de leche); MG_L : materia grasa de la leche (g/100g); P_L : contenido de proteína de la leche (g/100g); Z_L : ceniza de la leche (g/100g); L_L : lactosa de la leche (g/100g); H_Q : humedad de queso (g/100g); S_Q : sal del queso (g/100g).

Procesamiento de datos: Se utilizó un diseño completamente al azar. Se realizaron 4 repeticiones por tratamiento en duplicado. Se realizó un análisis de varianza, si había diferencias significativas se utilizaron curvas de tendencia de la acidez. Cuando no hay interacción, se aplica la prueba de Dunnett o Bonferroni de acuerdo si resulte significativo o

no. Se utilizó el programa SAS versión 8 y hoja de cálculo Excel para la interpretación de los resultados.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CARACTERIZACIÓN DE LA LECHE DE BÚFALA. Los valores promedio obtenidos de los análisis físico-químicas de la leche de búfala fueron 5,91% de materia grasa, 4,01% de proteína, 5,35% de lactosa, 14,89% de sólidos totales, 0,80% de cenizas, acidez de 0.19% Acido láctico, pH de 6,44 y antibiótico negativo. Al comparar los resultados obtenidos con los reportados por otros autores, como, Hurtado et al. (2005), Patiño y Guanzioli (2005) Campanile (2006), Soto y Teherán (2007), Puente y Soto (2007) y Ahmad et al. (2008), Andrade et al. (2010) se observa que los valores hallado coinciden con los reportados por los autores que ejecutaron sus investigaciones en la misma región que se realizo ésta (Región de Córdoba- Colombia); los datos reportados por los otros autores se encuentran fuera del rango ya sea por encima o por debajo, estas variaciones dependen de la raza, factores genéticos y propios del individuo, edad, manejo, sanidad del animal, ciclo de lactancia, alimentación, época del año, entre otros factores. (Yadav (2002), Patiño (2004), Hurtado et al. (2005), Teixeira et al. (2005) y Lopes (2006) citado por Andrade et al. (2009).

PROCESO DE ELABORACIÓN: En la tabla 5 se presenta el valor promedio de los parámetros obtenido durante el proceso de elaboración del queso doble crema en los diferentes tratamientos. **Tiempo de coagulación.** Existen diferencias significativas entre el tratamiento 6 y los demás tratamientos, siendo este el menor tiempo de cuajado. La acidificación con cultivos es más lenta al compararla con la del acido láctico (Santos, 1996). Todos los valores reportados para el tiempo de cuajado se ajustan a los tiempos arrojados con un queso doble crema con leche de vaca (ICTA, 1986). La coagulación se produce cuando se alcanza el punto isoeléctrico de la caseína, con anulación de las cargas eléctricas. La coagulación conlleva a una total desmineralización de la micela y la destrucción de la estructura micelar (gel muy frágil). Ramírez et al. (2010). **Tiempo de acidificación de la cuajada.** Existen diferencias significativas entre tratamientos, el tiempo de acidificación entre tratamientos vario entre 9.25 a 22.75 minutos, el cual se encuentra por debajo a los valores reportados por ICTA, (1986) (entre 25 a 90 minutos). Esto se debe al manejo de valores de acidez superiores a los que se utilizan en quesos elaborado a partir de leche de vaca, lo cual hace que se presente una desmineralización de la cuajada más rápida (Santos,

1996), se obtenga más rápido la característica de plasticidad deseada (pechuga de pollo) en la cuajada; que se consigue al reaccionar el ácido láctico con el paracaseinato bicalcico removiendo poco a poco el fosfato de calcio coloidal de las submicelas de caseína y se convierta a paracaseinato monocalcico, transformando la cuajada inicialmente friable, degranable y discontinua en una masa elástica, continua y flexible (Brito, 2000; Ramírez et al. 2010) lo que implicó una disminución en el tiempo de acidificación es decir, a mayor porcentaje de acidez más rápido se llega a las condiciones adecuadas de pH, en el que la cuajada presenta las mejores características de elasticidad, humedad y brillo de la masa hilada (ICTA, 1986) . **pH y acidez de acidificación de la cuajada.** El análisis estadístico tanto del pH como de la acidez muestra que existen diferencias significativas entre tratamientos, lo que quiere decir que en ambos parámetros influye el método de acidificación y acidez de la mezcla de leche utilizado, es decir, la leche acidificada por cultivo presentan en la cuajada un pH más bajo con respecto al método donde se utilizó ácido láctico. Esto se debe a que los microorganismos producen ácido láctico según la disponibilidad de lactosa y condiciones ambientales adecuadas hasta llegar un valores de acidez en los cuales ellos puedan sobrevivir. Los valores de acidez superiores inhiben estos microorganismos. (Tamime y Robinson, 1991). El pH de acidificación entre tratamientos varió entre 4.8 y 5.13 estos valores están por debajo al reportado por Jaramillo *et al.* (1999) que es de 5.06, a excepción del tratamiento 5. A pH mas alto el queso no hiló, por los que se manejaron estos valores durante el proceso de elaboración de queso doble crema con leche de búfalo, lo que representa una modificación en este parámetro de elaboración de queso doble crema con leche de Búfala. La acidez varió entre 0.30 y 0.48% AL. Jaramillo *et al.* (1999) reporta una acidez de 0.39 % AL y la cuajada debe encontrarse elástica, brillante y con la estructura de plasticida y elasticidad adecuada (pechuga de pollo) (ICTA, 1986), tal como se obtuvo en los tratamientos. **Temperatura y tiempo de hilado.** En ambos parámetros existen diferencias significativas entre tratamientos. La temperatura vario entre 94 y 95,5°C, es alta para este tipo de queso, si la comparamos con la temperatura recomendada (70-75°C) (Jaramillo *et al.*, 1999). Estas altas temperaturas pudo influir en la estructura rígida y seca de los quesos obtenidos ayudando a que se presentara mayor expulsión de suero y grasa. El tiempo de hilado se encuentran dentro del rango reportado por Rodríguez y Novoa (1994) (5- 10 minutos). El método de acidificación afecta los tiempos de hilado del queso. A medida que aumenta la acidez de mezcla disminuye el tiempo de hilado. El proceso de elaboración de queso doble crema de leche de vaca, se modifico según los parámetros obtenidos y discutidos en las condiciones de proceso, ya que la leche de búfala no presenta las mismas características tecnológicas que la leche de vaca

para la elaboración de queso doble crema, debido a su composición, en la figura 1. se muestra el diagrama de flujo del procedimiento modificado y adecuado para la leche de búfala.

VIDA ÚTIL: En la figura 2, se observa que a partir de la segunda semana hay un cambio de pH manteniéndose estable hasta la cuarta semana. Esto posiblemente se debe a crecimiento de moho y levaduras. Respecto al porcentaje de acidez se puede observar en la figura 3 una estabilidad durante las dos primeras semanas, presentando una disminución a partir de la tercera semana, manteniéndose la relación pH acidez. Se observa en la tabla 6, para la humedad que hay diferencia significativa entre semanas, posiblemente esto se presentó por una deshidratación durante la refrigeración por problemas de empaque. Respecto a la proteína, esta se mantuvo estable en el tiempo. A partir de la cuarta semana se observa una variación en los contenidos de grasa, es posible que se presenta por el crecimiento de mohos y levaduras que producen enzimas lipolíticas (Doyle *et al.*, 2001). El contenido de ceniza se mantuvo estable en el tiempo. Se presenta un aumento progresivo del contenido de sal, esto se debe a la pérdida de humedad del producto, lo cual hace que ésta se concentre más. El recuento de Coliformes Fecales, *Stafylococcus aureus coagulasa positiva* y Salmonelas arrojaron resultados inferiores a los parámetros establecidos en la norma del INVIMA para quesos frescos. En la figura 4, se observa que el comportamiento de mohos y levaduras durante un periodo de 4 semanas para los tratamientos presenta un crecimiento progresivo manteniéndose por dentro de los parámetros establecidos por la norma INVIMA para quesos frescos durante las tres primeras semanas, observándose un mayor crecimiento en la cuarta semana saliéndose de los parámetros establecidos por INVIMA (<500 moho y levadura /g), por lo cual se puede decir que el producto se mantiene estable hasta la tercera semana de su elaboración (21 días).

RENDIMIENTO DEL QUESO DOBLE CREMA. Existen diferencias significativas entre tratamientos. El rendimiento practico varió entre 11.16% y 13.38 % siendo valores superiores a los reportados por Jaramillo *et al.* (1999), quien muestra valores entre 8.2 y 9.2% para quesos con leche de vaca, estos valores son alcanzados porque el tipo de leche utilizada contiene mayores valores de grasa, proteína (caseína 3.6%) y sólidos que la de la leche de vaca (FAO, 2006). El rendimiento práctico en comparación al rendimiento teórico, presenta discrepancia en todos los tratamientos. Esto posiblemente se debe a que la fórmula utilizada es de aplicabilidad para la leche de vaca y no para la leche de búfalo, posiblemente los coeficientes de transición son diferentes.

CONCLUSIONES

Las características físico-químicas de la leche de Búfalas permitiendo elaborar queso doble crema de buena calidad pero diferente al obtenido con la leche de vaca.

Las condiciones de proceso para elaborar el queso doble crema a partir de leche de búfala se ven modificadas en relación a las establecidas para elaborar este tipo de queso utilizando leche de vaca, debido a la composición de la leche de búfala .

El producto se mantiene estable hasta la tercera semana (21 días) de su elaboración, tiempo de vida útil establecido para los quesos doble crema elaborados con leche de vaca.

El rendimiento práctico obtenido al elaborar el queso doble crema con leche de búfala es mayor en un 28% al obtenido para este mismo queso elaborado con leche de vaca.

El queso doble crema elaborado con una acidez de 0.54% Al. y con ácido láctico es el tratamiento que más cerca se encuentra a los parámetros de un queso doble crema con leche de vaca, presentando un mejor rendimiento (13.37%) respecto a los demás tratamientos; siendo el rendimiento mucho mayor que el de vaca en un 45%.

BIBLIOGRAFÍA.

Ahmad, S; Gaucher, I; Rousseau, F; Beaucher, E; Piot, M; Grongnet, J; Gaucheron, F. 2008. Effects of acidification on physico-chemical characteristics of buffalo milk: a comparison with cow's milk. Food chemistry 106. P. 11–17.

Andrade, R; Arteaga, M; Simanca, M. 2010. Efecto del salvado de trigo en el Comportamiento reológico del yogurt de leche de búfala. Información tecnológica.vol. 21(5), P 117-124.

Andrade, R; Vélez, G; Arteaga, M; Díaz, Y; Sánchez, S. 2009. Efecto de la neutralización y adición de edulcorante en las propiedades fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales del arequipe de leche de búfala. Vitae Revista de la Facultad de Química farmacéutica. ISSN 0121-4004 V.16 N 2. P 201 -209.

Brito. C. Queso Mozzarella. Documento Tecnología de lácteos, Magíster en Ciencias y Tecnología de la leche. Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad Austral de Chile. 2000. P.10 Brito, C; Niklitschek, L; Molina, L; Molina, I. 2002. Evaluation of mathematical equations to predict the theoretical yield of chilean gouda cheese. International Journal of dairy technology. 55 (1). P. 32-39.

Campanile, G. 2006. Nutrition and milk production in dairy búfalo. En: III Simposio búfalos de las Américas y II Simposio de búfalos de Europa y las Américas. <http://www.bufalos.org.ar/archivos/boletin13.pdf>. [Accedido 01-13-2011].

Doyle, M; Beuchat, L; Montville, T; 2001. Microbiología de los alimentos. Fundamentos y fronteras. Acribia, Zaragoza, 456 p.

FAO. 2006. Corporate Document Repository. Milk-Laite-Leche. <http://www.fao.org/docrep/005/ac854t/ac854t90.htm> [Accedido 02-11-2011].

Hurtado, L; Cerón, M; Lopera, M; Bernal, A; Cifuentes, T; 2005. Determinación de parámetros físico-químicos de leche Bufalina en un sistema de producción orgánica. <http://cipav.org.co/lrrd/lrrd17/1/hurt17001.htm>. [Accedido: 12-15-2012].

ICTA. 1986. Manual de elaboración de queso doble crema. Inventario y desarrollo de la tecnología de productos lácteos campesinos en Colombia. Universidad Nacional de Colombia, Bogota, 58 p.

INVIMA. 1998. Manual de técnicas de análisis para control de calidad microbiológico de alimentos para consumo humano. Ministerio de salud. Santa fe de Bogota, 124 p.

Jaramillo, M; Mejia, L; Sepúlveda, J. 1999. La leche y su control. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Departamento de Ingeniería Agrícola y Alimentos, Medellín, 175p.

Ramírez, J; Osorio, M; Rodríguez, A. El Quesillo: un queso colombiano de pasta hilada. Tecnología Láctea Latinoamericana N° 60, 2010. P. 63 -67

Mejia, L; Sepúlveda, J. 1999. Tecnología de los quesos procesados y madurados. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Departamento de Ingeniería Agrícola y Alimentos, Medellín, 130 p.

Official Methods Of Analysis Of The Association Of Official Analytical Chemists. 1990. Kenneth Helkrich. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, 804-819, 840-849 p.

Patiño E. 2004. Factores que afectan las propiedades físicas y la composición química de la leche de búfalas (*Bubalus bubalis*) en Corrientes, Argentina. Rev Vet. 15 (1). P 1–25.

Patiño, E; Guanziroli, C. 2005. Composición de leche de búfala (*Bubalus bubalis*) de raza Jafarabadi en Corrientes Argentina. <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n050505.html>. [Accedido: 02-12-2010].

Puente, J; Soto, E. 2007. Estandarización del proceso de elaboración del quesillo (queso de pasta hilada) con leche de búfala. Ingeniero de Alimentos. Universidad de Córdoba. Berastegui.

Rodríguez, C; Novoa, C. 1994. Guía para producir quesos colombianos. Banco Ganadero y Universidad Nacional de Colombia. Banco Ganadero, Suplemento Ganadero, Bogotá, 180 p.

Santos, A. 1996. Leche y sus derivados. Trillas, México, 290 p.

Soto, J; Teherán, L. 2007 Evaluación de la composición físico-química y microbiológica de la leche de búfala en las cinco fincas de mayor producción del departamento de Córdoba. Ingeniero de alimentos. Universidad de Córdoba. Berastegui.

Tamime, A; Robinson, R. 1991. Yogurt: ciencia y tecnología. Acribia, Zaragoza, 275 p.

Teixeira, L; Bastianetto, E; Oliveira, D. 2005. Leite de búfala na indústria de produtos lácteos. Rev Bras Reprod Anim. 29 (2) P. 96-100.

Yadav, P; Mandal, A; Y Dahiya, D; 2002. Feeding pattern and mineral state of buffaloes in Panipat state of Haryana. Anim Nutr Feed Technol, 2(1). P 127-139.

Tabla 1. Metodología para la determinación de análisis fisicoquímicos de la leche cruda.

Análisis	Referencia	Método
Grasa.	British Standard N°696	Gerber.
Proteína.	920.105 de la A.O.A.C. adaptado.	Kjedahl
Ceniza.	A.O.A.C. Internacional 33.2.10 1995.	Método gravimétrico
Lactosa.	930.28 de la A.O.A.C. adaptado.	Método gravimétrico
Sólidos totales.	925.23 de la A.O.A.C. adaptado.	Estufa modificado
Antibióticos.	982.15 de la A.O.A.C. adaptado	
Acidez.	947.05 de la A.O.A.C. adaptado	Titulométrico
pH.	973.41 de la A.O.A.C. adaptado	Potenciométrico

Tabla 2. Tratamientos para elaborar queso doble crema.

Tratamiento	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Formulación	M1A1	M1A2	M1A3	M2A1	M2A2	M2A3

Donde: Método de acidificación: M1= Cultivo Láctico M2= Acido Láctico

Acidez de coagulación: A1=46°D A2=50°D A3=54°D. °D: grado Dornic.

Tabla 3. Metodología para la determinación de análisis microbiológico del queso doble crema.

Análisis	Referencia	Método
Coliformes fecales.	INVIMA (1998).	Técnica del número más probable (NMP)
Mohos y levaduras	INVIMA (1998).	Recuento en placa en siembra profunda
<i>Stafilococcus aureus</i> coagulasa positiva	INVIMA (1998)	Recuento en placa en siembra en superficie.
Salmonella	INVIMA (1998).	Pruebas bioquímicas

Tabla 4. Metodología para la determinación de análisis fisicoquímicos del queso doble crema.

Análisis	Referencia	Método
pH	973.41 A.O.A.C. adaptado.	Potenciometría
Acidez.	920.124 A.O.A.C adaptado.	Método titulométrico
Humedad.	948.12 A.O.A.C adaptado.	Método gravimétrico
Proteína	920.123 A.O.A.C. adaptado.	Método de Kjeldahl
Materia grasa	NEN 3059: 1957. LEIDEN, ISSO N° 3433. 1975)	Método de Van Gulik
Cloruros	A.O.A.C. Internacional 1995. 33.7.10.	Método titulométrico
Cenizas	A.O.A.C. Internacional 1995. 33.7.07.	Método gravimétrico

Tabla 5. Valores promedio de las condiciones de proceso del queso doble crema.

Tratamiento	Tiempo de coagulación (min.)	Tiempo de acidificación (min.)	pH de acidificación	Acidez en acidificación (%ac. lact)	Temperatura de hilado (°C)	Tiempo de hilado (min.)
1	32.75 a	20.75 ab	4.85 b	0.35 b	95 ab	9.75 a
2	32.00a	16.50 c	4.85 b	0.39 ab	95.5 a	8.5 ab
3	30.25 a	11.00 d	4.83 b	0.49 a	94 b	7.75 b
4	32.50 a	22.75 a	5.03 a	0.31 b	95 ab	8.75 ab
5	31.50 a	18.25 bc	5.13 a	0.33 b	94 b	9.75 a
6	20.75 b	9.25 d	4.93 ab	0.35 b	95 ab	8.75 ab

a,b,c: Medidas con letras iguales no difieren según la prueba de Duncan al 5% de significancia.

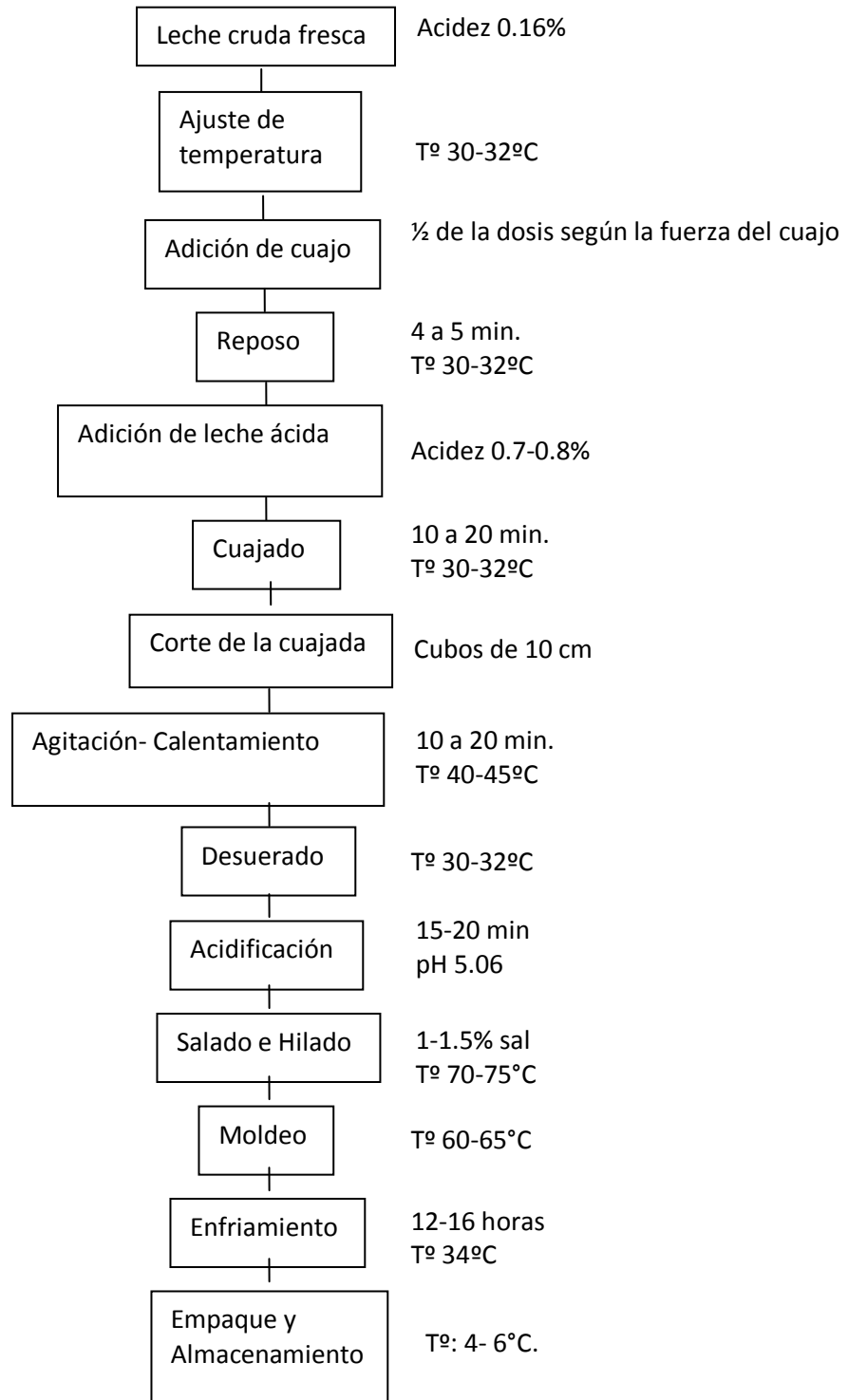


Figura 1. Diagrama de flujo de queso doble crema con leche de búfala.

Fuente: Rodríguez y Novoa (1994) con modificaciones según investigación

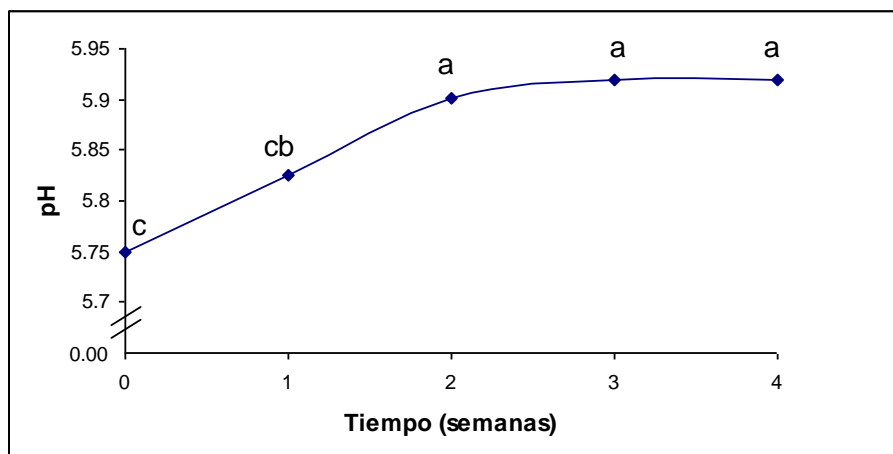


Figura 2. Evaluación del pH del queso doble crema en el tiempo.

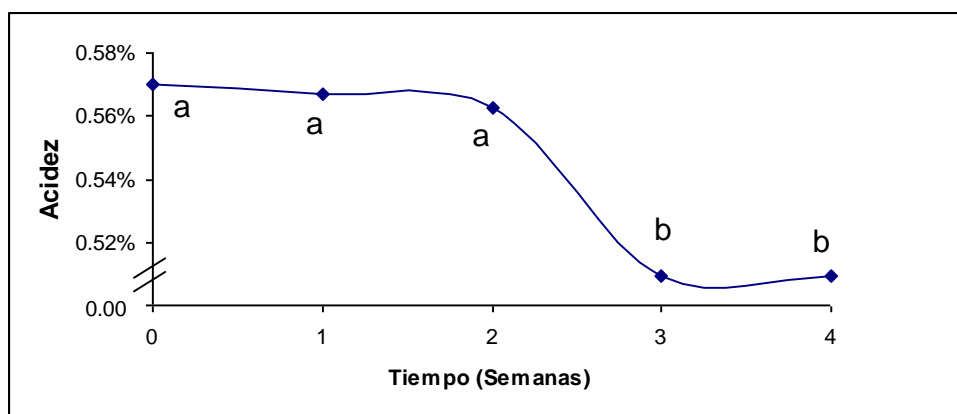


Figura 3. Evaluación de la Acidez queso doble crema en el tiempo

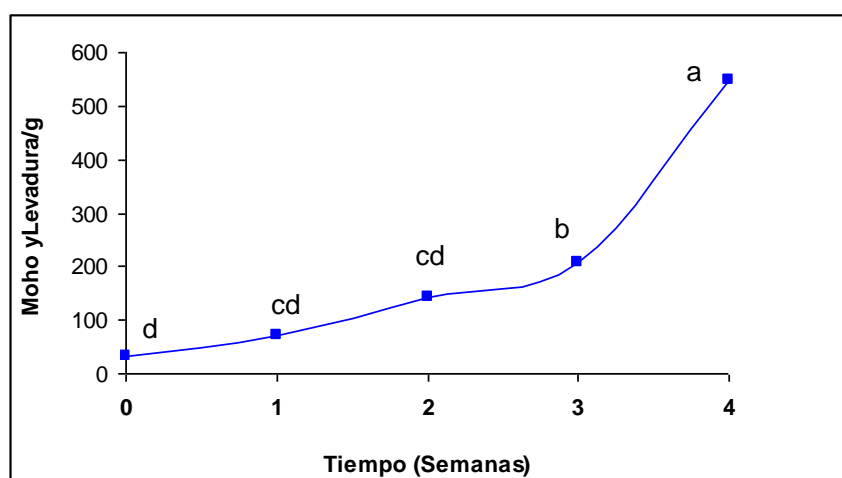


Figura 4. Evaluación de mohos y levaduras en el tiempo

Tabla 6. Resultados del análisis fisicoquímicos a través del tiempo (4 semanas)

Tiempo (Semanas)	Humedad (%)	Proteína (%)	Grasa (%)	Ceniza (%)	Sal (%)
0	45.80 a	31.67 a	15.88 a	3.84 a	0,73 d
1	45.65ab	31.65 a	15.73ab	3.85 a	0,75 cd
2	45.49ab	31.63 a	15.61ab	3.85 a	0,76cd
3	45.38b	31.61 a	15.58ab	3.85 a	0,78ab
4	45.36b	31.60 a	15.39b	3.85 a	0,79a

A,b,c: Medidas con letras iguales no difieren según la prueba de Duncan al 5% de significancia.

OPTIMIZACIÓN DE LA HIDRATACION DE MASAS SIN GLUTEN ENRIQUECIDAS CON CONCENTRADOS DE β -GLUCANOS DE CEREAL

Felicidad Ronda; Sandra Pérez-Quirce; Ana Moraleja

Área de Tecnología de los Alimentos. Departamento de Ingeniería Agrícola y Forestal E.T.S. de Ingenierías Agrarias. Campus de Palencia. Universidad de Valladolid.
Correspondencia: fronda@iaf.uva.es

INTRODUCCIÓN

La actual demanda de alimentos más saludables hace que tanto la industria como los investigadores dirijan sus esfuerzos hacia el desarrollo de panes que combinen beneficios para la salud con unas adecuadas características sensoriales. Este objetivo representa un reto especial en los panes sin gluten (GF) ya que es éste el que crea la red viscoelástica capaz de retener el gas generado en la fermentación, que permite conseguir en los panes de harina de trigo un adecuado volumen y textura. Los panes sin gluten, elaborados con harinas de arroz u otros cereales sin gluten y/o mezclas de ciertos almidones, frecuentemente se caracterizan por un pobre balance nutricional. En general adolecen de una menor proporción de proteína respecto a carbohidratos y un menor contenido en fibra que los panes convencionales (Thomson 2009).

Los hidrocoloides son generalmente utilizados en los panes GF como sustituto del gluten debido a su alta capacidad de absorción de agua y de creación de estructura (Houben, Hoechstetter, and Becker 2012). La disponibilidad de agua juega un papel crucial en la funcionalidad de los hidrocoloides (Anton 2008). El Hidroxi-propil-metil celulosa (HPMC) es uno de los hidrocoloides más ampliamente utilizados en la elaboración de pan sin gluten.

Los efectos positivos de los aislados de β -glucanos de cereal sobre la salud han sido ampliamente comprobados (Wood 2010). La Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) ha aprobado recientemente alegaciones de salud para los alimentos que contribuyan a una ingesta diaria de 3 g de β -glucanos (BG) de avena o cebada por su capacidad para reducir los niveles de LDL-colesterol en sangre y para alimentos que aporten al menos 4 g/30 g de carbohidratos, por reducir la respuesta glicémica posprandial (EFSA 2011). Por otra parte, los aislados de β -glucanos de cereal son hidrocoloides con propiedades espesantes que aumentan la consistencia y viscosidad de las masas (Lazaridou, 2007). De modo que, al tiempo que aumentan el valor nutricional de los panes sin gluten en términos de aporte de fibra dietética con probados beneficios para la salud, pueden ayudar a la creación de estructura en los panes GF. Es conocido que una alta concentración de β -glucanos disminuye

la disponibilidad de agua en las masas de trigo perjudicando las propiedades de panificación (Gill et al 2002). También ha sido anteriormente comprobada la evidente importancia de la hidratación de la masa en la elaboración de panes sin gluten (Ronda et al. 2013).

Para calcular la hidratación óptima de las masas de trigo se dispone de equipos de reología empírica que no resultan adecuados en el caso de las masas sin gluten. Los métodos para establecer las necesidades de hidratación de las masas sin gluten no están suficientemente estudiados ni resueltos hasta el momento.

Se han realizado ensayos de reología fundamental de masas de harina de arroz de diferentes grados de hidratación, enriquecidas con β -glucanos de avena en dosis equivalente a la recomendada por EFSA. Se han realizado ensayos oscilatorios y de creep y se ha estudiado el efecto de dicha hidratación sobre la calidad del pan.

MATERIALES Y MÉTODOS

En el presente estudio se elaboraron masas de pan sin gluten en base almidón de arroz enriquecidas con concentrado de beta-glucano de avena (OBG) en una dosis del 8% de producto comercial, equivalente a un 2,5% de producto puro relativo a harina de arroz. A la harina de arroz se le añadió, además, cantidades crecientes de agua, de 100 a 130% en base a harina, sal, azúcar, HPMC (hidroxipropilmetilcelulosa) y aceite de girasol. Igualmente se elaboraron masas control, sin OBG, con hidrataciones crecientes, de 78 a 99%. Se conectó la amasadora durante 8 minutos y al finalizar, se dejó reposar la masa durante 10 minutos antes de comenzar los ensayos reológicos.

Los ensayos reológicos (barrido de esfuerzos, barrido de frecuencias y ensayos de deformación progresiva) se llevaron a cabo en un reómetro con placas paralelas de superficie serrada y 3 mm de separación entre ellas. El exceso de masa se retiró y se aplicó aceite de vaselina para cubrir las superficies expuestas. La temperatura de los ensayos se fijó en 25 °C, y una vez depositada la masa en las placas, se esperó 500 s para permitir su relajación antes de cada ensayo.

Los ensayos de barrido de esfuerzos se realizaron en el rango de 0,1 a 1000 Pa y a una frecuencia de 1 Hz. Estos ensayos permitieron establecer la zona viscoelástica lineal (LVR) mediante la localización del valor del esfuerzo, τ_{\max} , que producía el descenso del módulo elástico G' y el aumento de la tangente de pérdida, $\tan \delta$. Los barridos de frecuencias se realizaron por duplicado en el intervalo de 20 a 0,1 Hz a un esfuerzo correspondiente al centro de la región viscoelástica lineal (LVR), a esfuerzos comprendidos entre 1.5 y 12 Pa.

Los módulos viscoso y elástico y la $\tan \delta$ obtenidos en estos ensayos, se ajustaron a ecuaciones potenciales (Ronda et al. 2011). De los coeficientes de ajuste se extrajeron los valores de los módulos elástico y viscoso y de la tangente de pérdida a 1 Hz y de los exponentes se dedujo la dependencia de estos parámetros con la frecuencia.

Los ensayos de deformación o relajación progresiva se realizaron mediante la aplicación de un esfuerzo de cizalla instantáneo sobre la muestra dentro de la zona viscoelástica lineal, que se mantuvo constante durante 150 s en el periodo inicial y se anuló en la zona de recuperación, que se prolongó durante 300 s adicionales. Estos ensayos se realizaron como mínimo por duplicado y se expresaron en términos de capacitancia elástica, J . Los datos experimentales se describieron por el Modelo de Burgers de cuatro parámetros en términos de capacitancia mecánica tanto en la fase de deformación como en la fase de recuperación (Ronda et al. 2013).

Se utilizaron los programas Statgraphics Centurion v.6 y STATISTICA v.6 para el ajuste de los ensayos a ecuaciones no lineales, análisis de varianzas y correlaciones.

RESULTADOS

Ensayos oscilatorios

Las propiedades viscoelásticas de las masas panarias a base de almidón de arroz con una dosis de beta-gucano que superó en un 40 % la dosis recomendada por EFSA y dosis crecientes de agua, se estudiaron mediante pruebas oscilatorias dinámicas.

A partir de los ensayos de barrido de esfuerzos a 1 Hz, se obtuvieron los valores de los esfuerzos máximos en la zona viscoelástica lineal. Los esfuerzos máximos a partir de los cuales las masas experimentaron una destrucción de su estructura oscilaron entre 2 y 8 Pa. Los esfuerzos máximos disminuyeron al aumentar la dosis de agua.

Los barridos de frecuencia (Figura 1) revelaron un comportamiento en la masa típico de los sólidos viscoelásticos, incluso para las masas de mayor hidratación. Se comprobó que el aumento de la hidratación disminuía los módulos tanto elástico como viscoso, G' y G'' , de la masa, pero de forma que la tangente de pérdida, $\tan \delta$, aumentó con el aumento de agua en la masa. Esto indica que el efecto fue más marcado sobre el módulo elástico que sobre el viscoso. El agua debilita la estructura de la masa y permite controlar su consistencia. La consistencia óptima de la masa fue aquella suficientemente alta para retener el gas producido durante la fermentación, pero lo más baja posible, una vez salvado ese requisito, para

conseguir una máxima extensión por la acción de este gas tanto en el momento de su producción, como de su expansión durante el horneado.

La variación de los módulos G' , G'' y $\tan \delta$ a 1 Hz con la concentración de agua en la masa siguió una evolución potencial del tipo $G' = a \cdot W^m$; $G'' = b \cdot W^n$ y $\tan \delta = c \cdot W^p$ donde W es la hidratación de la masa. Los coeficientes a , b y c , representan los módulos elástico y viscoso y la tangente de pérdida a una hidratación hipotética unidad. Los exponentes m , n y p cuantifican el grado de dependencia de estas magnitudes viscoelásticas con la hidratación. La tabla 1 recoge estos coeficientes de ajuste para las masas con OBG y para las masas control.

Ensayos de deformación y relajación progresiva

La Figura 2 muestra un gráfico de evolución de la capacitancia mecánica de las masas durante el período de deformación progresiva y el de recuperación. Los ensayos de deformación o relajación progresiva se llevaron a cabo con aplicación de esfuerzos dentro de la región viscoelástica lineal y se mantuvieron durante 150 s, tiempo suficiente para que la masa alcanzase un flujo estacionario. Las curvas obtenidas mostraron un comportamiento viscoelástico típico de masas de pan sin gluten. A partir de estos ensayos y ajustando los resultados al modelo de Burgers, una alta correlación como era de esperar, fue encontrada entre los parámetros de capacitancia elástica en la fase de deformación y los equivalentes en la fase de recuperación, ya que los ensayos se llevaron a cabo en la LVR. Las masas más hidratadas tuvieron mayores valores de capacitancia mecánica, tanto instantánea como retardada. La viscosidad estacionaria, η_0 , mostró la evolución contraria. La variación de estos parámetros viscoelásticos con la hidratación de la masa siguió también una evolución potencial del tipo $J_0 = d \cdot W^q$; $J_1 = e \cdot W^r$ y $\eta_0 = f \cdot W^s$ donde W es la hidratación de la masa. La tabla 1 recoge los coeficientes de ajuste para las masas con OBG y las masas control.

Correlaciones

El análisis de las variables reológicas suministra información útil sobre la relación significativa entre las características viscoelásticas de las masas de pan sin gluten. Éstas se correlacionaron con características físico-químicas como el volumen y la dureza de los panes resultantes. Una consistencia excesiva hizo que la presión generada por el gas formado durante la fermentación resultase insuficiente para el adecuado desarrollo de la masa, y condujo a panes de poco volumen. Pero lo contrario, masas excesivamente fluidas, también resultaron inadecuadas por ser incapaces de retener el gas formado, que se escapó de la masa produciendo igualmente panes bajos. Se observó una hidratación óptima que condujo a un

máximo en el volumen del pan. Esta hidratación fue del 120% para el pan enriquecido con BG de avena y del 90% para el pan control. Estas hidrataciones condujeron también a los panes de menor firmeza.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la financiación recibida por el Ministerio de Economía y Competitividad (Proyecto AGL2012-35088) y por la Junta de Castilla y León (Proyecto VA252A12-2) para la realización de este trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

- Anton, A. A. (2008). Improving the nutritional and textural properties of wheat flour tortillas. *Cereal Research Communications*, 36, 301-311.
- EFSA. (2011). Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to beta-glucans from oats and barley and maintenance of normal blood LDL-cholesterol concentrations (ID 1236, 1299), increase in satiety leading to a reduction in energy intake (ID 851, 852), reduction of post-prandial glycaemic responses (ID 821, 824), and “digestive function” (ID 850) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA Journal*, 9, 2207.
- Gill, S., Vasanthan, T., Ooraikul, B. & Rosnagel, B. (2002). Wheat bread quality as influenced by the substitution of waxy and regular barley flours in their native and extruded forms. *Journal of cereal science*, 36, 219-237.
- Houben, A., Hoehstoetter, A. & Becker, T. (2012). Possibilities to increase the quality in gluten-free bread production: an overview. *European Food Research and Technology*, 235, 195-208.
- Lazaridou, A., Duta, D., Papageorgiou, M., Belc, N. & Biliaderis, C. G. (2007). Effects of hydrocolloids on dough rheology and bread quality parameters in gluten-free formulations. *Journal of Food Engineering*, 79, 1033-1047.
- Ronda, F., Perez-Quirce, S., Angioloni, A. & Collar, C. (2013). Impact of viscous dietary fibres on the viscoelastic behaviour of gluten-free formulated rice doughs: A fundamental and empirical rheological approach. *Food Hydrocolloids*, 32, 252-262.
- Ronda, F., Oliete, B., Gómez, M., Caballero, P.A., Pando, V. (2011). Rheological study of layer cake batters made with soybean protein isolate and different starch sources. *Journal of Food Engineering*, 102, 272-277.
- Thomson, T. (2009). The nutritional quality of gluten-free foods. In: *Gluten-Free Food Science and Technology* (edited by E. Gallagher). Pp. 45-51. New Delhi: Wiley-Blackwell
- Wood, P. J. (2010). Oat and Rye beta-Glucan: Properties and Function. *Cereal Chemistry*, 87, 315-330.

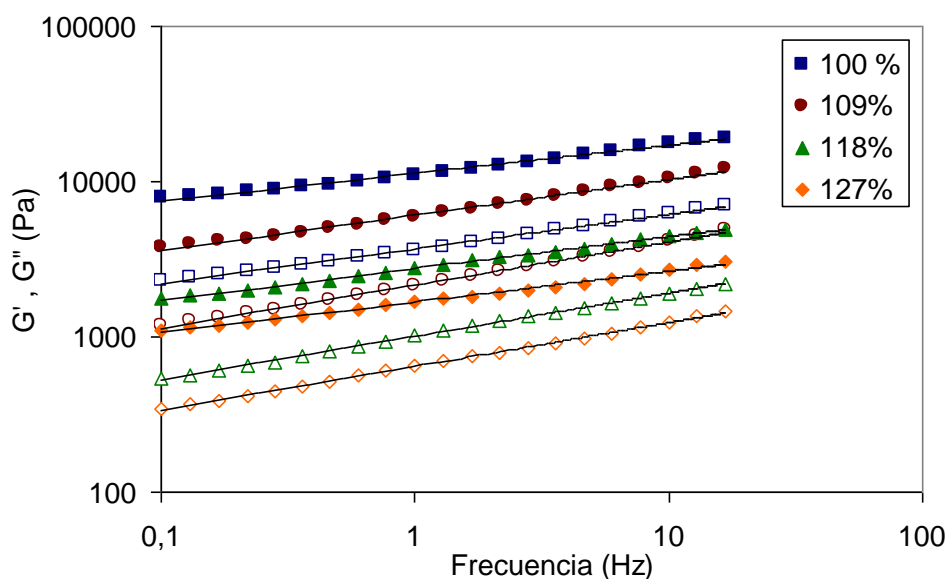


Figura 1: Espectro mecánico de las masas de pan sin gluten enriquecidas con un concentrado de BG de avena a diferentes valores de hidratación (expresados en base harina de arroz). Las líneas continuas corresponden a ecuaciones potenciales obtenidas por ajuste de los resultados experimentales. Los puntos rellenos representan los valores de G' y los puntos huecos los valores de G''

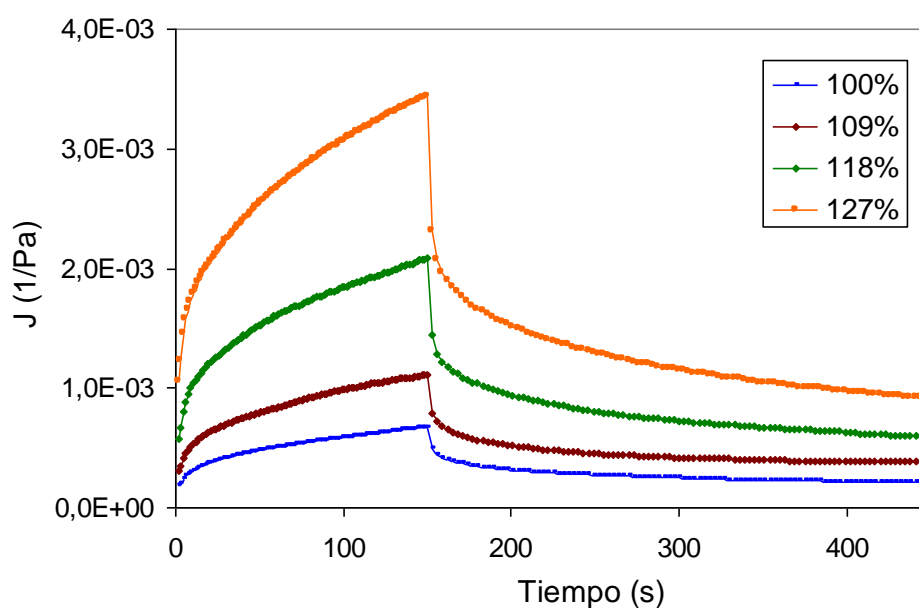


Figura 2: Ensayos de deformación y recuperación retardada de masas de pan sin gluten enriquecidas con BG de avena y diferentes niveles de hidratación (expresados en base a harina de arroz)

Tabla 1: Ecuaciones de ajuste que establecen la evolución de las propiedades viscoelásticas con la hidratación de las masas (W), tanto enriquecidas con BG de avena, como sin enriquecer (control).

	Masas control		Masas enriquecidas	
G'_1 (Pa)	$8.40 \cdot 10^{16} \cdot W^{-6.78}$	$R^2 = 0.989$	$4.62 \cdot 10^{20} \cdot W^{-8.31}$	$R^2 = 0.996$
G''_1 (Pa)	$4.72 \cdot 10^{13} \cdot W^{-5.34}$	$R^2 = 0.981$	$1.82 \cdot 10^{18} \cdot W^{-7.35}$	$R^2 = 0.996$
$(\tan \delta)_1$	$5.59 \cdot 10^{-4} \cdot W^{1.44}$	$R^2 = 0.992$	$3.71 \cdot 10^{-3} \cdot W^{0.97}$	$R^2 = 0.999$
J_0 (1/Pa)	$1.08 \cdot 10^{-19} \cdot W^{7.91}$	$R^2 = 0.999$	$7.39 \cdot 10^{-20} \cdot W^{7.68}$	$R^2 = 0.999$
J_1 (1/Pa)	$1.78 \cdot 10^{-23} \cdot W^{9.90}$	$R^2 = 0.995$	$3.80 \cdot 10^{-18} \cdot W^{6.88}$	$R^2 = 0.996$
$J_0 + J_1$ (1/Pa)	$1.79 \cdot 10^{-21} \cdot W^{9.01}$	$R^2 = 0.997$	$1.25 \cdot 10^{-18} \cdot W^{7.24}$	$R^2 = 0.998$
η_0 (Pa·s)	$3.56 \cdot 10^{22} \cdot W^{-8.71}$	$R^2 = 0.984$	$2.43 \cdot 10^{18} \cdot W^{-6.33}$	$R^2 = 0.983$

Los coeficientes G'_1 , G''_2 y $(\tan \delta)_1$, representan los módulos elástico y viscoso y la tangente de pérdida a la frecuencia de 1Hz, obtenidos por ajuste a la ley de la potencia de los barridos de esfuerzo. J_0 es la capacitancia instantánea, J_1 es la capacitancia elástica retardada o la capacitación viscoelástica, y η_0 es la viscosidad en estado estacionario. Todos ellos obtenidos de los ensayos de deformación progresiva (Creep) por ajuste al modelo de Burguer de cuatro parámetros.

EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DE ACEITES VEGETALES A TRAVÉS DE ÍNDICES QUÍMICOS

Verónica Reyes García, José Hugo Castorena García, Maribel Cano Hernández, Carlos Sánchez Granados, Mayra Luna Dimas, Lucina Sánchez Sánchez

Verónica Reyes García, (Maestra en Ciencias).

Profesora en Ingeniería en Industrias Alimentarias del Instituto Tecnológico del Altiplano de Tlaxcala. Km 7.5, Carretera Federal San Martín Texmelucan-Tlaxcala, San Diego Xocoyucan. 90122. Tel +52 2482842819. rgvero_@hotmail.com; verónica.reyesga@udlap.mx

José Hugo Castorena García, (Doctor), Maribel Cano Hernández (Doctora) y Carlos Sánchez Granados (Ingeniero)

Profesores en Ingeniería en Industrias Alimentarias del Instituto Tecnológico del Altiplano de Tlaxcala. Km 7.5, Carretera Federal San Martín Texmelucan-Tlaxcala, San Diego Xocoyucan. 90122. Tel +52 2482842819. casmin@prodigy.net.mx; jh.castorena@gmail.com; carlossagra_1@hotmail.com; .maribel_cano@hotmail.com

Mayra Luna Dimas (Maestra en Ciencias).

Profesor en La Universidad Tecnológica de Huejotzingo. Camino Real a San Mateo S/N Santa Ana Xalmimilulco, Huejotzingo, Puebla. Tel. +52 (227)-2759304.

Lucina Sánchez Sánchez

Ex Alumnas del Ingeniería en Industrias Alimentarias del Instituto Tecnológico del Altiplano de Tlaxcala. Km 7.5, Carretera Federal San Martín Texmelucan-Tlaxcala, San Diego Xocoyucan.

RESUMEN

La globalización de los mercados ha hecho accesible para los consumidores una gran cantidad y variedad de semillas oleaginosas; por lo que se hace imprescindible la evaluación de su calidad. El objetivo de este trabajo, fue evaluar la calidad de aceites vegetales provenientes de diferentes fuentes; a través de sus índices químicos de yodo (IY), acidez (IA), peróxido (IP) y saponificación (IS). El aceite vegetal fue extraído por medio del equipo Soxhlet y la determinación de los índices se realizó tomando como base la metodología de la AOAC (2006). Los resultados obtenidos en la cuantificación de los índices químicos de las diferentes muestras de aceites fueron: para amaranto (IY 116,08±2,3), (IA 13,43±1,2), (IP 15,81±0,9) e (IS 295,79±1,6); para aguacate (IY 76,97±2,3), (IA 1,79±0,3), (IP 10,64±1,2), (IS 133±2,5); para chía: (IY 188,71±0,8), (IA 2,23±0,3), (IP 3,86±0,4), (IS 98,66±1,2); para nuez (IY 136,47±1,5), (IA 1,01±0,2), (IP 3,87±0,5), (IS 152,49±2,4); para canola (IY 96,44±2,7), (IA 1,35±0,4), (IP 11,90±1,4) e (IS 320,63±3,5); y para oliva: (IY 95,93±2,7),

(IA $0,45\pm 0,05$), (IP $11,96\pm 1,3$), (IS $135\pm 3,5$). Los aceites que tuvieron mejor calidad fueron el de nuez y el de chía, ya que en ellos se observó el mayor índice de yodo y menor índice de peróxido; además el aceite de nuez presentó el menor índice de acidez y por lo tanto la mejor calidad. Los primeros tres aceites son alimentos de origen mexicano valorados por el balance en su composición de los ácidos grasos y vitaminas presentes.

La evaluación de la calidad de ácidos grasos en semillas oleaginosas permite obtener beneficios asociados al consumo de los mismos, como son la reducción de problemas cardiovasculares, entre otros.

INTRODUCCIÓN

Actualmente, la canola, oliva, aguacate, amaranto, chía, nuez son semillas que contienen aceites que puede ser extraído y utilizado con diversos fines comerciales. Su interés en los campos científicos son los aportes benéficos para la salud humana, atribuidos a los antioxidantes y vitaminas E que aportan, su consumo es parte de la dieta nutricionalmente equilibrada. Otros beneficios asociados es prever riesgos de enfermedades tales como cardiovasculares, la obesidad, el síndrome metabólico, la diabetes tipo 2, la hipertensión. Además la industria farmacéutica los ha incorporado a sus formulaciones en diferentes productos (Farhoosh *et al.*, 2009).

La mayor proporción de ácidos grasos poliinsaturados en aceites vegetales los diferencia de las grasas de origen animal. Se resalta que además de los ácidos grasos esenciales el aceite de amaranto (*Amaranthus Cruentus*) contiene 7,4% de escualeno, este aceites es importante ya que la fuente comercial ha sido extraído de hígado de tiburón (Sun *et al.*, 1997). La chía (*Salvia hispánica L.*) contiene un 32% de aceite, es una de las especies vegetales con mayor concentración de ácidos grasos α -linolénico, conocido comúnmente como omega-3 (ω -3), de aproximadamente 58.7% (González *et al.*, 2010; Ayerza, 2008). Se dice que un consumo 25 g de semilla de chía se alcanza la cantidad diaria de ácidos grasos ω -3 recomendada por las organizaciones de nutrición (González *et al.*, 2010). No obstante, también contiene un importante porcentaje de fibra dietética (soluble e insoluble) y proteínas de rápida absorción. Contiene 18 de los 20 aminoácidos esenciales y en general un menor contenido de hidratos de carbono (Ayerza y Coates, 2001). La nuez de castilla (*Juglans regia L.*) contiene entre 63 a 70 % de aceite, resaltando dos ácidos grasos poliinsaturados esenciales linoleico y linolénico presente en 50 y 58%, y 11-19%, además de arginina, ácido fólico y vitamina E, entre otros atributos.

Para analizar un aceite o grasa es necesario conocer sus características químicas relacionadas con sus ácidos grasos, de ahí la importancia de caracterizar los aceites vegetales de interés a través de sus índices químicos que determinan su calidad y estabilidad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Amaranto, chía, nuez, canola, aguacate y olivo comercial fueron adquiridos en el estado de Tlaxcala y Puebla, México. Para la extracción de su aceite, las semillas previamente fueron sometidas a molienda manualmente en mortero hasta lograr una harina, se pesa entre 15 a 20 g y se coloca en estufa a 65°C por 8 horas. 5,0 g de muestra finamente molida y seca fue colocada en cartucho de celulosa dentro del extractor Soxhlet, se utilizó hexano como solvente, la extracción duró 4 horas. El extracto etéreo recuperado fue utilizado para el análisis químico.

Para analizar un aceite o grasa es necesario conocer sus características químicas, ya que estas están directamente relacionadas con sus triglicéridos y éstos con sus ácidos grasos, para ello se emplean métodos químicos.

Índice de yodo (IY) por método de Wijs.- Se pesó $0,25 \pm 0,001$ g de aceite en un matraz, posteriormente se añadió 20 mL de cloroformo y 25 mL de solución Wijs, se dejó reposar en la obscuridad por 30 minutos, se añadió 20 mL de yoduro de potasio (KI) al 15 % y 100 mL de agua destilada. Se tituló con tiosulfato de sodio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) 0.1 N agitando constantemente, hasta obtener una coloración amarilla claro, en este punto se añadió 1 ml de almidón al 1% y se continuó la titulación hasta eliminar el color azul. La determinación se realizó por duplicado y el valor de IY se obtuvo con la ecuación: $IY = [(B-S) \times N \times 12.69]/P$, donde: solución de tiosulfato 0.1 N requeridos en el blanco (B), solución de tiosulfato 0.1 N requeridos por la muestra (S), normalidad de la solución de tiosulfato (N), peso de la muestra en g (P).

Índice de acidez por método volumétrico.- se pesó 2.5 g de muestra en el matraz Erlenmeyer, añadiendo 25 ml de etanol. Posteriormente se calentó a baño maría con agua en ebullición y se agitó por 2 minutos y se tituló con hidróxido de potasio al 0.1 N habiendo añadido 3 gotas de fenolftaleína previamente, la titulación se terminó cuando la coloración rosa del indicador permaneció al menos durante 10 segundos. El valor de acidez se obtuvo con la ecuación: $IA = [A \times N \times 28.2]/W$, donde: cantidad de hidróxido de potasio gastado en la titulación (A), normalidad del hidróxido (N), peso molecular del ácido oleico (28,2), peso de la muestra en gramos (W).

Índice de saponificación por el método de Koettstorfer.- se pesó 1.5 g de lípido en un matraz de 250 ml, se añadió 50 ml de hidróxido de potasio al 0.5 N en solución alcohólica, se calentó a ebullición durante 30 minutos y se conectó a reflujo para evitar que hubiera fuga de etanol. Se realizó un blanco en las mismas condiciones que el problema. Se dejó enfriar para añadir 3 gotas de solución de fenolftaleína al 1% en alcohol y se tituló con ácido clorhídrico al 0.5 N antes que solidificará la muestra. El valor de saponificación se obtuvo mediante la ecuación: $IS = [(V_b - V_m) \times N \times 56.1] / W$, donde: HCL utilizados en titular el blanco o testigo (V_b), HCL utilizados en titular el problema (V_m), normalidad del HCL ($N=0,5$), Mili equivalente del HCL (56.1), peso de la muestra en gramos (W).

Índice de peróxidos por yodometria.- Se pesó 1 g de aceite en un matraz, posteriormente se añadió 1g de yoduro de potasio. Se agregó 20 ml de solución de ácido acético-cloroformo, agitando hasta disolver. En este punto se calentó la muestra durante 1 minuto. Se agregó 20 ml de solución saturada de yoduro de potasio al 5 % se agito y dejó reposar durante 1 minuto. Se vertió 15 ml de agua y título con tiosulfato de sodio 0.01N hasta que virará a color amarillo; se añadió 1ml de solución indicadora de almidón y continuó la titulación hasta que desapareciera el color azul. El valor de peróxidos se obtuvo con la ecuación: $IP = [(MI \text{ Na}_2 \text{ S}_2 \text{ O}_3) (N)] 1000 / W$, donde: Normalidad del tiosulfato de sodio (N), peso de la muestra (W), tiosulfato de sodio ($\text{Na}_2 \text{ S}_2 \text{ O}_3$), Valor constante (1000).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los métodos químicos permiten extraer conclusiones acerca de la identidad, composición (pureza, autenticidad) y calidad (vida útil) de la grasa o aceite de forma cuantitativa. Entre los métodos químicos, se encuentran el índice de acidez, que cuantifica la cantidad de ácidos grasos libres en aceite o grasa comestibles. El índice de yodo, que determina la cantidad de dobles enlaces de los ácidos grasos presentes en el aceite. El índice de peróxido, que es una medida directa del oxígeno unido a los aceites en forma de peróxido y proporciona por lo tanto información acerca del grado de oxidación de la muestra (Allen *et al.*, 1982).

La calidad de los aceites vegetales se obtuvo a través de la evaluación de sus índices químicos, como se puede observar en la (**Tabla 1**), de este grupo de aceites se resalta que el aceite de chía registró el mayor índice de yodo lo que indica un alto contenido de insaturación (dobles ligaduras) dentro de la composición de su aceite, seguido por el aceite de nuez. Entre

mayor sea el nivel de este índice se infiere un mayor beneficio a la salud y otros atributos es que puede emplearse en la industria alimentaria y en la industria farmacéutica.

Tabla 1. Índices químicos en diferentes muestras de aceites, por técnicas oxido-reducción

Aceite	Índice de yodo (IY)	Índice de Acidez (IA)	Índice de Peróxido (IP)	Índice de Saponificación (IS)
Olivo	95.93	0.45	11.96	135.00
Chía	188.71	2.23	3.86	98.66
Amaranto	116.08	13.43	15.81	295.79
Nuez	136.47	1.01	3.87	152.49
Canola	96.44	1.35	11.90	320.63
Aguacate	76.97	1.79	10.64	133.00

Con respecto al IA del grupo de aceites analizados, el aceite de amaranto registró una mayor cantidad de ácidos grasos libre, es un indicador de procesos enzimáticos más activos que pueden acelerar su proceso deteriorativo. Entre los demás aceites vegetales analizados presentaron IA moderado.

Del grupo de aceites analizados, el aceite de amaranto registró el valor más alto de índice de peróxido, seguido por olivo y canola. Este índice puede ser un indicador del proceso oxidativo (rancidez) que puede generar olores desagradables.

Con lo que respecta al índice de saponificación se encontró que el aceite de canola tiene la capacidad de liberar mayor cantidad de ácidos, lo que puede facilitar una mejor absorción en el consumo de este aceite a contrario del aceite de chia.

Con el propósito de evaluar el nivel de similitud entre los diferentes aceites, se realizó a través de la correlación utilizando los valores de sus índices químicos. La **Tabla 2**, muestra la matriz de correlación de Pearson. Del grupo de los aceites analizados, se observa que el aceite de canola y amaranto presentan correlación elevada (0,997) lo que los hace muy similares. Igualmente el aceite de aguacate y olivo con correlación (0,991) muestran similitud. Estas similitudes pueden ser potencialmente utilizadas en la industria para realizar mezclas, que generen propuestas económicamente viables y/o con mejores atributos.

Tabla 2. Matriz de correlación entre los índice químicos para el grupo de aceite

	Olivo	Chia	Amaranto	Nuez	Canola	Aguacate
Olivo	1,000					
Chia	0,781	1,000				
Amaranto	0,941	0,531	1,000			
Nuez	0,984	0,875	0,874	1,000		
Canola	0,913	0,462	0,997	0,833	1,000	
Aguacate	0,991	0,691	0,978	0,954	0,960	1,000

Del grupo de los aceites vegetales analizados, canola, aguacate y amaranto fueron seleccionados para un ensayo de mezclas en diferentes porcentajes ajustado a 4 mL de aceite total. La **Tabla 3**, muestra los índices químicos obtenidos en las mezclas realizadas.

Tabla 3. Valor de índices químicos en diferentes mezclas

Canola	Aguacate	Amaranto	IA	IY	IS
(%)	(%)	(%)			
25	75	0	1,83	100.6	165.5
50	50	0	1,84	99.3	144.8
75	25	0	1,91	105.7	169.2
25	0	75	1,48	85.6	62.1
50	0	50	1,18	93.9	173.8
75	0	25	1,12	87.0	172.4
0	25	75	0,94	103.9	164.6
0	50	50	1,12	66.3	119.7
0	75	25	1,06	103.1	74.6

Como ejemplo en la **Tabla 3**, en la mezcla canola (75) – aguacate (25), el valor en el índice de yodo muestra incremento importante al combinarse, esta práctica de mezclado es común encontrarla en productos comerciales con diferentes propósitos.

CONCLUSIÓN

Se determinaron los valores de índices químicos en otros aceites vegetales comúnmente poco estudiados como la chía, amaranto, nuez de castilla y aguacate. La combinación de aceites vegetales es una práctica que la industria utiliza con la finalidad de resaltar atributos sensoriales, nutritivos y hacer productos económicamente viables.

BIBLIOGRAFÍA

Allen, Robert R., Formo, Marvin W., Krishnamurthy, R.G., McDermott, G.N., Norris, Frank A. and Sonntag, Norman O.V. (1982). Physical properties of fats and fatty acids”. In Bailey’s industrial oil and fat products. (pp. 666-679). New York, USA: John Wiley & Sons.

AOAC. (2006). “Association of Official Analytical Chemist”. Official Methods of Analysis. (25ta. ed.). Washington, USA. Bora, Pushkar S., Narain, Narendra, Rocha, Rosalynd V.M.

and Queiroz-Paulo, Marçal. (2001). “Characterization of the oils from the pulp and seeds of avocado (cultivar: Fuerte) fruits”. *Grasas y Aceites*. 52(3-4):171-174.

Ayerza, R. 2002. Chia as an omega- 3 fatty acid source for animal and human consumption. Office of Arid Lands Studies, The University of Arizona, Tucson, Arizona, USA.

Farhoosh Reza, Esmaeilzadeh Kenari Reza and Poorazrang Hashem. 2009. Frying Stability of Canola Oil Blended with Palm Olein, Olive, and Corn Oils. *Journal of American Chemist Society*, 86, 71–76.

González Francisco. 2010. Evaluación de la capacidad antioxidante y determinación de fenoles totales presentes en la semilla y aceite de chía (*Salvia hispánica L.*) XVII Congreso Nacional de Ingeniería Bioquímica, Acapulco, Gro, México.

Sun H., Wiesenborn D., Tostenson K., Gillespie J. and Rayas-Duarte P. 1997. Fractionation of squalene from amaranth seed oil. *Journal Journal of American Chemist Society*, 74, 4.

ELABORACIÓN DE UNA INFUSIÓN A BASE DE TEJOCOTE (*Crataegus pubescens*) DESHIDRATADO

Rosas- Adell, A. M¹., Luna-Guevara, Ma. L¹., Luna-Guevara, J.J¹., Ochoa-Velasco, C.E¹ y Hernández-Carranza, P^{1*}.

¹Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Facultad de Ingeniería Química. Av. San Claudio y 18 Sur. Col. San Manuel. C.P 72570. Puebla, Puebla, México.

*Autor para correspondencia. E-mail: phernandezcarranza@hotmail.com

Tel: 52 (222) 2295500; ext. 7252

INTRODUCCIÓN.

Los antioxidantes son sustancias químicas que se caracterizan por presentar actividad funcional, ayudando a impedir o retrasar la oxidación de diversas sustancias, cuyas reacciones se producen tanto en alimentos como en el organismo humano provocando alteraciones fisiológicas importantes, desencadenando diversas enfermedades (Juan Diego, 2007), actualmente los antioxidantes son empleados para combatir deficiencias asociadas al estrés oxidativo, enfermedades cardiovasculares y reumáticas, así como eventos tan comunes en los seres humanos como el envejecimiento. La función de los antioxidantes es ser supresores del oxígeno libre, depuradores de radicales libres, descomponedores de peróxido e inhibidores enzimáticos (Rosalba y Fernando, 2007).

Dentro de las sustancias con actividad antioxidante se encuentran el ácido ascórbico, carotenoides, vitamina E y los compuestos fenólicos, estos últimos se localizan principalmente en frutas y vegetales; sin embargo, sus concentraciones son más altas en frutas, debido a esto hay un interés creciente por conocer la capacidad antioxidante de frutas y vegetales para su uso como alimentos funcionales (Silvia *et al.*, 2010). Numerosas son las frutas con alto poder antioxidante, entre ellas destaca el tejocote (*Crataegus pubescens*), el cual es considerado un cultivo de importancia económica en México, este fruto es muy apreciado en épocas navideñas en la elaboración de ponche, bebida tradicional asociada a las posadas mexicanas.

El cultivo de tejocote se encuentra distribuido en los estados de Puebla, Tlaxcala, Chiapas, Michoacán, Hidalgo, Morelos y México (Raúl y Michal, 2008).

El tejocote es un fruto rico en vitamina C, carotenoides y sales minerales, entre ellas calcio, fósforo y hierro, además presenta un alto contenido de pectina (Wieland *et al.*, 2008). Desafortunadamente su uso y aprovechamiento ha sido limitado debido a su temporalidad y a la falta de estrategias para su conservación, una alternativa que se plantea para mejorar su disponibilidad es someter a dichos frutos a tratamientos de eliminación de agua,

acompañados de la obtención de un polvo con múltiples aplicaciones alimenticias, la eliminación de agua es necesaria debido a que este nutriente es precursor del deterioro microbiano; este proceso regularmente es llevado a cabo a través de tratamientos de secado que implican la aplicación de altas temperaturas, las cuales dañan sensorialmente al fruto y generan que se pierdan algunas propiedades nutricionales y funcionales, por lo que el objetivo de este trabajo fue elaborar una infusión de tejocote, a partir de la obtención de polvos obtenidos mediante la aplicación de métodos de eliminación de agua a temperatura menor a 80°C y mediante la aplicación de vacío, permitiendo obtener una infusión con propiedades antioxidantes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Caracterización fisicoquímica. La materia prima utilizada fue tejocote (*Crataegus pubescens*) proveniente de la Central de Abastos, Puebla, México. A los frutos frescos como a los deshidratados, se les realizó una caracterización fisicoquímica que consistió en la determinación de pH, sólidos solubles, acidez titulable siguiendo los métodos 981.12, 932.12 y 942.15 de la AOAC (2000) respectivamente, se determinó el valor de actividad de agua (a_w), introduciendo aproximadamente 1 g de muestra en un higrómetro (AquaLab 3TE, DeCagon Devices Inc., E.U.A), también se realizó la medición de color, colocando aproximadamente 10 g de muestra en una caja Petri, evaluando los parámetros L (Luminosidad) a (verde-rojo) y b (amarillo-azul) de la escala de Hunter, utilizando un colorímetro Colorgard System/05 (BYK-Gardner GmbH, Geretsried, Alemania) en el modo reflectancia.

Caracterización proximal. Se realizó la caracterización proximal en tejocote fresco y deshidratado, determinando el contenido de humedad mediante secado a peso constante a 105°C, usando el método 925.25 de la AOAC (1995). La determinación de contenido de cenizas se realizó mediante el método 31.012 de la AOAC (1984). Para el contenido de fibra cruda se utilizó el método 7.073 de la AOAC (1984). El contenido de azúcares reductores se cuantificó de acuerdo al método 31.034 de la AOAC (1984).

Determinación de actividad antioxidante. La determinación de la actividad antioxidante se realizó mediante el método del radical DPPH (2,2-Difenil-1-Picrilhidracilo), el radical se obtuvo al mezclar 3.9 mg de reactivo DPPH en 100 mL de metanol al 80%.

La determinación de actividad antioxidante en el fruto fresco como en el deshidratado se realizó colocando 0.1 mL del extracto obtenido de cada muestra más 2.9 mL del radical

DPPH, esta solución se agitó y se mantuvo en oscuridad por 30 minutos a temperatura ambiente, se colocó en una celda de cuarzo y se registró la absorbancia medida en un espectrofotómetro (Modelo 6405 UV/VIS JENWAY). Se realizó una curva patrón de calibración con una solución de 10 mg de Trolox en 10 mL de metanol al 80%, la actividad antioxidante se calculó utilizando las ecuaciones 1 y 2.

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{(Abs_{inicial} - Abs_{final})}{Abs_{inicial}} * 100 \quad (1)$$

$$AA = \frac{(\% \text{ inhibición} - b)}{m} * 100 \quad (2)$$

Donde AA es la actividad antioxidante (mg Trolox/100 mL de muestra).

Métodos de eliminación de agua. Los frutos de tejocote fueron sometidos a un proceso de escaldado a 60°C por 5 min, posteriormente fueron pelados manualmente para después obtenerse rodajas de 2 cm de espesor aproximadamente, éstas fueron colocadas en una solución de ácido cítrico al 0.05% durante 2 minutos, posteriormente se escurrieron, se colocaron en bolsas con cierre hermético y finalmente se colocaron en un congelador a -20°C hasta su uso.

Las muestras descongeladas fueron sometidas a un secado en un secador dinámico vertical con pesaje armado ex-proceso a 40 y 60°C durante 7 horas, el segundo tratamiento consistió en liofilizar muestras congeladas mediante un liofilizador (marca Labconco) durante 24 h a -40°C con presión de vacío 0.005 mm Hg.

Elaboración de la infusión. Las muestras deshidratadas fueron molidas en un molino de café (marca Hamilton Beach modelo 80374), tamizadas a través de un tamiz No. 35 (500 µm) (Cole - Parmer, E.U.A), y se empacaron en bolsas de seda, para posteriormente ser solubilizadas en agua caliente durante 3 minutos.

Análisis estadístico. Las determinaciones se realizaron por triplicados, los datos obtenidos se analizaron mediante un ANOVA y pruebas de comparación de Tukey (α=0.05) usando el software Minitab v. 16 (Lead Technologies Inc., E.U.A.).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se presenta la caracterización fisicoquímica de tejocote fresco, así como de los frutos deshidratados. El valor de pH del tejocote secado a 40°C, 60°C y el liofilizado son menores que el de la muestra fresca, presentando diferencia significativa respecto al

tejocote fresco ($p < 0.05$), esto podría ser atribuido a la inmersión de los frutos en ácido cítrico después del tratamiento de escaldado, sin embargo, los valores de acidez concuerdan con los reportados por Omar *et al.* (2009), los cuales oscilan entre 1 y 6%. Por otro lado los sólidos solubles disminuyeron en el proceso de liofilizado esto es, debido a que este tratamiento elimina una buena cantidad de agua, provocando que los sólidos se concentren haciendo incluso al alimento un poco más estable respecto a factores ambientales y microbiológicos.

En la tabla 1 se presentan los parámetros de color L, a y b. El valor de L fue más alto en el liofilizado, indicando que hay mayor luminosidad en el tejocote y los parámetros de a y b se encuentran ligeramente declinados al color rojo y amarillo, respectivamente. Indicando que el liofilizado conserva las propiedades sensoriales de color del fruto.

La tabla 2 presenta la caracterización proximal de tejocote fresco y de los tratamientos de secado aplicados, el porcentaje de humedad después de secar fue mayor ($p < 0.05$) en el tejocote deshidratado a 40°C (13.14 ± 0.07), lo cual refleja que este método de secado fue insuficiente para el fruto debido a que la humedad aún es alta. Ananta *et al.* (2005) consideran que el porcentaje de humedad es un parámetro de calidad para productos en polvo, debido a que con el paso del tiempo y durante el almacenamiento se podría generar apelmazamiento en el polvo, incluso por la cantidad de azúcares reductores presentes en las muestras.

Por otro lado una de las características representativas del tejocote es el contenido de pectina, la cual está relacionada directamente con el contenido de fibra, este componente se vio afectado debido a la aplicación de los diferentes tratamientos de secado, siendo la liofilización en donde se observa una disminución significativa ($p < 0.05$) de este componente y esto es debido probablemente a que se rompen ciertos enlaces glucosídicos que provocan la fragmentación de este componente, como resultado de esta hidrólisis se refleja en el contenido de azúcares reductores, los cuales aumentan en el proceso de liofilización, esto es debido como ya se mencionó a que se hidrolizan ciertos enlaces que provocan que los azúcares se vuelvan más sencillos reflejándose en el contenido alto de azúcares reductores.

En la tabla 3 se presenta el contenido de compuestos antioxidantes presentes en el tejocote fresco y deshidratado, se observa que los frutos tratados a 60°C presentan un contenido menor de antioxidantes que el tratado a 40°C y que el liofilizado, esto puede deberse a la exposición del fruto a una mayor temperatura.

Finalmente la relación de la aplicación de los tratamientos de secado, el contenido de humedad debida al tratamiento, así como el valor de a_w afectaron directamente en el tamaño

de partícula, obteniéndose polvos más finos con el tratamiento de liofilizado, permitiendo una mejor solubilidad del mismo, lo cual permitió que la infusión elaborada fuera más soluble que las tratadas por secado en caliente, provocando que el polvo se hinche o hidrate menos debido a la este tipo de polvo presentó menor contenido de fibra cruda y por lo tanto menor cantidad de pectina.

CONCLUSIONES

Los métodos de eliminación de agua, así como la temperatura tienen efecto en las propiedades fisicoquímicas, composicionales así como en el contenido de compuestos antioxidantes en el fruto de tejocote, encontrando que el método de liofilización es un método que no solo ayuda a la conservación del fruto, conserva también propiedades fisicoquímicas, funcionales y composicionales lo que ayuda a tener un producto estable, con larga vida útil y con disponibilidad del fruto durante todo el año.

El componente nutricional más afectado fue el contenido de fibra y fisicoquímicamente el valor de a_w , siendo éste un valor de suma importancia para la conservación de cualquier producto alimenticio.

El tamaño de partícula es un parámetro importante para productos alimenticios como infusiones, siendo la liofilización el método que generó polvos con un tamaño de partícula muy fino lo cual es importante para la solubilidad.

Tabla 1. Propiedades fisicoquímicas llevadas a cabo en tejocote fresco y deshidratado.

Propiedad	Tejocote	Secado a	Secado a	Liofilizado
	Fresco	40°C	60°C	
pH	3.71 ± 0.03 ^a	2.93 ± 0.01 ^b	3.06 ± 0.04 ^b	2.98 ± 0.03 ^b
Sólidos solubles	6.60 ± 0.02 ^a	6.00 ± 0.00 ^b	6.30 ± 0.10 ^a	5.06 ± 0.06 ^c
Acidez (ácido málico)	2.28 ± 0.29 ^a	2.62 ± 0.09 ^a	3.30 ± 0.09 ^b	5.65 ± 0.03 ^c
a_w	0.95 ± 0.00 ^a	0.62 ± 0.00 ^b	0.56 ± 0.00 ^c	0.44 ± 0.00 ^d
Color (L)	38.52 ± 0.74 ^a	54.98 ± 0.27 ^b	66.70 ± 0.58 ^c	76.63 ± 0.01 ^d
Color (a)	23.75 ± 2.24 ^a	9.06 ± 0.10 ^b	9.93 ± 1.20 ^b	2.11 ± 0.02 ^c
Color (b)	42.93 ± 1.45 ^a	38.15 ± 0.09 ^b	38.11 ± 0.77 ^b	34.24 ± 0.03 ^c

Nota: letras diferentes en fila indican diferencia estadística significativa ($p < 0.05$).

Tabla 2. Composición proximal llevada a cabo en el tejocote fresco y deshidratado.

Parámetro (%) bh	Tejocote fresco	Secado a 40°C	Secado a 60°C	Liofilizado
Humedad	83.01 ± 0.50 ^a	13.14 ± 0.07 ^b	10.04 ± 0.04 ^c	6.75 ± 0.58 ^d
Cenizas	3.77 ± 0.05 ^a	0.04 ± 0.00 ^a	0.05 ± 0.00 ^a	0.05 ± 0.06 ^a
Fibra cruda	11.86 ± 0.98 ^a	10.20 ± 1.02 ^b	8.83 ± 0.60 ^b	7.01 ± 1.98 ^b
Azúcares reductores	1.79 ± 0.16 ^a	8.35 ± 0.48 ^a	14.41 ± 0.30 ^a	13.05 ± 0.52 ^a

Nota: letras diferentes en fila indican diferencia estadística significativa (p<0.05).

Tabla 3. Contenido de compuestos antioxidantes presentes en el tejocote fresco y deshidratado.

Tratamiento	mg de trolox/ 100g muestra
Tejocote liofilizado	97.98
Tejocote deshidratado a 40°C	92.299
Tejocote deshidratado a 60°C	89.010

BIBLIOGRAFIA

- Ananta, E., Volkert, M. y Knorr, D. (2005). Cellular injuries and storage stability of spray-dried *Lactobacillus rhamnosus* GG. *International Dairy Journal*, 15 (4), 399-409
- AOAC. 1984, 1995, 2000. Official Methods of Analysis. 14a edition. Association of Official Analytical Chemists, Inc. Washington D.C., EUA.
- Juan Diego Salas Zamora 2007. Antioxidantes: micronutrientes en lucha por la salud. *Revista Chilena de Nutrición*, 34:1 0.
- Omar Franco-Mora, Sara Aguirre-Ortega, Edgar Jesús Morales-Rosales, Andrés González-Huerta y Francisco Gutiérrez-Rodríguez. 2009. Caracterización morfológica y bioquímica de frutos de tejocote (*Crataegus mexicana* DC.) de Lerma y Ocoyoacac, México. *CIENCIA ergo sum*, Vol . 1 7- 1, marzo-junio. Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca, México. Pp. 61 - 66.
- Raúl Nieto Angel y Michal Borys. 2008. “Germoplasma y usos del tejocote en México”, en J. G. Cruz C. y P. A. Torres L. (Comps.). *Enfoques tecnológicos en la fruticultura. Un tributo a Raúl Mosqueda*. Uach. México
- Rosalba López Ramírez y Fernando Echeverri. 2007. ¿Son seguros y efectivos los antioxidantes? *Scientia Et Technica*, XIII: 33 41-44.
- Silvia Luna Suárez, Tapia López L. y López Valdez Fernando. 2010. Efecto del tipo de secado de tejocote sobre el contenido de polifenoles y su comparación con cortezas de dos frutos. XII Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos.
- Wieland Peschel, Bohr Christine y Andreas Plescher. 2008. “Variability of Total Flavonoids in *Crataegus* – Factor Evaluation for the Monitored Production of Industrial Starting Material”, *Fitoterapia*. 79.

RELAJACION ENTALPICA EN PELÍCULAS DE GELATINA DE BOVINO EN ESTADO VÍTREO: EFECTO DE LA PRESENCIA DE QUITOSANO

López, Daniel.¹; Matiacevich, Silvia.¹; Enrione, Javier.²

¹Universidad de Santiago de Chile – Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Avenida Ecuador 3769. Estación Central. Santiago de Chile– 27184524

²Universidad de los Andes- Escuela de Nutrición y Dietética, Facultad de Medicina. Mons. Álvaro Portillo 12455 .Santiago de Chile. corresponding author: jenrione@uandes.cl

1.INTRODUCCIÓN

Como consecuencia de los problemas asociados a la eliminación de envases plásticos no biodegradables, existe un creciente interés en el desarrollo de materiales menos dañinos con el medio ambiente. Y en este sentido es que debido a las extraordinarias propiedades gelificantes y gran capacidad de formación de películas, la gelatina obtenida de diversas fuentes (marina y terrestre), ha sido fácilmente utilizada para fabricar películas. En términos de su funcionalidad, las propiedades físicas de la gelatina dependen principalmente de dos factores; la composición aminoacídica y la distribución de peso molecular (PM) (Gómez-Guillen et al. 2002). En efecto, Joly-Duhamel et al. (2002) estableció una positiva correlación entre la concentración de iminoácidos prolina (Pro) e hidroxiprolina (Hpro) con la temperatura de fusión del colágeno nativo (hélice a espiral) y el PM con la temperatura de renaturación (espiral a hélice), argumentando un importante efecto de la composición bioquímica sobre la estabilidad de la estructura de la red formada. La gelatina ha sido mezclada con caseína (Chambi and Grosso, 2006), pectina (Liu, et al., 2007), quitosano (Arvanitoyannis et al., 1998a; Kolodziejska & Piotrowska, 2007; Kolodziejska et al 2006), almidón (Arvanitoyannis et al., 1998a) y proteína de soya (Denavi et al., 2009), logrando en general, una mejora en sus propiedades físicas, tales como; permeabilidad, rigidez, dureza, brillo.

En las últimas décadas, ha existido un creciente interés en desarrollar materiales con capacidad de formación de películas, y que además tengan propiedades antimicrobianas con lo cual se logre mejorar la seguridad alimentaria y extender la vida útil de los alimentos. En este contexto es que se ha investigado ampliamente el quitosano o (poli β -(1,4) N-acetil-D-glucosamina), el cual corresponde a un polímero industrialmente producido mediante deacetilación química de la quitina, la cual se encuentra en el exoesqueleto de artrópodos, caparazón de crustáceos y la pared celular de algunos hongos. Películas compuestas por gelatina y quitosano han sido reportadas por su mejora en las propiedades mecánicas, de

transporte y propiedades físicas, comparadas con películas con un solo componente (Chiou et al., 2008; Gómez-Estaca et al., 2011; Rivero et al., 2009; Sionkowska et al., 2004; Yin et al., 1999; Zhuang et al., 2009). Un aspecto interesante es determinar la estabilidad estructural de estos sistemas en condiciones de baja humedad o a temperaturas bajo su temperatura de transición vítrea (T_g) (Enrione et al., 2011). Algunas importantes aplicaciones de la gelatina en estado vítreo incluye la encapsulación de componentes bioactivos tales como vitaminas, minerales, péptidos y antioxidantes (Aguilera and Lillford 2008). Durante el almacenamiento isotérmico de un material en estado vítreo, ocurre un fenómeno de relajación cinéticamente controlado y espontáneo, debido a que es un estado de no equilibrio termodinámico, lo que conduce a una reducción de la movilidad molecular, lo cual afecta las propiedades físicas del material tales como permeabilidad al agua y al oxígeno, textura, fragilidad, brillo y transparencia lo cual posee gran importancia tecnológica (Badii and Howell 2006). El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la presencia de quitosano (Q), sobre la relajación entálpica y mecánica en películas de gelatina de bovino (GB) almacenadas isotérmicamente en estado vítreo.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizó GB comercial de tipo B, la cual se caracterizó bioquímicamente (determinación de perfil aminoacídico y electroforesis SDS-Page) y análisis proximal. Luego se prepararon las suspensiones filmogénicas con concentraciones conocidas de GB pura (7% p/p) y mezclas con Q (6.5% p/p GB-Q1 y 6.0 % p/p GB-Q2). Las películas se obtuvieron mediante casting en frío (5°C), luego se dimensionaron (7cm x 1cm, largo y ancho respectivamente) y se equilibraron a 53% de H.R. generada por la presencia de una solución salina saturada ($MgNO_3$) dentro de contenedores cerrados, una vez formadas las películas, éstas fueron caracterizadas mecánica y térmicamente, mediante un ensayo de tensión uniaxial (Texturómetro Zwick/Roell) y por Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC Pekin Elmer).

2.1. Relajación entálpica determinada mediante DSC

Previo al análisis el equipo fue calibrado con indio, como estándar ($T_m=156,6^\circ C$ y $\Delta H=28,4J/g$). Para cada medición se utilizaron ~10mg de muestra, que fueron depositados en cápsulas de aluminio de 30 μ L, selladas herméticamente. La determinación de T_g ($^\circ C$) se obtuvo en el punto medio (mid-point) del salto en la capacidad calorífica. El cambio de entalpía representado por ($\Delta H J/g^\circ C$) es la cantidad de energía desprendida durante el proceso de la relajación en condiciones isotérmicas, dependiendo de la temperatura de

almacenamiento y del tiempo durante el cual ocurre ésta relajación. La relajación entálpica fue determinada mediante la sustracción del termograma de la muestra almacenada (desde 2 hasta 40 hrs) y el termograma a tiempo cero, las mediciones fueron hechas en triplicado. De acuerdo al objetivo de este estudio, las cápsulas fueron almacenadas bajo las mismas condiciones de tiempo y temperatura definidos para los estudios de relajación mecánica. Sin embargo, en este caso la eliminación del historial térmico fue realizada en el mismo equipo, calentando la muestra hasta 15°C por sobre T_g y luego enfriadas hasta la temperatura de almacenamiento (T_a) de 10°C bajo T_g (T_g-T_a=10). El método utilizado fue el siguiente: Mantención por 15 min a 65 °C, luego enfriamiento de 65°C hasta -10°C a 30°C/min seguido por una mantención por 2 min a -10°C, luego calentamiento desde -10°C hasta 65°C a 10°C/min, posteriormente una mantención por 2 min a 65°C y finalmente enfriamiento desde 65°C hasta *T_a a 30°C/min.

2.2. Determinación de relajación mecánica.

Esta medición se realizó en un texturómetro, mediante un ensayo de tensión uniaxial, utilizándose una cámara de cilindros concéntricos, diseñada especialmente para mantener condiciones constantes de humedad, otorgada por la inmersión de la película en aceite de silicona (en el cilindro interno), y temperatura, dada por la circulación de agua (a través del cilindro externo) conectada a un baño termostático. La medición consistió en la aplicación de una fuerza de tensión, mediante mordazas metálicas, que tensionó la película, manteniendo un porcentaje de deformación constante (1%) a lo largo del tiempo, obteniéndose una curva fuerza (N) v/s tiempo (s) que describe la relajación del esfuerzo, cuyo comportamiento se ajustó a la relación empírica de Kohlrausch-Williams-Watts (KWW), ecuación (1), la cual describe el decaimiento de una propiedad, en este caso el esfuerzo (MPa) obteniéndose los parámetros β y τ , los que representan la distribución del tiempo de relajación y el tiempo de relajación característico (s), respectivamente. El esfuerzo se calculó como el cociente entre la fuerza y el área de su aplicación, que en este caso era el área de sección transversal de la película.

$$\phi(t) = \exp \left[-\left(\frac{t}{\tau_0} \right)^\beta \right] \quad \text{Ecuación 1. Modelo de KWW}$$

2.3. Análisis Estadístico: Todas las determinaciones fueron realizadas al menos en triplicado. El análisis estadístico se llevó a cabo mediante análisis de varianza de uno o dos factores (ANOVA), según corresponda, con un valor de $\alpha = 0,05$ ($P < 0,05$)

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN:

3.1. Caracterización Térmica de GB.

La figura 1 representa los termogramas obtenidos mediante DSC, el superior representa el primer calentamiento (primera corrida) en donde se identificaron dos transiciones. La primera se relaciona con el cambio en la línea base el cual puede estar asociado a la temperatura de transición vítrea (T_g) de la fracción amorfa del polímero. La mayor endoterma se relaciona con la fusión de la fracción cristalina de la película, Rahman et al. (2010) sugiere que esta transición térmica representa una isomerización intramolecular trans-cis de las regiones de poliprolina de los péptidos de la gelatina, los cuales requieren energía para que ocurra dicho fenómeno. La entalpía de fusión entrega información acerca de la cantidad de gelatina estructural, es decir el nivel de renaturación llevado a cabo durante el proceso de formación de la película, o más simple, la recuperación de su estructura tridimensional (triple hélice) que había sido perdida durante el proceso de extracción. Se registró en las películas de GB un valor de entalpía de (26,2 J/g). Chiou et al. (2008) reportaron valores de entalpía similares para GB 21,3 J/g. La incorporación de quitosano en GB generó una disminución significativa ($P < 0,05$) en el grado de renaturación pero solo en las películas con mayor contenido de quitosano, lo cual señala que el quitosano a cierta concentración interfiere con la formación de la triple hélice, formando una estructura de red que podría ser más entrecruzada lo cual se muestra en la tabla 1 en donde el porcentaje de cristalinidad se ve disminuido por la intervención del quitosano. Los valores de ΔC_p podrían de alguna manera indicar la configuración estructural de la gelatina. Un menor valor de ΔC_p y de T_g ha sido atribuido a una mayor rigidez de la cadena debido al limitado número de conformaciones y peso molecular (McGonigle et al., 2005). Por lo tanto estos resultados (Tabla 1) sugieren que GB posee una considerable rigidez probablemente debido al PM y al perfil de aminoácidos, el cual le otorga una mayor estabilidad a la red.

3.2. Determinación de la relajación entálpica

La relajación entálpica es la cantidad de energía desprendida de un material la cual puede expresarse como la diferencia de entalpía (ΔH J/g°C) a tiempo cero y durante la relajación en condiciones isotérmicas (Pineda et al., 2006), esta propiedad depende de la temperatura de almacenamiento y del tiempo durante el cual ocurre ésta relajación. La incorporación de quitosano en las películas de GB (figura 2) generó un incremento significativo ($P < 0,05$) de la relajación entálpica sobre todo en las películas con mayor concentración de quitosano (GB-Q2), lo que implica un mayor aumento de la movilidad

molecular del polímero. Esto pudo ocurrir debido a la formación de interacciones electrostáticas entre los residuos amina del quitosano que se protonaron (NH_3^+) en el medio ácido de la suspensión, y los residuos ácidos de la gelatina (COO^-) (Glu, Asp), dichas interacciones son de naturaleza más débiles lo cual sugiere este aumento en la movilidad molecular, la alta polaridad de GB (tabla 2) facilitó este tipo de interacciones. Sin embargo el nivel de asociación entre gelatina y quitosano va a estar comandado por el grado de exposición de los residuos de la proteína, de la abundancia relativa de los residuos ácidos en la proteína versus los residuos polares y de la estequiometría de la interacción.

3.3. Cinética de relajación estructural evaluada por relajación del esfuerzo

El parámetro τ entrega información acerca de la cinética del proceso de relajación mecánica. A mayores valores implica un proceso de relajación con una cinética menor (Cameron et al., 2000). Durante el almacenamiento se observó un aumento progresivo de este parámetro, este comportamiento es similar al obtenido en polímeros sintéticos amorfos. Lourdin et al. (2002) ha reportado este comportamiento además en almidón y maltosa vítreos almacenados hasta 78 h. Al adicionar quitosano en las películas de GB se produce un aumento más acelerado de la velocidad de relajación con todas las temperaturas de almacenamiento (figura 3). Según investigaciones realizadas por Yin et al. (1999), han concluido que al incorporar quitosano en la matriz proteica de gelatina se generan interacciones entre quitosano y gelatina las cuales reemplazan las uniones macromoleculares formadas por cadenas de agua. Los sitios de unión formados en la red se ven favorecidos por la mayor concentración de Pro e Hpro en GB, dichos sitios pudieron haber sido reemplazados por interacciones con quitosano lo cual pudo acelerar la movilidad de la matriz. Esto se correlaciona con los resultados informados en relación a un aumento más acelerado de la relajación entálpica durante el almacenamiento.

4. CONCLUSIONES

El aumento de la cinética de relajación estructural por incorporación de quitosano resultó ser una consecuencia del tipo de interacciones formadas entre el quitosano y la gelatina, las cuales pudieron facilitarse según el grado de exposición de los residuos de quitosano y de la proteína lo que estaría determinado por el grado de plegamiento de las cadenas poliméricas. No se puede dudar que el fenómeno de interacción va a estar comandado por las uniones de tipo puente de hidrógeno y las interacciones electrostáticas, las que ya han sido reportadas en muchos estudios previos de interacciones moleculares. Por lo

tanto la incorporación de Q modificó la cinética de relajación, lo cual podría explicarse por cambios nanoestructurales intermoleculares relacionados con la intervención de Q y su contribución a la movilidad molecular.

5. BIBLIOGRAFÍA

Aguilera, J., and Lillford, P. (2008). *Food materials science: principles and practice*. New York: Springer.

Arvanitoyannis, I., Nakayama, A., Aiba, S. (1998a). Edible films made from hydroxypropyl starch and gelatin and plasticize

d by polyols and water. *Carbohydrate Polymers*, 36, 105–119.

Badii, F., and Howell, N. K. (2006). Fish gelatin: structure, gelling properties and interaction with egg albumen proteins. *Food Hydrocolloids*, 20(5), 630–640.

Cameron, N. R.; Cowie, J. M. G.; Ferguson, R.; McEwan, I. (2000). *Polymer*, 42, 6991–6997.

Chambi H, Grosso C.(2006). Edible films produced with gelatin and casein cross-linked with transglutaminase. *Food Res Int.* 39:458–66.

Chiou, B.-S., Avena-Bustillos, R. J., Bechtel, P. J., Jafri, H., Narayan, R., Imam, S. H., et al. (2008). Cold water fish gelatin films: Effects of cross-linking on thermal, mechanical, barrier, and biodegradation properties. *European Polymer Journal*, 44, 3748–3753.

Denavi, G. A., Pérez-Mateos, M., Añón, M. C., Montero, P., Mauri, A. N., & Gómez-Guillén, M. C. (2009). Structural and functional properties of soy protein isolate and cod gelatin blend films. *Food Hydrocolloids*, 23(8), 2094e2101.

Enrione, J., Sáez C., López D., Skurtys O., Acevedo C., Osorio F., MacNaughtan W., Hill S. (2011). Structural Relaxation of Salmon Gelatin Films in the Glassy State. *Food and Bioprocess Technology An International Journal*.

Gómez-Guillén, M. C., Turnay, J., Fernández-Díaz, M. D., Ulmo, N., Lizarbe, M. A., & Montero, P. (2002). Structural and physical properties of gelatin extracted from different marine species: a comparative study. *Food Hydrocolloids*, 16(1), 25e34.

Gómez-Estaca, M.C. Gómez-Guillén, F. Fernández-Martín, P. Montero (2011) Effects of gelatin origin, bovine-hide and tuna-skin, on the properties of compound gelatin chitosan films. *Food Hydrocolloids* 1-9

Joly-Duhamel, C., Hellio, D., & Djabourov, M. (2002). All gelatin networks. 1. Biodiversity and physical chemistry. *Langmuir*, 18 (19), 7208–7217.

Kolodziejaska I, Piotrowska B, Bulge M, Tylingo R. (2006). Effect of transglutaminase and 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide on the solubility of fish gelatin–chitosan films. *Carbohydr Polym*;65:404–9.

Kolodziejaska I, Piotrowska B. (2007). The water vapour permeability, mechanical properties and solubility of fish gelatin–chitosan films modified with transglutaminase or 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopro-pyl) carbodiimide (EDC) and plasticized with glycerol. *Food Chem*;103:295–300.

Liu L, Liu CK, Fishman ML, Hicks KB. (2007) Composite films from pectin and fish skin gelatin or soybean flour protein. *J Agri Food Chem*;55:2349–55.

Lourdin D, Colonna P, Brownsey G J, Noel T R and Ring S G. (2002). Structural relaxation and physical ageing of starchy materials. *Carbohydrate Research*: 337 (9), 827-833.

McGonigle E, Cowie J., Arrighi V., Pethrick R. (2005). Enthalpy relaxation and free volume changes in aged styrene copolymers containing a hydrogen bonding co-monomer. *Journal of Material Science*. vol. 40, n°8, pp. 1869-1881

Pineda, P., Prieto, N., Gómez, M., Rosales A. (2006). Estudio de la transición vítrea en el poliestireno por DSC y MDSC. *Revista colombiana de física* 38 N°3: 1142-1145.

Rahman MS, Al-Saidi GS and Guizani N., (2008) Thermal characterization of gelatin extracted from yellowfin tuna skin and commercial mammalian gelatin. *Food Chem* 108:472–481

Rivero, S., García, M. A., & Pinotti, A. (2009). Composite and bi-layer films based on gelatin and chitosan. *Journal of Food Engineering*, 90, 531-539.

Sionkowska, M. Wisniewski, J. Skopinskaa, C.J. Kennedyb, T.J. Wess (2004) Molecular interactions in collagen and chitosan blends. *Biomaterials* 25 795–801

Yin Y J, Yiao KD, GX Cheng and Ma JB (1999). Properties of polyelectrolyte complex films of chitosan and gelatin. *Polym Int* 48:429-433.

Zhuang, Y., Hou, H., Zhao, X., Zhang, Z., & Li, B. (2009). Effects of collagen and collagen hydrolysate from jellyfish (*Rhopilema esculentum*) on mice skin photoaging induced by UV irradiation. *Journal of Food Science*, 74(6), H183eH188.

ANEXOS: TABLAS Y FIGURAS.

Tabla1. Caracterización térmica gelatinas

película	c.h. (b.h.) %	ΔC_p (J/g°C)	σ	T_g (°C)	σ	Temperatura de fusión (°C)			ΔH (J/g)	σ	X_c (%)
						onset°C	peak°C	endpoint°C			
GB	20,9	0,44	0,12	51,6	0,8	69,6	73,6	77,3	26,2	1,7	42
GB-Q1	19,2	0,55	0,12	48,3	0,2	72,8	76,6	79,4	27,9	1,3	45
GB-Q2	17,8	0,27	0,04	50,2	0,2	75	78,7	82,5	22,9	0,5	37

X_c : % de cristalinidad = $(\Delta H / \Delta H_{colágeno}) * 100$ donde $\Delta H_{colágeno} = 62,05$ (J/g) (Achet & He, 1995)

Aminoácido	GB (mg/100g)
Pro	12214
Hpro	10710
Asp	4639
Glu	8083
Lys	4729
Arg	8887

Tabla 2. Perfil aminoacídico de GB

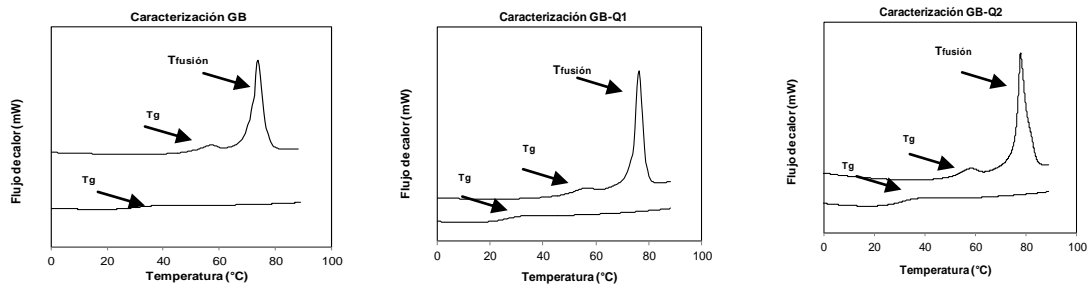


Figura 1. Termogramas caracterización inicial de películas de GB y mezclas con quitosano (GB-Q1/GB-Q2).

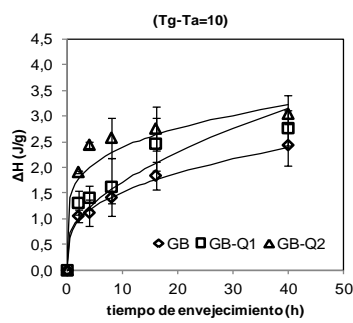


Figura 2. Relajación entálpica de películas de GB y mezclas con quitosano almacenados a $T_g - T_a = 10^\circ\text{C}$ hasta 40 h.

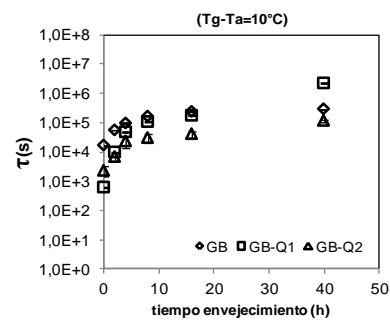


Figura 3. Cinética de relajación (τ) de películas de GB y mezclas con quitosano almacenados a $T_g - T_a = 10^\circ\text{C}$ hasta 40 h.

CARACTERIZACIÓN DE ANTINUTRIENTES DE NATURALEZA PROTEICA EN TORTA Y SEMILLA DE SACHA INCHI *Plukenetia volubilis* LINNEO.

Glorio Paulet, P¹., Lazaro Aguilar, R² y Kitazono Sugahara, A³.

- (1) Facultad Industrias Alimentarias. correo electrónico: *pgp@lamolina.edu.pe* (2) Investigadora de tesis. Facultad de Industrias Alimentarias (3) Departamento de Química, Facultad de Ciencias. (1,2,3) Universidad Nacional Agraria - La Molina. Lima Perú.

RESUMEN

El Sacha inchi es cultivado desde épocas prehispánicas, actualmente se le encuentra en la selva alta del Perú hasta los 2000 msnm. Es fuente de ácidos grasos ω -3 y otros nutrientes. La torta de semillas desgrasadas por prensado en frío contiene proteínas (45.5%), para las cuales existen reportes europeos de alergia ocupacional y reportes peruanos que señalan para ésta un aumento significativo en el valor biológico después de sometidas al proceso de extrusión. Con el objetivo de caracterizar los posibles componentes antinutricionales y alergénicos, se han determinado la actividad hemoaglutinante en diluciones de eritrocitos de conejo, la actividad de inhibidores de tripsina con uso de sustrato BAPMA, Prick test en paciente sensibilizado a sachá inchi, inmunoblot para Ricina A, y reactividad cruzada con antisueros de pacientes alérgicos a Soya y maní usando la técnica de SDS-PAGE y western blot. Se encontró actividad hemoaglutinante, título 1/32 en torta (120 ug proteína soluble/ml) y 1/64 en semilla (50 ug proteína soluble/ml), actividad de inhibidores de tripsina expresada en UTI/mg (unidades de tripsina inhibida por miligramo de muestra) de 31.9 para la semilla y 43.19 para la torta. No se observó reactividad cruzada entre las bandas proteicas de sachá inchi con los antisueros de pacientes alérgicos a maní ni a soya. Se identificó mediante el Prick test a un solo trabajador de la universidad como alérgico a la torta y semilla sin embargo la reacción alérgica fue negativa para el aceite. Proteínas en semilla y torta fueron reconocidas por el anticuerpo cadena A de ricina. Se concluye que los antinutrientes identificados son de naturaleza termolábil, presentes en cantidades similares a las de otras leguminosas y que la proteína de sachá inchi es una alternativa para pacientes alérgicos a soya y maní.

INTRODUCCIÓN.

La semilla del sachá inchi supera en porcentaje el contenido de ácidos grasos insaturados (omega 3, 6 y 9, beneficiosos para la salud) y presenta un menor porcentaje de grasas saturadas en comparación a la mayoría de las oleaginosas. Esta semilla es rica en aceite y proteínas, conteniendo 41.4% y 24.7%, respectivamente (Gutiérrez *et al.*, 2011). El subproducto de la extracción de aceite de sachá inchi, llamado “torta de semillas” tiene un alto contenido de proteínas (58.72% reportado por Pascual y Mejía, 2000). Respecto al valor nutricional de éstas, Sathe *et al* (2002) encontró para aislado proteico de la semilla de Sachá Inchi, que corresponde a albúmina aislada y purificada de la almendra (31% del contenido total de la proteína), un balance aminoacídico adecuado con los patrones FAO/OMS para cubrir los requerimientos proteicos de un adulto. Sin embargo, Ruiz *et al* (2013) señala en la proteína de torta sin purificar, a Lisina y Leucina como limitantes, los que se encuentran en cantidades inferiores a lo reportado por FAO/OMS.

Estudios preliminares en roedores señalan un valor biológico para la torta sin extruir de 5.75%, mientras que para la torta extruida 67.43% (11 veces mayor) (UNALM 2013). Esta información sugiere que durante las altas temperaturas y presiones a las que se somete la torta durante el proceso de extrusión se eliminan una serie de compuestos que limitan el valor nutricional del alimento. Son anti nutrientes termolábiles las lectinas y los inhibidores de tripsina. También afectan la inocuidad de las proteínas, los casos de alergenicidad. Bueso *et al.* (2010) usando SDS-PAGE observó el reconocimiento positivo de bandas peptídicas de la proteína de sachá inchi por parte de antisuero de paciente mujer de 40 años encargada de laborar en la manipulación de la semilla, también se ha sugerido a partir de los pesos moleculares obtenidos para estas bandas positivas, semejanzas de pesos moleculares con el péptido tóxico de la ricina sin confirmarlo. Son muy raros aún los reportes de alergenicidad a sachá inchi. Sin embargo no es raro que exista reactividad cruzada entre antisuecos de alérgenos más importantes, como el maní y el lupino, hacia otras oleaginosas tales como el sachá inchi. Con el objetivo de contribuir a establecer la inocuidad de los derivados proteicos de sachá inchi, en la presente investigación se han determinado la actividad inhibitoria de tripsina, actividad hemoaglutinante de lectinas y reactividad cruzada de fracciones de torta y semilla de sachá inchi con el anticuerpo cadena A de ricina y con antisuero de pacientes alérgicos a maní y soya.

MATERIALES Y MÉTODOS.

Materia Prima

El sachu inchi fue gentilmente proporcionado por el INIA (Instituto Nacional de Investigación Agraria del Perú), departamento San Martín – Perú, provincia Lamas. Las muestras fueron torta, obtenida como remanente de la extracción de aceite de sachu inchi (prensada en frío); y semilla de sachu inchi. Los tratamientos térmicos a los que fueron sometidos las muestras a nivel de laboratorio fueron: secado de semilla a 60 °C por 4 horas; tostado de semilla hasta 150 °C por 30 segundos y semillas con tostado casero (Tostado artesanal en sartén, por menos de 15 segundos) luego todas se molieron y tamizaron.

Los pacientes: Suero de paciente alérgico a Maní cod. 274 Título >100 IgE (2 - Historia clínica convincente y el resultado positivo) y suero de paciente alérgico a Soya cod. 587 Título 33.3 IgE (desafío positivo) donados por “Food Allergy Research & Education”

Métodos

Análisis Proximal: Se determinó por duplicado, el porcentaje de humedad, cenizas y grasa empleando el método de la AOAC (1990). **Proteína soluble.** Se determinó por duplicado, Extractos para actividad Hemoaglutinante: Bradford (1976) citado por Goldring (2012); Extractos para electroforesis: Lowry *et al.* (1951) citado por Goldring (2012); **Determinación de actividad inhibitoria de tripsina.** Método de Aliaga (2001); citado por Aliaga y Gómez (2007). Se realizaron tres extracciones del inhibidor por muestra y en cada uno se midió la actividad enzimática por duplicado. **Determinación de actividad hemoaglutinante.** Para obtener los extractos y los eritrocitos de conejo se siguió la metodología de Gómez y Aragón (1986), citados por López *et al.* (2011), y en las diluciones seriadas se adaptó la metodología de Matson *et al.* (2004),

Western Blotting. Se evaluó la presencia de alérgenos y de cadena A de ricina en las fracciones proteicas de semilla y torta de sachu inchi, utilizando la metodología de Western Blotting adaptada de Dooper (2009).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Análisis Proximal.

La humedad en semillas de sachu inchi ($6,66 \% \pm 0,31\%$) fue mayor al $6,46 \pm 0,05 \%$ reportado por Sathe *et al.* (2012), dentro intervalo (0-13%) adecuado para el almacenamiento y el procesamiento sin degradación de microorganismos (James, 1995; citado por Gutiérrez *et al.*, 2011). El contenido de ceniza en la semilla de sachu inchi (2,66%

$\pm 0.01\%$), fue mayor al $1,03 \pm 0,06 \%$ obtenido por Sathe *et al.* (2012), pero menor a los 4.0% $\pm 0.07\%$ reportados por Gutiérrez *et al.* (2011). El contenido de grasa ($49,14\% \pm 2.87 \%$) en sachá inchi, fue mayor al 42.0% $\pm 1.1 \%$ reportado por Gutiérrez *et al.* (2011), superior al $34,42\%$ obtenido por Bondioli y Della Bella (2006); citados por Gutiérrez *et al.* (2011), pero inferior al reportado por Hamaker *et al.* (1992). Las diferencias podrían deberse a las diferentes subespecies, condiciones geográficas y climas, tiempo de cosecha (Yang y Kallio, 2002; citados por Gutiérrez *et al.* 2011).

Tabla 1. Determinación de humedad, grasa y cenizas en sachá inchi

	HUMEDAD b.h. (%) ^(a)	% GRASA ^(b)	CENIZAS (%) ^(b)
Semilla	$6,66 \%$ $\pm 0.31\%$ ^(c)	$49,14\%$ $\pm 2.87 \%$	$2,66\%$ $\pm 0.01\%$
Semilla tostada	$5,71 \%$ $\pm 0.35\%$	$52,78\%$ $\pm 2.65 \%$	$3,13\%$ $\pm 0.04 \%$
Torta	$3,92 \%$ $\pm 0.45\%$	$44,76\%$ $\pm 0.12\%$	$3,50\%$ $\pm 0.09 \%$
Torta 60°C	$3,46 \%$ $\pm 0.24\%$	$48,21\%$ $\pm 0.74\%$	$2,71\%$ $\pm 0.04 \%$

^(a) Para el porcentaje de humedad, n=3. ^(b) Para el porcentaje de grasa y cenizas, n=2. ^(c) Todos los datos se expresaron como media \pm desviación estándar.

Actividad de inhibidores de tripsina

Ver Tabla 2. En base seca se obtuvo $35,58 \pm 11.71 \%$ UTI/mg en semilla sachá inchi, menor al valor de 170.37 UTI/mg reportado en soya por Aliaga y Gómez (2007). La semilla tostada a 150°C por 30 segundos presento la disminución significativa de los inhibidores de tripsina, llegando hasta un valor de 0 UTI/mg. Esto indica que el proceso de tostado permite la destrucción efectiva de este anti nutriente. De modo similar la torta a 60°C por 4 horas disminuyo los inhibidores de tripsina hasta $20,55$ UTI/mg. Respecto a las características sensoriales de la torta sometida a secado a 60°C vs semilla tostada, se observó que mientras que en el primer caso no hubo cambios notables, en el segundo producto, el tostado generó oscurecimiento, sabor amargo y olores desagradables. Otras alternativas para disminuir los inhibidores de tripsina, han sido reportadas por Bilbao *et al.* (2000), quien logro disminuirlos hasta un rango no detectable en granos remojados por 12 horas y cocinados en una olla a presión (121°C) durante 30 minutos para el caso de frijol y 20 minutos para arveja.

Tabla 2. Determinación de actividad de inhibidor de tripsina en muestras desgrasadas y con tratamientos térmicos en semilla y torta de sachá inchi

	UTI/mg (b.s.) ^(a)	UTI/mg (b.h.) ^(a)	MINIMO	MAXIMO
TORTA	32,43 ± 6.21	34,74 ± 6.21	27,3	42,24
SEMILLA	35,58 ± 11.71	37,73 ± 11.71	22,25	48,7
TORTA 60°C	21,04 ± 2.26	21,9 ± 2.26	20,55	23,25
SEMILLA TOSTADA	2,78 ± 4.63	2,88 ± 4.63	=-0,4 = 0	6,15

^(a)UTI/mg (unidades de tripsina inhibida por mg de muestra) media ± desviación estándar; para torta y semilla, n=4; para torta tratada a 60°C y semilla tostada a 150°C por 30 segundos, n=2. ^(b)Valor mínimo y máximo de UTI en base húmeda.

Actividad hemoaglutinante

Tabla 3. Actividad hemoaglutinante en extractos de sachá inchi

	Ultima dilución hemoaglutinante ^(a)	Actividad hemoaglutinante ^(b)	Concentración de proteína soluble (µg/ml) ^(b)
TORTA	1/32	5	120,2581 ± 23.63
SEMILLA	1/64	6	50,34675 ± 1.90
RICIN	1/4	2	107,5942 ± 0.04
SOYA	1/32	5	1644,346 ± 0.07

^(a) Se expresó como resultado la moda por ser una prueba cualitativa. ^(b) Concentración de proteína soluble en última dilución con hemoaglutinación (media ± desviación estándar).

^(b)Resultados expresados en “-log₂ (última dilución aglutinante)”.

En la Tabla 3, se observó aglutinación (hasta la dilución 1/32), para el caso de las semillas sin haber sido sometidas a tratamientos físicos de extracción de aceite, se observó este fenómeno aún en menores concentraciones (hasta la dilución 1/64), suponiendo que el tratamiento de prensado en frío usado en la industria de Perú, modifica la actividad hemoaglutinante. El sachá inchi *semilla* presentó mayor actividad hemoaglutinante que el ricin y que la soya, diferente a lo reportado por Calderón *et al.* (2000), quienes indican que la soya es una de las semillas con mayores diluciones necesarias para aglutinar soluciones de eritrocitos al 3%.

Bandas electroforéticas de proteínas integrales de sachá inchi

En los geles SDS-PAGE de la Figura 1. se observa bandas correspondientes a los pesos moleculares de 12, 15, 17, 32, 35, 38 ~ kDa y bandas proteicas de menor intensidad a 52 ~ kDa en semilla y torta de sachá inchi, agrupándose en dos sectores de 12 – 17 y de 32 – 38 kDa. No se observa fraccionamiento proteico en las semillas tostadas de sachá inchi a

150 °C por 30 segundos, porque este tratamiento térmico fue muy extremo degradando proteínas impidiendo que estas se pudieran desarrollar por electroforesis.

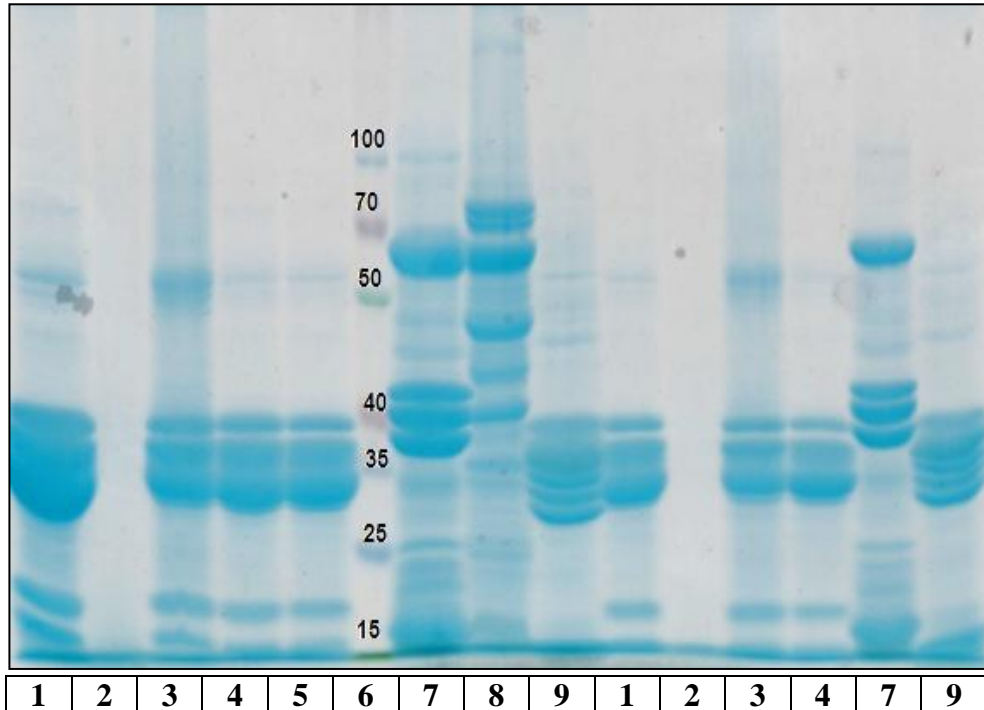


Figura 1. Fraccionamiento electroforético de proteínas. (1) Semilla de sachá inchi, (2) sachá inchi tostado a 150 por 30 segundos, (3) sachá inchi con tostado casero, (4) sachá inchi secada a 60°C por 4 horas, (5) torta de sachá inchi, (6) marcador de peso molecular, (7) maní, (8) tarwi y (9) ricin.

El tostado casero, tratamiento térmico moderado, si permitió observar los mismos pesos moleculares que la semilla, indicando una degradación menos severa de las principales fracciones proteicas. También es notorio ver que las fracciones proteicas del ricin se agrupan en dos sectores de 10- 12 y de 30 – 40 KDa, semejantes a los pesos moleculares del sachá inchi.

Epitopes de cadena a de ricina en sachá inchi

El anticuerpo cadena A de ricina reconoce epítipes en las fracciones proteicas de 30 a 32 KDa de semilla y torta de sachá inchi, así como en los tratamientos de sachá inchi a 60° por 4 horas y semilla de sachá inchi con tostado casero, pero con menor nitidez que en la semilla sin tratamiento, lo que sugiere que este péptidos disminuye con el tostado.

Reactividad cruzada de fracciones proteicas en sachá inchi con IgE de pacientes alérgicos a soya

En inmunoblotting del paciente con alergias a soya se observó que el paciente con 33.3 IgE (desafío positivo), presento reactividad cruzada IgE con el maní a 38, 40 y 42 ~ KDa. No se observó reacción alérgica con las semillas o torta de sachá inchi, ni con el tarwi. Aunque se esperaba alguna reacción de las fracciones proteicas del tarwi con las de soya, no se observó ninguna.

reactividad cruzada de fracciones proteicas en sachá inchi con IgE de pacientes alérgicos a mani

El paciente con >100 IgE (2 - Historia clínica convincente y el resultado positivo de la prueba), no presento reactividad cruzada con las fracciones proteicas de sachá inchi.

Busqueda de paciente sensibilizado a proteínas de sachá inchi

Se buscó e identifico por medio de encuestas a un paciente, al cual se le realizó la prueba cutánea (Prick test), El resultado fue positivo para la prueba de semilla, torta y cascara de sachá inchi, pero no para el aceite de sachá inchi.

CONCLUSIONES.

El sachá inchi presenta actividad de inhibidores de tripsina moderada, disminuyendo considerablemente con el tratamiento térmico, llegando a eliminarse con el tostado. Es decir, el tratamiento térmico muestra degradación de componentes antinutricionales. La actividad hemoaglutinante en sachá inchi es alta, semejante a la soya y mayor a la actividad de ricin. Las fracciones proteicas del sachá inchi no presentaron reactividad cruzada con los sueros de pacientes alérgicos a maní ni a soya. El anticuerpo cadena A de ricina reconoce epítopes en las fracciones proteicas de semilla y torta de sachá inchi, este péptido se reduce con el tratamiento térmico. Sin embargo, la reacción positiva entre un epitope de 30 KDa con el anticuerpo cadena A de ricina no significa necesariamente que la semilla de sachá inchi sea toxica, puesto que para ser toxica se requiere de la presencia de una lectina de 30 KDa, llamada cadena B. Solo la unión de ambos monómeros mediante un puente disulfuro forman la toxina ricina.

AGRADECIMIENTOS

Al proyecto Perúbiodiverso, una iniciativa apoyada por la Cooperación Suiza – SECO y la Cooperación Alemana (implementada por la GIZ). A la Dra Ana Kitazono por sus equipos para electroforesis y blotting y desarrollar las metodologías. Food Allergy Research & Education (FARE) de EU por proporcionar sueros de pacientes alérgicos a soya y mani.

BIBLIOGRAFÍA.

Aliaga, P. y Gómez, B. 2007. Efecto del desgrasado sobre la actividad del inhibidor de tripsina en raíces de camote. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Agraria La Molina. Anales científicos UNALM 68(2), 2007. Lima-Perú.

AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. 15th Edition. Association of Official Analytical Chemist. Agriculture chemical; Contaminants; Drugs. Vol. 1 and 2. Virginia, EEUU.

Bilbao R., T.; Hampe A., S.; Addae S., R.; Puerta G., F. y Ledesma R., L. 2000. Ocurrencia de Tóxicos Naturales en frijol colorado (*Phaseolus vulgaris*) y arveja (*Pisum sativum*). Efecto del tiempo de almacenamiento y los tratamientos caseros. de Farmacia y Alimentos. Universidad de la Habana. Rev.Fac.Nal.Agr.Medellín.Vol.53, No.1. p. 901-912. 2000.

Bueso, A., Rodríguez-Pérez, R., Rodríguez, M., Dionicio, J., Pérez-Pimiento, A. y Caballero, M.L. 2010. Occupational allergic rhinoconjunctivitis and bronchial asthma induced by *Plukenetia volubilis* seeds. Occupational and Environmental Medicine 67(11):797-798.

Calderón, A.M; Wall, A.; Jara, M.; Aarón F. Córdova, G.; y Ruíz, A. 2000. Modificación enzimática de las propiedades funcionales, nutricias y sensoriales de la soya para alimentación especial. Dirección de Nutrición, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C., Hermosillo, Sonora, México, ALAN v.50 n.1 Caracas mar. 2000.

Dooper, M.M.; Plassen, C.; Holden, L.; Lindvik, H. Y Fæste, C.K. 2009. Immunoglobulin E Cross-Reactivity between Lupine Conglutins and Peanut Allergens in Serum of Lupine-Allergic Individuals. J Investig Allergol Clin Immunol 2009; Vol. 19(4): 283-291

Gutiérrez, L.F.; Rosada, L.M. y Jiménez, A. 2011. Chemical composition of sacha inchi (*Plukenetia volubilis L.*) seeds and characteristics of their lipid. International Journal of Fats and Oils Volumen 62. N. ° 1 enero-marzo2011. Sevilla – España. ISSN: 0017-3495, Pag. 76-83.

Goldring JD. 2012. Protein quantification methods to determine protein concentration prior to electrophoresis. Protein Electrophoresis: Springer. p. 29-35.

Hamaker, B. R.; Valles, C.; Gilman, R.; Hardmeier, R. M.; Clark, D.; García, H. H.; Gonzales, A. E.; Kohlstad, I.; Castro, M.; Valdivia, R.; Rodríguez, T.; Lescano, M. 1992. Amino Acid and Fatty Acid Profiles of the Inca Peanut (*Plukenetia volubilis L.*). American Association of Cereal Chemists. Note, Vol. 69 N° 4. Pages 461 – 463.

López, L.; Fariñas, M.; Amaro, M.E. 2011. Evaluación de la actividad hemaglutinante y hemolítica de las esponjas marinas *Niphates erecta* (Duchassaing y Michelotti, 1864) y *Callyspongia vaginalis* (Lamarck, 1814). Saber, Universidad de Oriente, Venezuela. Vol. 23 N° 2: 113-119. (2011). Venezuela.

Matson, K.A.; Ricklefs, R.E.; y Klasing, K.C. 2005. A hemolysis–hemagglutination assay for characterizing constitutive innate humoral immunity in wild and domestic birds. *Developmental and Comparative Immunology* 29 (2005) 275–286. U.S.A.

Pascual, G.; y Mejía, M. 2000. Extracción y caracterización del aceite de sachá inchi. *Anales Científicos UNALM*. Lima. 2000. Enero-Marzo (42): 144 – 158.

Ruiz C, Díaz C, Anaya J, Rojas R. 2013. Análisis proximal, antinutrientes, perfil de ácidos grasos y de aminoácidos de semillas y tortas de 2 especies de Sachá inchi (*Plukenetia volubilis* y *Plukenetia huayllabambana*). *Revista de la Sociedad Química del Perú* 79(1):29-36.

Sathe, S.K.; Kshirsagar, H.H.; y Sharma, G.M. 2012. Solubilization, Fractionation, and Electrophoretic Characterization of Inca Peanut (*Plukenetia volubilis* L.) Proteins. *Plant Foods for Human Nutrition* September 2012, Volume 67, Issue 3, pp 247-255.

UNALM 2013 Reporte del curso de Evaluación Nutricional de Alimentos. Programa de Nutrición.

CARACTERIZACIÓN DEL COLOR DE POLEN APÍCOLA COLOMBIANO MEDIANTE ANÁLISIS DE IMÁGENES Y ESTADÍSTICA MULTIVARIADA

Carlos Zuluaga^{1,2,*}, Andrés Durán¹, Marta Quicazán¹

¹ Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad Nacional de Colombia. Carrera 30 # 45-03 Edificio 500C. Bogotá D.C., Colombia.

² Departamento de Ingeniería Química y Ambiental. Facultad de Ingeniería. Universidad Nacional de Colombia. Carrera 30 # 45-03 Edificio 453. Bogotá D.C., Colombia.

*correo electrónico: cmzuluagad@unal.edu.co

INTRODUCCIÓN

El polen es el gametofito masculino de las flores empleado como medio para lograr la reproducción de las plantas. Las abejas cuando visitan las flores cubren su cuerpo con el polvo polínico presente en el material vegetal, formando pellets con su saliva que posteriormente fijan a las corbículas de sus patas traseras para así transportarlo hasta la colmena (Campos et al., 2008). La importancia del polen para las abejas radica en que es su única fuente de proteínas, grasas, vitaminas y minerales, y el principal alimento durante su fase larval (Seeley, 2006).

En años recientes, el reconocimiento del valor nutricional y bioactivo del polen ha promovido su incursión como alimento para humanos. Los apicultores recolectan la cantidad que hay en exceso de polen en la colmena, que posteriormente es secado, usualmente a temperaturas entre 40 - 50°C y comercializado para el consumo humano (Campos et al., 2010). Aunque no hay datos reportados acerca de la producción y comercialización de polen en el mundo, países como España, Portugal, China, Brasil y Argentina dominan la mayor parte del mercado (Bogdanov, 2011). En el caso específico de Colombia, el polen es producido en casi todas las regiones del país; sin embargo, los apicultores han reconocido las ventajas geográficas de la zona conocida como Altiplano Cundiboyacense, área en la que se concentra cerca de la producción doméstica (Martínez, 2006). En esta región, los reportes indican una productividad de las más altas del mundo, cerca de 40 kg de polen/colmena/año, en comparación a los países anteriormente mencionados que no superan los 15 kg/colmena/año.

Otra ventaja, es el Altiplano Cundiboyacense se ubica a más de 2000 metros sobre el nivel del mar (Martínez, 2006), por lo tanto el polen de allí obtenido es reconocido como de alta montaña. Este aspecto es asociado con una mejor calidad en términos de concentración de metabolitos secundarios, en particular flavonoides y antioxidantes, atributos que hoy en

día son apreciados por el consumidor y donde el polen está recibiendo una atención especial en el campo de los alimentos funcionales (ICTA, 2007). Teniendo en cuenta que el polen sirve como un mensajero para la reproducción de las plantas, la alta actividad antioxidante puede entenderse como un instrumento para evitar el daño del ADN que está contenido en el grano por efecto de la radiación UV, lo que explica que en general tenga una mayor capacidad antioxidante, ya que estas zonas tienen un índice de radiación superior (Stanley and Linskens, 1974).

Por otra parte, siempre se ha considerado la medición de color como un aspecto de valoración de la calidad de un alimento, el cual se ve influenciado por aspectos tales como la textura, forma e inclusive contenido nutricional y bioactivo (Yu and MacGregor, 2003). En el caso del polen, el color se ve ampliamente afectado tanto por el origen multifloral así como por el contenido de flavonoides, responsables de la tonalidad del grano (amarillo, café, rojo, púrpura, entre otros) (Stanley and Linskens, 1974), haciendo difícil la medición de color en los granos, por lo menos mediante el empleo de técnicas tradicionales.

El objetivo de este trabajo es entonces el desarrollo de una forma rápida y sencilla de valoración del color de polen, cuando es sometido a un proceso de secado a temperaturas entre 40 y 60°C, a partir de análisis de imágenes en escala RGB y estadística multivariada, que pueden ser descritos en términos de componentes principales o variables latentes, establecidas a través de las técnicas de PCA y PARAFAC. La meta es seleccionar las características principalmente relacionadas a la variación de la tonalidad del polen ocasionada por el proceso de secado del grano y no aquellas ligadas a efectos de la luz u otros factores no relevantes.

MATERIALES Y METODOS

Muestras

Las muestras de polen fueron recolectadas en la población de Viracachá, ubicada en la zona del Altiplano Cundiboyacense colombiano (5°26'11.59"N, 73°17'54.25"O, elevación 2517 msnm). El polen fue almacenado en frascos de vidrio de 250 mL y conservado en refrigeración hasta la realización de los procesos de secado.

Secado

El secado de polen fue realizado en un secador de bandejas con flujo de aire forzado a velocidad constante. El tratamiento fue llevado a cabo a tres temperaturas diferentes: 40°C, 50°C y 60°C, durante un tiempo de seis horas.

Toma de imágenes

Las imágenes fueron obtenidas con una cámara digital con resolución de 800 x 600 píxeles, insertada como parte de un aparato experimental, compuesto por un sistema de iluminación que contiene una lámpara halógena de emisión de luz blanca (200W). Cada imagen fue almacenada como formato “jpeg”. Fotografías estándar para cada proceso de secado son presentadas en la Figura 1.

Análisis de imagen

Cada archivo de imagen, fue convertido en una matriz de datos tridimensional de tamaño 800 x 600 x 3, correspondiente a los valores obtenibles a partir de la escala de color RGB (rojo, verde, azul), para cada pixel. La escala RGB tiene como rango números enteros entre 0 y 255.

Para este trabajo se emplearon tanto Análisis de Componentes Principales (PCA) y Análisis de Factores Paralelos (PARAFAC) como técnicas comparativas para el análisis de imagen. Para el empleo del PCA, la matriz de datos tridimensional fue desdoblada a un arreglo matricial de tamaño 480,000 x 3 (ver Figura 2), reteniéndose únicamente los dos primeros componentes principales. Como método de escalado se empleó el centrado de datos. Por otra parte el método PARAFAC fue realizado directamente sin tener la necesidad de desdoblar la matriz. Esta técnica arroja tres *loadings* (ver Figura 3), cada una describiendo las dimensiones de altura, ancho y longitud de onda de la matriz tridimensional. Una completa descripción de los principios de estas técnicas pueden ser encontrados en (Andersson and Bro, 2000; Pereira et al., 2009). Ambos métodos fueron realizados mediante el software MATLAB (ver. 7.9. The Mathworks, USA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de análisis de PCA y PARAFAC arrojaron resultados muy similares, en lo que respecta a los *loadings* del espectro RGB. El análisis de PCA mostró que dos componentes principales fueron suficientes en todos los procesos de secado, para describir la variación de los datos sin incluir el ruido originario de las imágenes. Las varianzas explicadas fueron de 99.07%, 99.75% y 99.07% para cada tratamiento: 40°C, 50°C y 60°C, respectivamente. En la figura 4, se observan los *loadings* obtenidos para cada espectro en cada uno de los tratamientos. En cada gráfico se observa que las contribuciones más importantes de color en el polen se originaron mayoritariamente en los componentes rojo R y verde G.

Es importante mencionar que el RGB es un modelo basado en la síntesis aditiva, con el que es posible representar un color mediante la mezcla por adición de los tres colores de luz primarios. El modelo de color RGB no define por sí mismo lo que significa exactamente rojo, verde o azul, por lo que los mismos valores RGB pueden mostrar colores notablemente diferentes en diferentes dispositivos que usen este modelo (Kumar and Verma, 2010). Teniendo esto en cuenta, se explica la razón por la cual en los *loadings*, la contribución del color en polen recae sobre el verde y rojo, ya que a partir de estos se describen en gran parte las tonalidades amarilla, naranja y café.

Por otra parte, los modelos de PARAFAC arrojaron resultados de características uniformes para los tres tratamientos térmicos, evaluados con los dos primeros componentes en cada caso. Las varianzas explicadas fueron de 96.07%, 97.67% y 98.57% para cada tratamiento: 40°C, 50°C y 60°C, respectivamente (ver Figura 5). A pesar de la reducción en el valor de las varianzas, esta técnica, en comparación al PCA, se ajusta mucho mejor a la estructura de datos. Gurden y cols. reportan que un PCA es de mayor utilidad cuando se tienen una descripción de tonalidades de mayor gama, en otras palabras, cuando existen un amplio número de longitudes de onda en la matriz de datos, como pueden ser las obtenidas en un análisis espectrométrico (Gurden et al., 2003). En el caso como el que se tiene en este trabajo, es posible incrementar el rango espectral adicionando variables transformadas (Lied et al., 2000), sin embargo, el resultado obtenido por PARAFAC confirma el hecho que para las imágenes de polen, es suficiente con los espectros RGB.

Los gráficos de la relación de los *loadings* de PARAFAC con respecto a los espectros, muestran que a las diferentes temperaturas a las que han sido sometidas las muestras de polen, las características de color RGB se mantienen sin diferencias notorias. En este caso, nuevamente, se encuentra que en todos los componentes, la contribución del color al grano se origina en los espectros rojo R y verde G. Estos resultados son un indicador que el proceso de secado hasta temperaturas de 60°C no afecta las propiedades visuales del polen. De forma complementaria, en lo que respecta a la composición bioactiva, Pulido y cols. ya habían reportado la ausencia de diferencias significativas en el contenido de fenoles totales en polen tratado térmicamente (Pulido et al., 2012), a las mismas temperaturas empleadas en este trabajo.

CONCLUSIÓN

En este trabajo se mostró que la aplicación del modelo PARAFAC es una aproximación útil para el análisis multivariado de datos obtenidos a partir de imágenes, y complementario al PCA, con las ventajas de ser un método más rápido y eficiente, que aporta una solución única y no dependiente de las condiciones de ortogonalidad que recaen sobre el PCA. Particularmente, es la primera vez que se tenga registro sobre un trabajo de caracterización del color en polen a partir de imágenes y estadística multivariada. Los resultados de los modelos de PARAFAC para cada una de las temperaturas de secado: 40°C, 50°C y 60°C, mostraron que es posible establecer que los tratamientos térmicos no afectan la calidad del color, manteniéndose sus características similares a pesar del incremento en la temperatura. Mientras las técnicas multivariadas descritas acá juegan un papel importante en el análisis de datos, sería también útil considerar a futuro cómo el análisis de imagen y la estadística multivariada pueden ser empleados para extraer información valiosa de datos de origen químico, que requieren de largos tiempos de análisis en laboratorio y personal capacitado. Como se mencionó en la introducción, uno de los responsables del color en el polen es el contenido de flavonoides, sería entonces un reto interesante lograr combinar resultados de orden químico con el análisis de imágenes a través de técnicas de correlación estadística.

BIBLIOGRAFÍA

- Almaraz-Abarca, N., M. Campos, J. Ávila-Reyes, N. Naranjo-Jiménez, and J. Corral. 2007. Antioxidant activity of polyphenolic extract of monofloral honeybee-collected pollen from mesquite (*Prosopis juliflora*, Leguminosae). *Journal of Food Composition and Analysis* 20(2): 119-124.
- Andersson, C., and R. Bro. 2000. The N-way Toolbox for MATLAB. *Chemometrics & Intelligent Laboratory Systems*. 52(1): 1-4.
- Bogdanov, S. 2011. *The Bee Pollen Book*. Bee Product Science.
- Campos, M., S. Bogdanov, L. Almeida-Muradian, T. Szczesna, Y. Mancebo, C. Frigerio, and F. Ferreira. 2008. Pollen composition and standardisation of analytical methods. *Journal of Apicultural Research and Bee World* 47(2): 156-163.
- Campos, M., C. Frigerio, J. Lopes, and S. Bogdanov. 2010. What is the future of Bee-Pollen? *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science* 2(4): 131-144.
- Campos, M., R. Webby, K. Markham, K. Mitchall, and A. Da Cunha. 2003. Ageinduced diminution of free radical scavenging capacity in bee pollens and the contribution of constituent flavonoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51(3): 742-745.

Gurden, E., E. Lage, C. de Faria, I. Joekes, and M.M.C. Ferreira. 2003. Analysis of video images from a gas–liquid transfer experiment: a comparison of PCA and PARAFAC for multivariate image analysis. *Journal of chemometrics* 17: 400-412.

ICTA. 2007. Estrategías para establecer la Denominación de Origen de Productos de las abejas en Colombia. Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad Nacional de Colombia.

Kumar, T., and K. Verma. 2010. Theory Based on Conversion of RGB image to Gray image. *International Journal of Computer Applications* 7(2): 7-10.

Lied, T., P. Geladi, and K. Esbensen. 2000. Multivariate image regression (MIR): implementation of image PLSR—first forays. *Journal of chemometrics* 14: 585-598.

Martínez, T. 2006. Diagnóstico de la actividad apícola y de la crianza de abejas en Colombia. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural - Dirección de Cadenas Productivas. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura.

Pereira, A., M. Reis, and P. Saraiva. 2009. Quality Control of Food Products using Image Analysis and Multivariate Statistical Tools. *Industrial & Engineering Chemistry Research* 48: 988-998.

Pulido, N., C. Salazar, M. Quicazán, and C. Diaz. 2012. Evaluación del efecto de la temperatura de secado sobre el contenido total de compuestos fenólicos en polen apícola. p. 33-36. *In Seminario Internacional Secado de Productos Agrícolas.*

Qin, F., and H. Sun. 2005. Immunosuppressive activity of Pollen *Typhae* ethanol extract on the immune responses in mice. *Journal of Ethnopharmacology* 102(3): 424-429.

Seeley, T. 2006. *Ecología da abelha: Um estudo de adaptação na vida social.* Paixao.

Stanley, R., and H. Linskens. 1974. *Pollen: biology, biochemistry, management.* Springer-Verlag; Berlin, Heidelberg.

Yu, H., and J. MacGregor. 2003. Multivariate image analysis and regression for prediction of coating content and distribution in the production of snack foods. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* 67: 125-144.

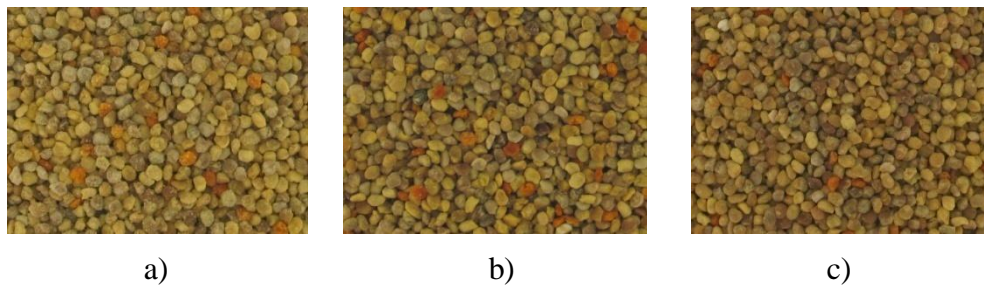


Figura 1. Fotografías típicas obtenidas del proceso de caracterización del color, en polen secado a las temperaturas: a) 40°C, b) 50°C y c) 60°C

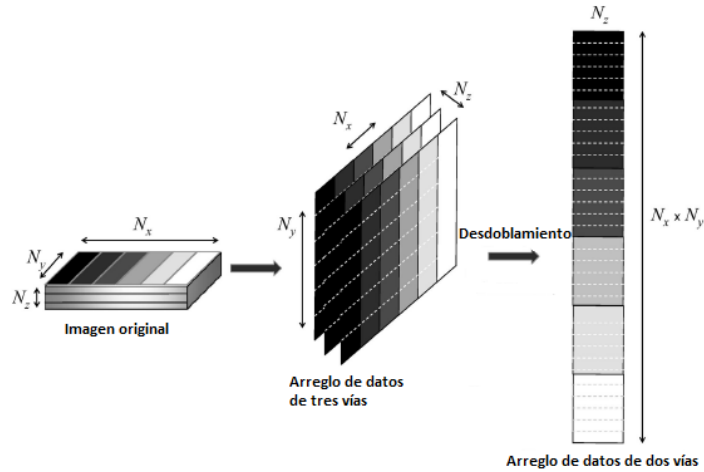


Figura 2. Desdoblamiento de una matriz de tres vías a una de dos, preservando la información de color. Esta nueva estructura es adecuada para un PCA convencional.

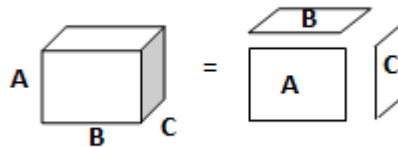


Figura 3. Desdoblamiento de una matriz de tres vías a tres matrices de dos vías, obtenido a través de PARAFAC.

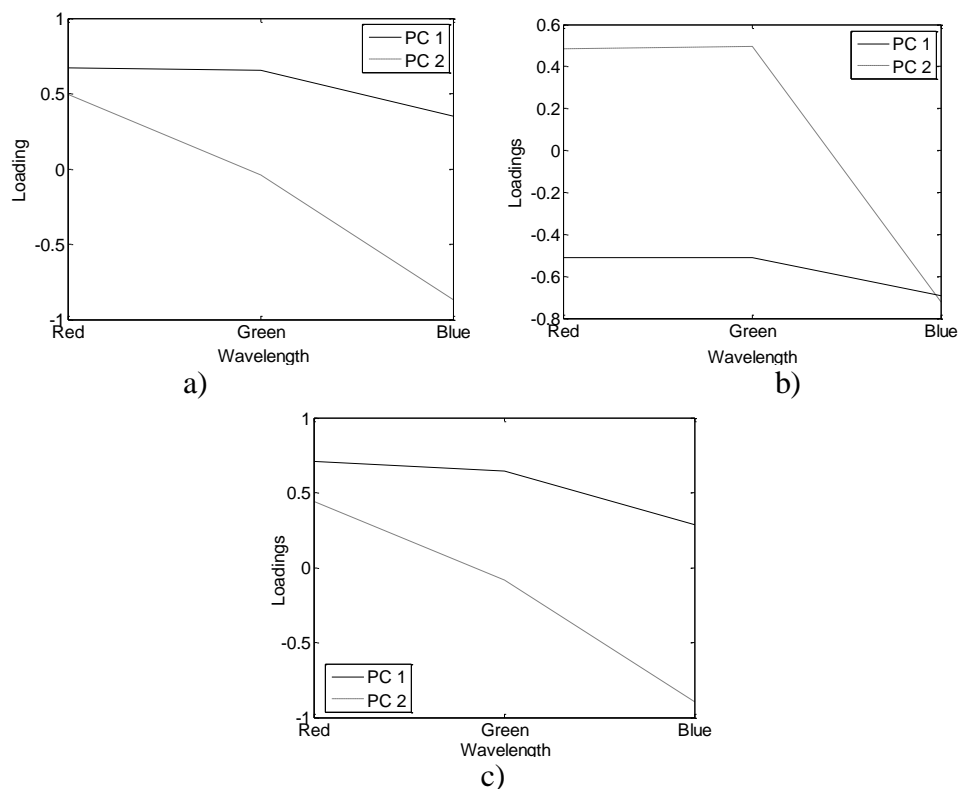


Figura 4. Loadings del PCA para el polen secado a: a) 40°C, b) 50°C y c) 60°C

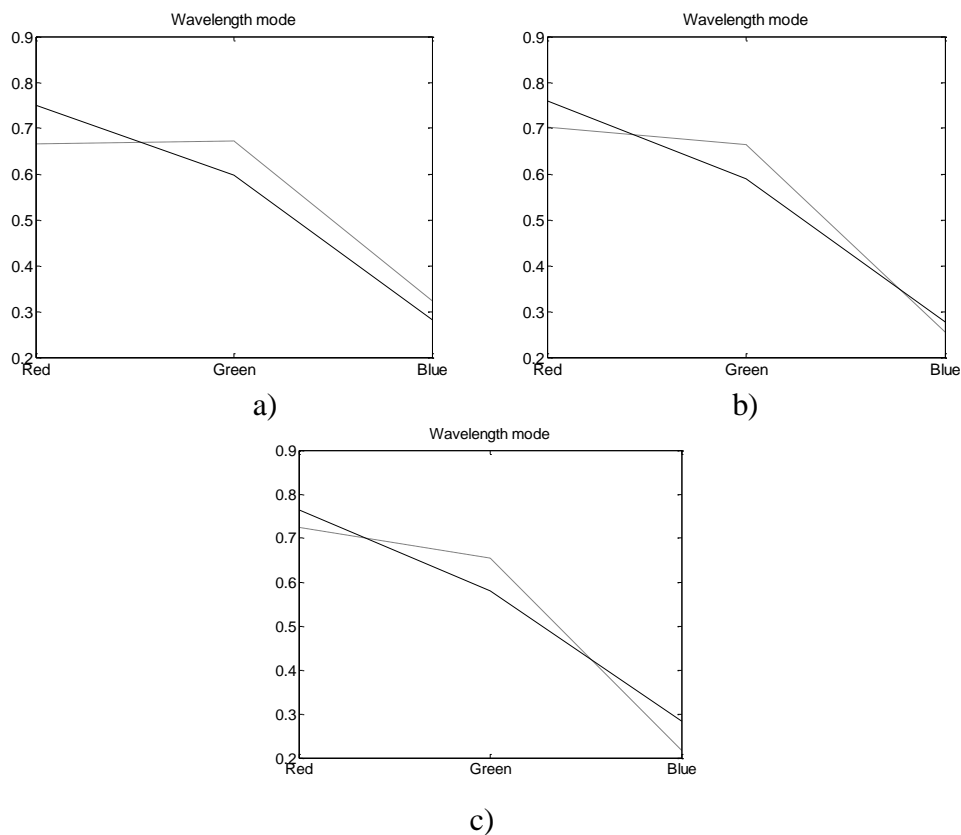


Figura 5. Loadings de PARAFAC para el polen secado a: a) 40°C, b) 50°C y c) 60°C

PROPIEDADES FÍSICAS, FISICOQUÍMICAS Y FUNCIONALES DE UN PRODUCTO EN POLVO A BASE DE CÁSCARA DE PIÑA Y LINAZA

Cueto Davdmary¹, Pérez Elevina², Pérez Liz¹, Carlos Ojeda³, Bastidas Mariana⁴

¹Laboratorio de Diseño y Desarrollo de Productos. Deshidratadora Venezolana de Alimentos, Caracas, Venezuela. davdmary.cueto@devenalsa.com; liz.perez@devenalsa.com.

²Laboratorio de Granos Raíces y Tubérculos Dra. Mercedes Mosqueda. ICTA. UCV. Caracas, Venezuela. perezee@gmail.com.

³Vicerrectorado de Planificación y Desarrollo Social, UNELLEZ. Programa Ciencias del Agro y del Mar. Barinas, Venezuela. cursoanellez@gmail.com.

⁴Escuela de Biología. Facultad de Ciencias. UCV. Caracas, Venezuela. marianabastidas3@gmail.com.

INTRODUCCIÓN.

Los residuos de la industrialización de la piña constituyen hasta el 65% del fruto, por lo cual, su aprovechamiento de diversas formas constituye una fuente alternativa que le da un valor agregado, lo que resulta ventajoso desde el punto de vista económico y ambiental (Moya, 2001). Algunos subproductos del procesamiento industrial de las frutas han sido clasificados como fuentes de fibra. Entre ellos destaca la cáscara de piña en la que se han encontrado valores de fibra dietética de hasta 70,6%, miricetina, responsable de la actividad antioxidante encontrada en este subproducto (Larrauri *et al.*, 1997) y un contenido importante de minerales destacando el potasio (2905 mg/100g). Además se le han atribuido propiedades diuréticas y desinflamantes.

Por otra parte, se ha confirmado que la fibra dietética tiene efectos importantes en la salud en virtud de sus propiedades. En los últimos años numerosos estudios revelan que enfermedades importantes de la salud pública, incluyendo obesidad, enfermedades cardiovasculares y diabetes tipo 2, pueden ser prevenidas y tratadas por el incremento en las cantidades y variedad de fibra que contienen los alimentos en la dieta (Descalzo, 1999; Scholz-Ahrens *et al.*, 2001; Griffin *et al.*, 2002; Tahiri *et al.*, 2003; Slavin, 2003).

En las últimas décadas ha surgido gran interés por la linaza como alimento funcional, debido al reconocimiento de que algunos de sus componentes ofrecen potenciales beneficios sobre la salud y prevención de algunas enfermedades crónicas no transmisibles. Entre estos compuestos con actividad biológica destacan, el ácido alfa linolénico, los lignanos y la fibra dietética. Para el mejor aprovechamiento de dichos componentes la semilla debe molerse, de manera de aumentar su bio-disponibilidad (Figuerola *et al.*, 2008).

Conocer las propiedades físicas, químicas y funcionales de los alimentos, determinan el uso que se les dará y hace posible aprovechar al máximo su uso potencial en la formulación de nuevos productos que cumplan con los requerimientos y necesidades de la población. En vista de esto, el objetivo de este trabajo fue desarrollar y caracterizar un producto a base de cáscara de piña y linaza que pueda ser incorporado al agua, jugo, yogurt o bebida preferida.

MATERIALES Y MÉTODOS.

Materiales

Cáscara de piña secada en un deshidratador de bandeja a una temperatura de $65\pm 5^{\circ}\text{C}$ durante 5h, posteriormente molida hasta obtener granulometría menor a 20 mesh. Linaza molida, adquirida en el mercado local.

Elaboración de la mezcla

Se preparó una mezcla a base de cáscara de piña deshidratada y linaza molida en proporción de 50:50 sin aditivos añadidos. Como muestra patrón de comparación se adquirió en el mercado local una mezcla comercial a base de pulpa de piña deshidratada y linaza.

Caracterización proximal

La mezcla de cáscara de piña-linaza y la patrón se caracterizaron en cuanto: contenido de humedad (N°44-16 de la AACC, 2003), cenizas totales (N° 08-03 de la AACC, 2003) y fibra dietética total según el método descrito en la AOAC N° 985-(2000).

Propiedades físicas

La densidad se determinó por el método, N°55-10 de la AACC, (2003) y Subramanian y Viswanathan, (2007). El color se determinó por medio del colorímetro triestímulo Color Flex S/N:CX 819 (HunterLab, Reston, D-25), utilizando el iluminante D65 y un ángulo de observador 10° , a partir de los valores obtenidos de la escala CIE $L^*a^*b^*$. En la mezcla cáscara de piña-linaza, se calculó la diferencia de color (ΔE), según la ecuación: $\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$. Donde: $\Delta L^* = L^*$ de la muestra - L^* del patrón; $\Delta a^* = a^*$ de la muestra - a^* del patrón y $\Delta b^* = b^*$ de la muestra - b^* del patrón. La actividad de agua se realizó según lo descrito por Tortoe *et al.*, (2009), en un equipo psicrométrico AquaLab Decagon CX-2 (Pullman, WA, USA). La granulometría se determinó por el método oficial N° 55-30 de la AACC, (2003), mediante el uso de un juego de tamices Tyler 20, 40, 60 y 80 mesh. La cantidad de muestra retenida en cada tamiz se expresó directamente en porcentaje.

Propiedades fisicoquímicas

La acidez titulable se evaluó siguiendo el método N° 02-31 de la AACC, (2003) y pH de acuerdo al método N° 02-52 de la AACC, (2003). La separación de fase se realizó según metodología N° 56-60 de la AACC, (2003).

Propiedades funcionales

El índice de absorción de agua (IAA) e índice de solubilidad (ISA), se determinó según la metodología descrita N° 56-40 de la AACC, (2003), Anderson (1996) y Reyes *et al.*, (2002). Se pesaron 2,5 g de mezcla en un tubo de centrifuga previamente tarado y se añadieron 30 ml de agua destilada. Esta mezcla se centrifugó por 10 min a 3.000 rpm (Sorvall, RT 6000B). El sobrenadante se transfirió a una cápsula de porcelana previamente tarada y se evaporó en baño de agua caliente hasta sequedad y luego en estufa a 100°C por 16 h. Se enfrió en un desecador y se pesó. El índice de solubilidad en agua (ISA), expresado en porcentaje, se calculó a partir de la fórmula:

$$\% \text{ ISA} = \frac{\text{Peso del residuo evaporado en cápsula}}{\text{Peso de muestra}} \times 100$$

El Índice de absorción de agua (IAA) se determinó a partir de la relación entre el peso del gel o residuo centrifugado contenido en el tubo y el peso de la muestra en base seca, expresado como g de gel por gramo de muestra según la fórmula:

$$\text{IAA (g gel/g sólidos)} = \frac{\text{Peso del gel o residuo en el tubo}}{\text{Peso de muestra} - \left[\frac{\text{Peso del residuo evaporado}}{\text{Peso de muestra}} \right]}$$

Análisis estadístico

Los datos obtenidos se procesaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) de una vía. Para determinar las medias significativamente diferentes, se usó un procedimiento de comparación de prueba múltiple de rango de Fisher al 5%. Estos análisis fueron realizados con el paquete estadístico SPSS 15.0. Todas las muestras se analizaron por triplicado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Los resultados de los análisis realizados en las mezclas se muestran en la Tabla 1, encontrándose diferencias estadísticamente significativas ($P \leq 0,05$) entre ambas muestras para todas las determinaciones evaluadas.

Caracterización proximal

Los resultados de humedad para ambos productos son bajos lo cual es cónsono para este tipo de alimentos y permite inferir estabilidad en anaquel. Se encontró en la mezcla a base de cáscara de piña-linaza un mayor valor de ceniza comparada con el patrón, estas diferencias están marcadas por el empleo de la cáscara la cual aporta un mayor contenido de minerales en comparación con la pulpa de piña. En la literatura se reporta un contenido de cenizas en la cáscara de piña de 3,90% (Umaña *et al.*, 2013). Los contenidos de cenizas en ambos productos son relativamente altos, esto significa un buen contenido de minerales que pueden ser considerados como un aporte importante en la nutrición humana, especialmente por su aporte en potasio. El contenido de fibra dietaria en la mezcla cáscara-linaza la ubica como una buena fuente de fibra (29,87%) por lo que es interesante incluir su consumo en la dieta, ya que la fibra dietética destaca por permite regular la movilidad gastrointestinal y el tiempo de tránsito, moderar la absorción de nutrientes, promover la laxación, estimular la actividad bacteriana, ayudar a detoxificar el contenido colónico, y producir ácidos grasos de cadena corta que mantienen la integridad de la mucosa intestinal e influyen el metabolismo de los carbohidratos y lípidos (Pak, 2000). En piña se han reportado valores de fibra total de 13,65% (Ramírez y Pacheco de Delahaya, 2009).

Propiedades físicas

Las diferencias encontradas entre los productos en la densidad aparente y la densidad real, puede atribuir a las diferencias encontradas en el tamaño de partícula, que aunque el mayor porcentaje para ambas mezclas se encontró en 40 mesh, existe en la mezcla a base de cáscara un mayor porcentaje de partículas finas, tal como se evidencia en la Figura 1. A partir de los resultados hallados se puede decir que el producto a base de cáscara requerirá mayor espacio de almacenamiento y empaque por unidad de peso. En cuanto al color, se encontró mayor tendencia al negro L*, a la tonalidad roja a* y amarilla b*, en la muestra con cáscara, lo cual es esperado por el color aportado por la misma en comparación con la pulpa de piña. Los valores de a_w de ambas mezclas son bajos, lo que permite que estas mezclas en condiciones de almacenamiento óptimas, sean estables al deterioro microbiano, ya que estos valores son inferiores a la a_w mínima requerida (0,5-0,6) para el crecimiento microbiano de hongos, bacterias y la aparición de reacciones químicas, enzimáticas que conllevan al deterioro del producto (Badui, 1999; Nielsen, 2003).

Propiedades fisicoquímicas

La mezcla preparada con cáscara de piña tuvo un pH y acidez titulable menor que el patrón. El pH bajo encontrado, es importante, ya que coadyuva al control del desarrollo de microorganismos y de la actividad de sistemas enzimáticos. Los productos no presentaron separación de fases, esto puede atribuirse al alto contenido de fibra presentes en ambos productos, lo que favoreció la absorción y capacidad de retención del agua.

Propiedades funcionales

El producto a base de cáscara de piña presentó un mayor valor de IAA e ISA que el elaborado a base de piña, esto puede asociarse para el IAA al mayor contenido de fibra importante en la ganancia de volumen por medio de la alta absorción de agua y para el ISA a la presencia azúcares simples y algunos pigmentos hidrosolubles presentes aportados por la cáscara. Umaña *et al.*, (2013), reportaron valores en cáscara de piña para el IAA de 6 g agua/g muestra.

CONCLUSIONES.

A pesar de las diferencias estadísticas encontradas entre ambos productos, se demostró la factibilidad de elaborar un producto a base de cáscara de piña-linaza, sin aditivos químicos, estable en el tiempo de acuerdo a los resultados obtenidos de humedad, pH, acidez y a_w , con un aporte interesante de fibra dietaria, por lo que puede ser incorporado a la dieta, con el fin de promover la salud y contribuir al bienestar de aquel que la consume, especialmente en personas con estreñimiento, que quieran bajar los niveles de colesterol y azúcar.

Los resultados preliminares obtenidos en este estudio, constituyen una base importante para direccionar proyectos en la búsqueda del aprovechamiento de subproductos poco utilizados como la cáscara de piña en la formulación y desarrollo de productos funcionales.

BIBLIOGRAFÍA.

AACC. (2003). American Association of Cereal Chemist. Cereal Laboratory Approved Methods. Edition 10 Th. St. Paul, Mn. USA.

Anderson, R. (1996). Water absorption and solubility and amylographic characteristic of roll-cooked small grain product. *Cereal Chemistry*, 59 (4):265-269.

- AOAC. (2000). Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis. 17th. Ed. Pub. By A.O.A.C., Alirton Virginia.
- Badui, S. (1999). Química de los Alimentos. Editorial Pearson, cuarta edición, 201 p.
- Descalzo, M. (1999). Fibras vegetales. Aspectos nutricionales y ventajas tecnológicas. *La Alimentación Latinoamericana*. 229: 46-47.
- Figuerola, F., Muñoz, O., y Estévez, A. (2008). La linaza como fuente de compuestos bioactivos para la elaboración de alimentos. *Agro sur*, 36(2): 49-58.
- Griffin, J., Davila, P., Abrams, S. (2002). Non-digestible oligosaccharides and calcium absorption in girls with adequate calcium intakes. *British Journal of Nutrition*. 87(S2): S187-S191.
- Larrauri J, Rupérez P, Saura C. (1997). Pineapple shell as a source of dietary fiber with associated polyphenols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 45: 4028-4031.
- Moya. (2001). Producción y aprovechamiento de desechos agroindustriales en América Latina. Development of environmentally compatible polymers from biowaste, Heredia, 76, 79, 82, 83 p.
- Nielsen, S. (2003). Food Analysis. Tercera edición, Kuwer academic-Plenum publishers, Nueva York, pp 257.
- Pak, N. (2003). Fibra dietética en frutas cultivadas en Chile. Archivos latinoamericanos de nutrición. VI serie: N°11. Disponible en: http://www.nutricionemexico.org.mx/alan/2003_4_12.pdf. Consultado el 2 de noviembre 2013.
- Ramirez, A., Pacheco de Delahaya, E. (2009). Propiedades funcionales de harinas altas en fibra dietética obtenidas de piña, guayaba y guanabana. *Interciencia*, 34(4): 293-298.
- Reyes, C., Milán, J., Rouzaud, O., Garzón, J., Mora, R. (2002). Descascarillado/ suavización/ extrusión (DSE): alternativa tecnológica para mejorar la calidad nutricional del garbanzo (*Cicer arietinum*). *Agrociencias*, 36 (2):181-189.
- Slavin, J. (2003). Impact of the proposed definition of dietary fiber on nutrient databases. *Journal Food Composition Analysis*, 16: 287-291.
- Scholz-Ahrens, K., Schaafsma, G., Van den Heuvel, E., Schrezenmeir, J. (2001). Effects of prebiotics on mineral metabolism. *American Journal of Clinical Nutrition*. 73: 459S-464S.
- Subramanian, S., and Viswanathan, R. (2007). Bulk density and friction coefficients of selected minor millet grains and flours. *Journal of Food Engineering*, 8:118-126.
- Tahiri, M., Tressol, J., Arnaud, J., Bornet, F., Bouteloup, C., Feillet, C., Brandolum, M., Ducros, V., Pepin, D., Brouns, F., Roussel, A., Rayssignier, Y., Coudray, C. (2003). Effect of short-chain fructooligosaccharides on intestinal calcium absorption and calcium status in postmenopausal women: A stable-isotope study. *American Journal of Clinical Nutrition*. 77: 449-457.
- Tortoe, C., Johnson, P. y Nyarko, A. (2009). Effects of osmo-dehydration, blanching and semi-ripening on the viscoelastic, water activity and colorimetry properties of flour from three cultivars of plantain (*Musa AAB*). *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10: 82–86.

Umaña, J., Álvarez, C., Lopera, S., y Gallardo, C. (2013). Caracterización de harinas alternativas de origen vegetal con potencial aplicación en la formulación de alimentos libres de gluten. Alimentos hoy. Disponible en: http://sinia.info/acta_sites/alimentoshoy/index.php/hoy/article/view/230/223.

Tabla 1. Caracterización proximal, propiedades físicas, físico-químicas y funcionales de la mezcla cáscara de piña linaza (CPL) y la mezcla piña linaza (PL)

DETERMINACIÓN	CPL	PL
Humedad (%)	9,52±0,14b	6,26±0,72a
Materia seca (%)	90,48±0,14b	93,74±0,72a
Cenizas (%)	3,86±0,00b	3,41±0,00a
Proteína (%)	14,33±0,01	-----
Fibra dietaria (%)	29,87±0,00	-----
Densidad (g/ml)		
Aparente	1,87±0,01a	1,94±0,01b
Real	1,73±0,01a	1,84±0,01b
Color		
L*	46,92±0,01b	46,80±0,01a
a*	9,63±0,01b	8,33±0,05a
b*	27,83±0,01b	24,28±0,08a
ΔE	3,78±0,07	-----
a _w	0,35±0,01b	0,30±0,00a
pH	4,39±0,01a	4,66±0,21b
Acidez titulable* (%)	0,65±0,01a	1,56±0,01b
Separación de fase (ml)	No presentó	No presentó
ISA (%)	6,59±0,94b	4,36±0,06a
IAA (g gel/g muestra)	6,74±0,50b	5,51±0,22a

*expresados como porcentaje de ácido cítrico en las muestras.

Valores promedio ± desviación estándar, n=3. Valores en la misma fila con letra diferente son significativamente diferentes (P≤0,05).

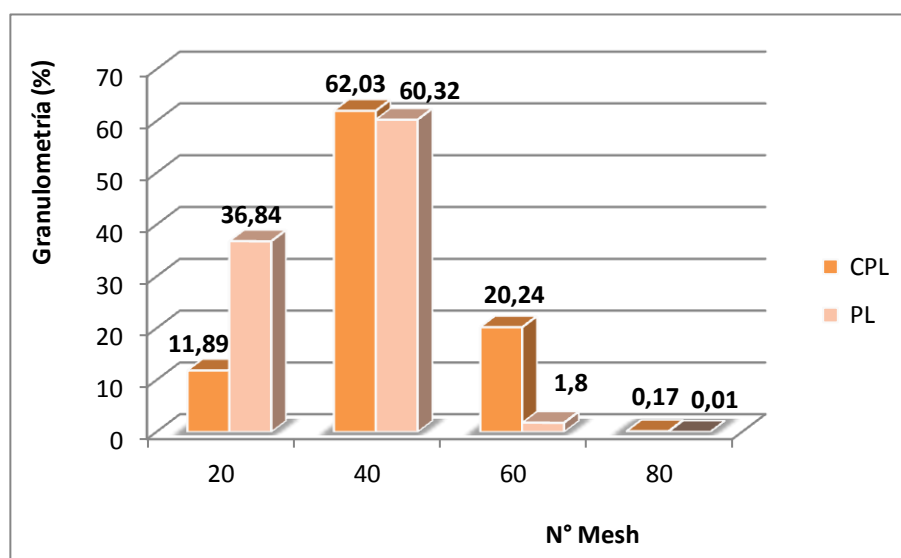


Figura 1. Distribución tamaño de partícula las mezclas de cáscara de piña linaza (CPL) y piña linaza (PL)

VALIDACIÓN DE UN MÉTODO RÁPIDO PARA LA DETERMINACIÓN DE HUMEDAD DEL GRANO DE CACAO

Chire G(a); Cáceres J(b); Orosco P(b); Valdivia R(a); Ureña M(a); Saavedra Z(c)

- a. Departamento de Ingeniería de Alimentos, Facultad de Industrias Alimentarias, Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima, Perú.
- b. Estudiante, Facultad de Industrias Alimentarias, Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima, Perú.
- c. Jefe de Control de Calidad de la Asociación de Productores de Cacao (APPCACAO), Perú.

Correspondiente autor: gchire@lamolina.edu.pe

INTRODUCCIÓN

Los granos de cacao fermentados y secos, son transportados en sacos de yute desde el campo, donde se realizan las prácticas pos-cosecha, a las empresas procesadoras de cacao, teniendo que pasar por climas poco favorables (altas temperaturas y humedades), llegando a su destino la mayoría de veces a humedades diferentes a las requeridas. La empresa evalúa la humedad del cacao mediante el método tradicional que se realiza en estufa, que en promedio dura 16 horas (Ministerio de Fomento 1995 y Russel 1982); procedimiento necesario pero tedioso para juzgar la calidad del producto. Mediante esta investigación se validó un método más rápido para la determinación de humedad en el rango de 6,98 a 16,38%, donde se aplicó ondas electromagnéticas de fuente halógena (OHAUS, 2006), para reducir el tiempo de determinación de humedad de cada lote de cacao que llega a la empresa.

MATERIALES Y METODOS

Materiales: Granos de cacao procedentes de Moyobamba-San Martín, Placas de metal, desecador de vidrio con agente deshidratante, espátulas, sacos de yute, bolsas de polipropileno, pabito y aguja.

Equipos: Estufa, cámara acondicionada, molino de cuchilla (Moulinex[®]), determinador de humedad de fuente halógena MB 45 OHAUS[®], balanza analítica y selladora.

Metodología: Se desarrollaron las siguientes etapas:

1. **Caracterización fisicoquímica de la materia prima (cacao en grano).**- Análisis proximal (AOAC, 2005).
2. **Acondicionamiento del cacao para obtener muestras a 06 diferentes humedades.**- Se utilizó una cámara acondicionada (36°C, humedad mayor a 90%), donde los sacos

de yute con cacao (Beckett, 2008) estuvieron expuestos por cinco días (Figuras 01, 02 y 03).

3. **Determinación de humedad por ambos métodos.-** Cada día se extrajeron de los sacos muestras de 21g de cacao para ser analizadas por ambos métodos. (I) Estufa, a 100°C por 21 horas, con un peso de muestra de 2 g (AOAC 931.04, 2005) y (II) Fuente Halógena (Figura 04), 103°C bajo un programa de temperatura estándar, con un peso de muestra de 5 g.
4. **Comparación entre métodos de determinación de humedad.-** Utilizando el programa estadístico Statgraphics®, se buscó determinar si habían diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los valores de humedad obtenidos por ambos métodos aplicando el diseño experimental formulado para el experimento. Si hubieran existido, con el mismo programa estadístico se hubiera determinado por regresión la ecuación que mejor relacione los valores de humedad obtenidos por ambos métodos, para así lograr la validación del método de fuente halógena.

Diseño experimental: Se aplicó un arreglo factorial 2 x 6 x 3 para un Diseño Completo al Azar (DCA), con la finalidad de encontrar si había diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los valores de humedad obtenidos al aplicar los dos métodos ensayados, los 06 tratamientos para tener distintos niveles de humedad (la muestra de cacao procedente de Moyobamba - blanco- mas las 05 muestras extraídas cada día), y tres ensayos (réplicas) por nivel de humedad.

RESULTADOS Y DISCUSION

Del análisis proximal aplicado al cacao en grano procedente de Moyobamba (Figura 02) se obtuvo el siguiente resultado: Humedad ($7,28 \pm 0,08$ %), proteínas ($13,68 \pm 0,41$ %), grasa ($55,62 \pm 0,39$ %), carbohidratos ($17,94 \pm 0,01$ %), cenizas ($3,25 \pm 0,02$ %) y fibra ($2,23 \pm 0,03$ %)

En la industria estos métodos son muy útiles sin embargo es necesario realizar con anticipación chequeos periódicos por tipo de producto para la precisión de los resultados, que debe ser calibrado para cada tipo de producto (Minifie, 1999) en este caso esta validación es para grano de cacao.

Aplicando el diseño experimental formulado, se obtuvieron los siguientes resultados que se presentan en el Tabla 01. En la Figura 05, se puede observar la curva de adsorción de humedad del cacao en sacos de yute durante el periodo que duró el experimento (considerar

como Humedad fijada la de la atmósfera acondicionada en cada día – eje X). Asimismo, se puede evidenciar que no existen diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los valores de las humedades del cacao (eje Y) obtenidas para los días 4 y 5, y entre los valores de los días 2 y 3.

Estadísticamente, no hay diferencias significativas ($p < 0,05$) entre usar el método de la estufa con el de la fuente halógena para determinar humedad del cacao, ya que no se encontraron efectos significativos que hagan variar los resultados al aplicar ambos métodos (Figura 06). En la Figura 07, se puede observar la curva que relaciona los valores de humedad del cacao obtenidas por ambos métodos de determinación. Se puede observar que se tiene una recta con un ángulo aproximadamente de 45° , lo que describe en la linealidad de la función una correspondencia que evidencia la proximidad entre los valores de los resultados obtenidos por ambos métodos para el experimento realizado.

Si bien en la industria el análisis de humedad aplicando el método de la estufa es lo más aplicado (Minifie, 1999), no resulta rápido y práctico en comparación al propuesto en esta investigación.

CONCLUSIONES

Se puede recomendar el uso del método para determinar humedad del grano de cacao aplicando ondas electromagnéticas emitidas por fuente halógena en el rango de 6,98 a 16,38% de humedad.

BIBLIOGRAFIA

- AOAC, 2005. Official Methods of Analysis of Association of AOAC International. 18th Edition, Volumen II. Editors: William Horwitz and George W. Latimer, Jr. Maryland, USA.
- Beckett, S.T., 2008. La Ciencia del Chocolate. Editorial Acribia S.A. Zaragoza, España.
- Minifie Bernard, 1999. Chocolate, Cocoa and Confectionery: Science and Technology. Third Edition. Aspen Publishers Inc.
- Ministério de Fomento, 1995. Comisión Venezolana de Normas Industriales. COVENIN 374. Granos de Cacao. Determinación de Humedad. 1ra Revisión. Caracas.
- OHAUS, 2006. Manual de Instrucciones - Analizador de Humedad MB45. Ohaus Corporation.
- Russell Cook L, 1982. Chocolate Production and Use. Hartcourt Brace Jovanovich Inc. New York.

Figura 01: Disposición de sacos con cacao en la cámara acondicionada.

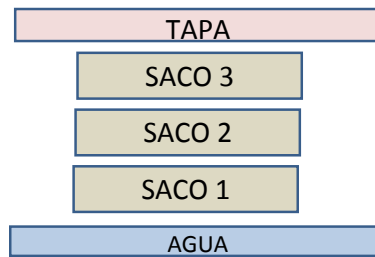


Figura 02: Granos de cacao.



Figura 03: Granos de cacao en sacos de yute.



Figura 04: Determinador de humedad con fuente halógena.



Figura 05: Humedad del cacao durante los cinco días de experimento.

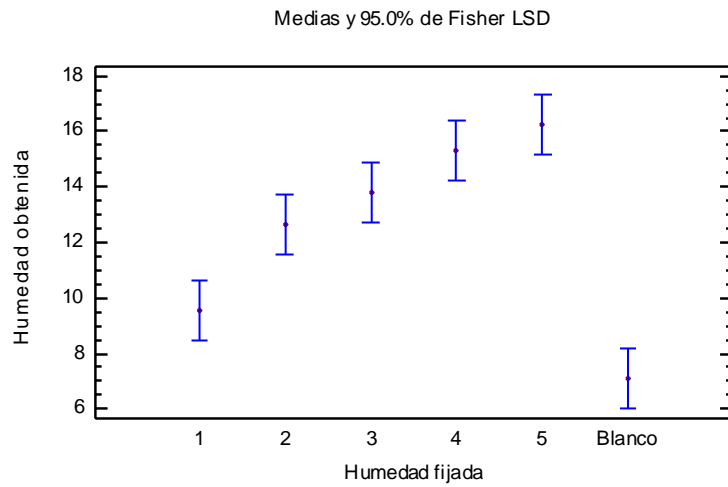


Figura 06: Comparación de medias para el ANVA aplicado al factor MÉTODOS.

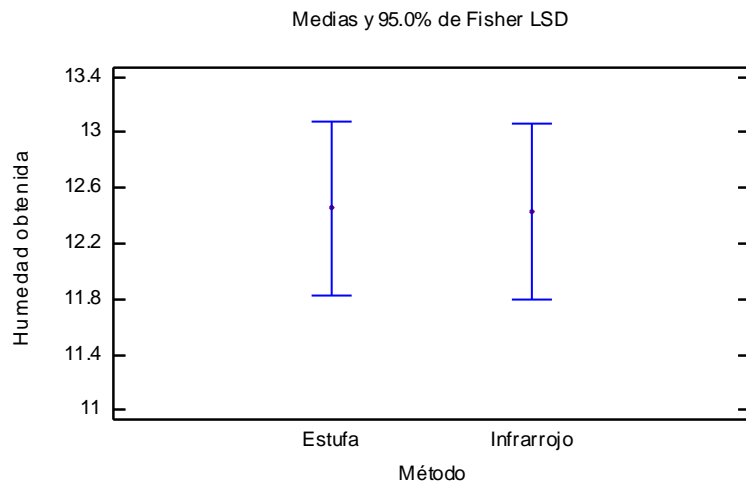


Figura 07: Curva que relaciona los valores de humedad (bh) determinados por ambos métodos.

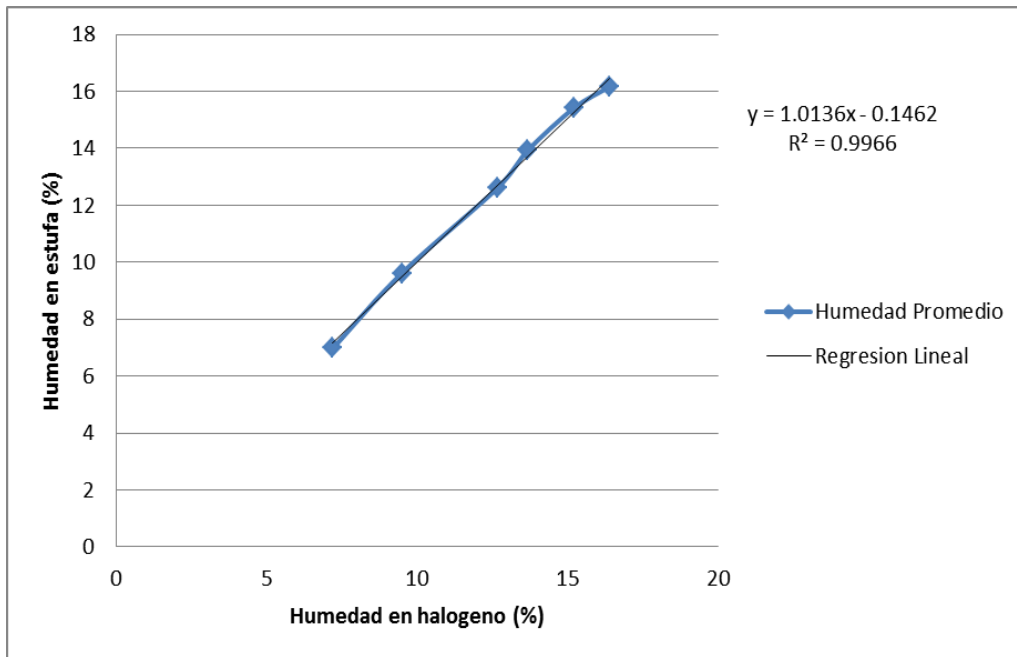


Tabla 01: Valores de humedad (bh) determinados por ambos métodos.

METODO	Tiempo Camara (Días)	Humedad (% bh) Repeticion	Promedio	Desviacion Estandar
I	0 (Blanco)	6,98	6,98	0,0543
		6,93		
		7,04		
I	1	9,61	9,62	0,8975
		8,72		
		10,52		
I	2	13,05	12,61	0,8120
		11,68		
		13,12		
I	3	13,78	13,94	2,0803
		11,94		
		16,09		
I	4	12,92	15,41	2,9352
		14,65		
		18,65		
I	5	14,56	16,17	2,4310
		14,97		
		18,96		
II	0 (Blanco)	7,30	7,20	0,1790
		7,30		
		6,99		
II	1	9,40	9,49	0,7040
		8,83		
		10,23		
II	2	13,26	12,66	0,7781
		11,78		
		12,94		
II	3	13,98	13,67	2,1463
		11,39		
		15,65		
II	4	12,85	15,19	2,7552
		14,49		
		18,23		
II	5	14,54	16,38	2,5253
		15,34		
		19,26		

ESTUDIO COMPARATIVO DE MÉTODOS PARA INACTIVACIÓN DE *Saccharomyces cerevisiae*

José Hugo Castorena García, María del Consuelo Aztatzi Mendoza, Judith Méndez López, Maribel Cano Hernández, Verónica Reyes García, Raúl René Robles de la Torres

Castorena García José Hugo, (Doctor).

Profesor en Ingeniería en Industrias Alimentarias del Instituto Tecnológico del Altiplano de Tlaxcala. Km 7.5, Carretera Federal San Martín Texmelucan-Tlaxcala, San Diego Xocoyucan. 90122. Tel +52 (248) 2842819. casmin@prodigy.net.mx; jh.castorena@gmail.com

María del Consuelo Aztatzi Mendoza y Judith Méndez López (Ingenieras).

Ex Alumnas del Ingeniería en Industrias Alimentarias del Instituto Tecnológico del Altiplano de Tlaxcala. Km 7.5, Carretera Federal San Martín Texmelucan-Tlaxcala, San Diego Xocoyucan.

Maribel Cano Hernández, (Doctora) y Verónica Reyes García, (Maestra en Ciencias).

Profesoras en Ingeniería en Industrias Alimentarias del Instituto Tecnológico del Altiplano de Tlaxcala. Km 7.5, Carretera Federal San Martín Texmelucan-Tlaxcala, San Diego Xocoyucan. 90122. Tel +52 (248)2842819. maribel_cano@hotmail.com; rgvero_@hotmail.com;

Raúl René Robles de la Torre, (Doctor).

Profesor en el Centro de Biotecnología Aplicada del Instituto Politécnico Nacional. Ex Hacienda San Juan Molino, Carretera Estatal Tecuexcomac-Tepetitla, Km. 1.5, Tlaxcala. 90700, México. Tel. +52 (248)4-848707. rrenerdlt@yahoo.com

RESUMEN

El tratamiento térmico es el método más efectivo y ampliamente usado en la conservación de alimentos, el principal inconveniente es que un calentamiento severo produce mayor deterioro en su calidad. Las tecnologías no térmicas, como son la aplicación de antimicrobianos naturales y/o aplicación de campo eléctrico han demostrado eficiencia en la inactivación de microorganismos. El objetivo de esta investigación fue comparar la inactivación de *Saccharomyces cerevisiae* por medio de un tratamiento enzimático (TE) y aplicación de campos eléctricos (TCE), respecto al tratamiento térmico. El TT se realizó a 65 °C con choque térmico, en el TE se utilizaron 2 mL de enzima en solución (mezcla 0.02 g/10 mL de buffer fosfato pH 7), y en el TCE se aplicó una intensidad de voltaje 8,5 kV/cm y frecuencia 550 Hz. La experimentación se realizó de acuerdo a un diseño bifactorial. Los factores de estudio fueron los métodos de inactivación y el tiempo de tratamiento (6, 9, 12 y 15) minutos. Se consideró al pH del medio de cultivo, como factor de bloque, puesto que el

pH es fuente ambiental que puede perturbar la evaluación de sobrevivencia. La variable respuesta fue el porcentaje de inactivación (% I), obtenido por el conteo de UFC sobrevivientes, después de la aplicación de cada tratamiento. La máxima inactivación de la *S. cerevisiae*, fue registrada con el tratamiento térmico, obteniendo sobrevivencia cero a 15 minutos a pH de 5, 6 y 7. En los tratamientos no térmicos la inactivación más alta fue del 87 %, obtenida con la aplicación del campo eléctrico, durante 15 minutos y pH 5. El efecto del TE y TCE sobre levadura produjeron inactivación promedio de 66 %. Ambos métodos mostraron una diferencia significativa ($P < 0,0001$), con la ventaja de que el TCE puede ser de bajo costo si se cuenta con el equipo.

INTRODUCCIÓN

Por mucho tiempo, el tratamiento térmico es el método más efectivo y ampliamente usado por la industria alimentaria en la conservación de alimentos, su inconveniente es que un calentamiento severo daña otros componentes de los alimentos como carbohidratos, vitaminas y ácidos grasos, esto provoca una pérdida generalizada en atributos como color, sabor y textura (Balsa *et. al.*, 2007). Los procesos térmicos aplicados a la conservación de alimentos logran su propósito a través de la desnaturalización de proteínas, enzimas, ADNs, ribosomas y membranas. Cuando se utiliza calor seco, se produce deshidratación y oxidación, necesitando la aplicación de temperaturas altas y tiempos más prolongados (Fennema, 1985). Debido principalmente a esas limitaciones, las tendencias del consumidor son demandar alimentos que sean nutritivos, seguros sanitariamente y con características sensoriales semejantes a los alimentos frescos o en estado natural, como respuesta a esta demanda los investigadores han desarrollado nuevos métodos de conservación de alimentos aplicando algún tipo de sinergia, como son los métodos combinados, o bien empleando procesos mínimos en los que se logre conservar alimentos con menor deterioro en su calidad (Giner *et. al.*, 2002). Con el surgimiento del concepto tecnologías emergentes no térmicas que se caracterizan por no usar calor o bien hacer un uso más eficiente de la energía, se encuentra la aplicación de antimicrobianos naturales y la aplicación de campo eléctrico (CE). Al respecto, la aplicación de antimicrobianos naturales en alimentos, han sido aplicados como parte de su formulación, desde hace mucho tiempo; por ejemplo, la lisozima ha sido probada con éxito para inhibir *E. coli* en quesos (Gallo *et. al.*, 2006). El mecanismo de acción de la lisozima es una catálisis ácido-base, rompe las paredes celulares de las bacterias, por medio de la hidrolización de enlaces glucosídicos β (1-4) del ácido N-acetilmuránico (NAM) a N-

acetilglucosamina (NAG) en un polisacárido alternante de NAM-NAG. En este mecanismo intervienen dos aminoácidos (Glu 35 y Asp 52), que se encuentran a ambos lados del enlace glucosídico β (1-4). El Asp 52 se encuentra rodeado de grupos polares, por consiguiente se encuentra ionizado y estabiliza iones de carbono, actúa como nucleófilo para generar el intermediario enzimático-glucosídico (complejo enzima-sustrato), mientras que el Glu 35 está en una región apolar (lo que le permite estar protonado—no ionizado— a pH fisiológicos), actúa como donador de protones para el enlaces glucosídico cortando C-O en el sustrato (Whitaker, 2003). El mecanismo de acción de los Campos Eléctricos utilizados para inactivar células se basa en la teoría del rompimiento dieléctrico (Zimmermann *et. al.*, 1974). Esto se logra, debido a que cada célula tiene un voltaje natural trans-membrana con valor de un voltio (**Figura 1**) y si es expuesta a un Campo Eléctrico externo, se inducen un voltaje adicional y acumulación de iones a uno y otro lado, lo que propicia la formación de poros, y si el campo eléctrico aplicado continua, los poros se agrandan y sobreviene la ruptura y muerte de la célula.

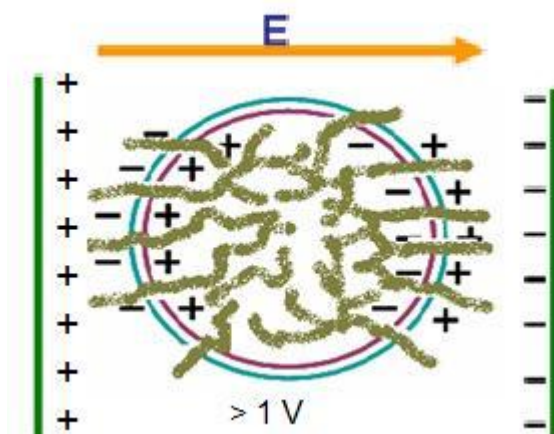


Figura 1. Esquema que representa la teoría de rompimiento dieléctrico.

El propósito de esta investigación fue comparar la inactivación de la *Saccharomyces cerevisiae* con tres métodos diferentes en sus mecanismos de acción, con el propósito de conocer su nivel de efectividad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación de levadura en solución.- Se utilizó *Saccharomyces cerevisiae* comercial en polvo (SAFMEX®) adquirida en centro comercial local. La activación se realizó mezclando 2 g de levadura con 18,6 g de glucosa grado alimenticio (CPINGREDIENTES®) en 400 mL de agua destilada a 32 °C, pH 5.6 y con agitación constante a 150 rpm (agitador ENVIRON

SHAKER®, Mod 3527) por 48 horas. Una vez obtenida la muestra se realizaron los tratamientos de inactivación.

Métodos de inactivación.- Se probaron dos tratamientos no térmicos, el enzimático y el de campos eléctricos, y estos se compararon con el tratamiento térmico. En el tratamiento enzimático se utilizó lisozima y en la aplicación de campos eléctricos se utilizó un sistema IPNCEP. En los tres tratamientos se utilizó la misma concentración y proporción de *Saccharomyces cerevisiae*, cada uno de los tratamientos se ensayaron a 6, 9, 12 y 15 minutos y con pH de 5, 6 y 7.

Método 1: Tratamiento Térmico (TT).- La inactivación térmica de *Saccharomices serevicea* fue evaluada colocando 8 mL de levadura en solución, con 2 mL de agua destilada, los tubos de ensayo se mantuvieron a 65 °C en baño maría durante 6, 9, 12 y 15 minutos, posteriormente se aplicó un choque térmico a con agua fría a 8°C.

Método 2: Tratamiento enzimático (TE).- La inactivación enzimática de *Saccharomices serevicea* consistió en comparar el efecto que produjo 2 mL de enzima en solución sobre la muestra de 8 mL de levadura. La lisozima (SIGMA-ALDRICH®) con 55,000 unidades/mg fue preparada en solución, mezclando 0.02 g en 10 mL de buffer fosfato pH 7 en un tubo de ensayo, se agitó vigorosamente en vortex, hasta disolverla, una vez preparada se conservó a 0 °C hasta ser utilizada. Los ensayos se efectuaron utilizando 2 mL de enzima en solución con 8 mL de levadura.

Método 3: Tratamiento con Campos Eléctrico (TCE).- La inactivación de *Saccharomices cerevicea* a través de CE. La mezcla de 8 mL de levadura en solución, con 2 mL de agua destilada, fue expuesta a un Campo Eléctrico, en condiciones constantes de intensidad de voltaje 8,5 kV/cm y frecuencia 550 Hz, y a 6, 9, 12 y 15 minutos.

Sistema de Campo Eléctrico utilizado. Se utilizó un sistema IPNCEP (**Figura 2**), los componentes y su ensamble son: fuente de voltaje (a) es una fuente comercial (Dielectric Test Set, Megger ®) que se utiliza comúnmente para realizar pruebas de rigidez dieléctrica de diversos materiales. Una cámara estática de tratamiento (b), un modulador de frecuencia desde 5 hasta 250,000 Hz (c), un osciloscopio Tektronix TDS 1001B (d), fue acoplado para ver la forma de la onda y un tablero de control manual (e) donde se acopló el triac que funciona como interruptor o switch de estado sólido, el cual permite variar la polaridad de la onda el sistema.

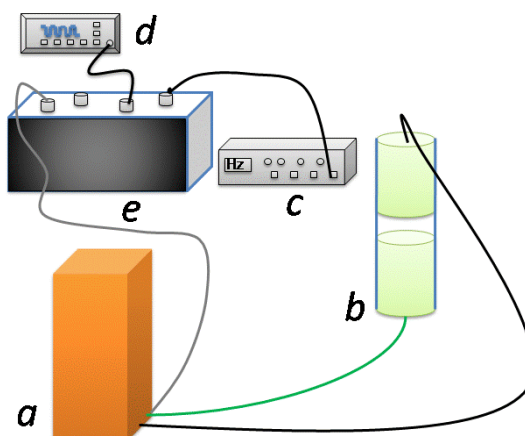


Figura 2. Esquema del sistema IPNCEP

El porcentaje de inactivación de *Saccharomyces cerevisiae*, se evaluó a través de las UFC sobrevivientes, después de cada tratamiento. Un mL de muestra fue recuperado y diluido hasta 10^{-6} y sembrado en caja Petri con medio Papa Dextrosa Agar (PDA) a pH 5, 6, y 7. La temperatura de incubación se mantuvo a 32 °C durante 48 horas en cámara (GRAVITY CONVECTION INCUBATOR ®), cada ensayo fue realizado por triplicado.

Diseño experimental.- El experimento se realizó en condiciones de un diseño bi factorial, los factores de estudio fueron métodos de inactivación (TT, TE y TCE) y tiempo de tratamiento (6, 9, 12 y 15) minutos. En este estudio, el pH fue propuesto como factor de bloque, debido las condiciones de evaluación de sobrevivencia. El porcentaje de sobrevivencia (% S), se refiere al conteo de unidades formadoras de colonia (UFC) directamente registradas en cajas Petri a diferentes pH 5, 6 y 7, y se calcula conforme a la ecuación (1), mientras que el porcentaje de inactivación se obtiene en ecuación (2):

$$\% S = \left(\frac{N}{N_0} \right) \times 100 \quad (1) \quad \% I = 100 - \% S \quad (2)$$

Donde N_0 es la cantidad de colonias vivas antes del tratamiento, N es la cantidad de colonias que sobrevivieron después del tratamiento y % I es el porcentaje de inactivación.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de los porcentajes de inactivación de *S. cerevisiae* después de la aplicación de los tres métodos, se muestran en la **Tabla 1**. La máxima inactivación registrada fue con **TT**; con este método a tiempos cortos de exposición (6 min) y pH de 5, se obtienen niveles de inactivación del 85 % y a tiempos de 9, 12 y 15 min, se alcanza inactivación de hasta el 100 % a pH 5, 6 y 7. Mientras que para los **TE** la inactivación registrada fue desde 23,5 a 86,5%, y para el **TCE** desde 22 a 87%. Ambos métodos no térmicos registraron niveles de inactivación similar.

Tabla 1. Porcentajes de inactivación (% I) de *S. cerevisiae* después de la aplicación del tratamiento térmico, enzimático y de campo eléctrico

Tiempo (min)	pH	Tratamiento (% I)		
		TT	TE	TCE
6	5	85,5 ± 1,5	23,5 ± 4,6	52,5 ± 1,5
9	5	98,0 ± 0,0	67,0 ± 1,0	65,9 ± 2,0
12	5	99,0 ± 1,0	78,0 ± 3,0	68,5 ± 2,5
15	5	100 ± 0	86,5 ± 1,5	87,0 ± 1,5
6	6	94,5 ± 1,5	45,5 ± 2,5	22,0 ± 1,0
9	6	98,5 ± 0,5	56,5 ± 2,5	60,5 ± 1,8
12	6	99,0 ± 1,0	62,5 ± 2,5	67,5 ± 1,5
15	6	100 ± 0,0	83 ± 2,5	80,0 ± 1,5
6	7	97,5 ± 0,5	58,5 ± 1,5	62 ± 1,5
9	7	99,0 ± 1,0	73,5 ± 2,5	66 ± 1,3
12	7	99,0 ± 1,0	77,5 ± 2,5	78 ± 0,4
15	7	100 ± 0,0	84,0 ± 2,0	82 ± 1,0

TT.- Tratamiento Térmico; TE.- Tratamiento Enzimático; TCE.-Tratamiento Campo Eléctrico;

% I.- Inactivación después tratamiento

La **Tabla 2**, muestra el análisis de varianza realizado con los datos experimentales registrados, se resalta que los factores de estudio presentan efecto altamente significativo ($P < 0,0001$) y su interacción efecto significativo ($P < 0,05$) en el modelo considerado. En conjunto suma 87 % de la variabilidad del experimento (suma de cuadrados).

Se observa que el tratamiento térmico, es más eficiente debido a que se obtienen niveles de inactivación del orden de 97 %, por ello es el método más utilizado en la conservación de alimentos. La inactivación de levadura registrada con tratamiento lisozima y con campo eléctrico en promedio fueron 66%, aunque el TE es considerado un método bactericida eficiente pero de mayor costo. El método de campos eléctrico produjo un efecto importante también registró inactivación de levadura de 66 % en promedio, igual al método enzimático, la ventaja de que este puede ser relativamente más barato si se cuenta con el equipo apropiado.

Tabla 2. Análisis de varianza de los tratamientos

Fuente de Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Valor F	P > F
Modelo	13	13489	1038	15.11	<,0001
Método	2	7857	3928	57,22	<,0001
Tiempo	3	4028	1343	19,56	<,0001
Método x tiempo	6	1114	186	2,71	0,0402
pH	2	489	244	3,56	
Error	22	1510	68,6		
Total corregido	35	15000			
Coeficiente de determinación (R^2)		0,90			
Coeficiente de variación		10,8			
Cuadrado medio del error ^(1/2)		8,28			
Promedio de % I		76,6			

Aunque el pH no fue variable de tratamiento, se incorpora al modelo como fuente ambiental que puede perturbar la evaluación de sobrevivencia en el crecimiento de las colonias. La **Figura 3**, separa el efecto de cada tratamiento evaluado a pH 5, 6 y 7, se observa la efectividad de TT aplicado al superar 95% de inactivación.

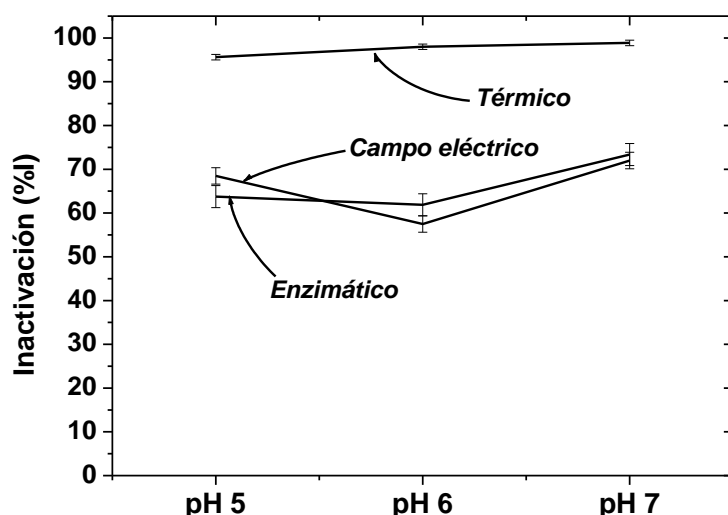


Figura 3. Inactivación de *S. cerevisiae* evaluada a diferentes pH

La Figura 4, muestra un ejemplo del nivel de inactivación promedio por métodos de tratamiento y la curva de sobrevivencia para cada método a lo largo de tiempo de tratamiento desde 0 a 15 minutos, cuando el pH del medio de crecimiento fue modificado.

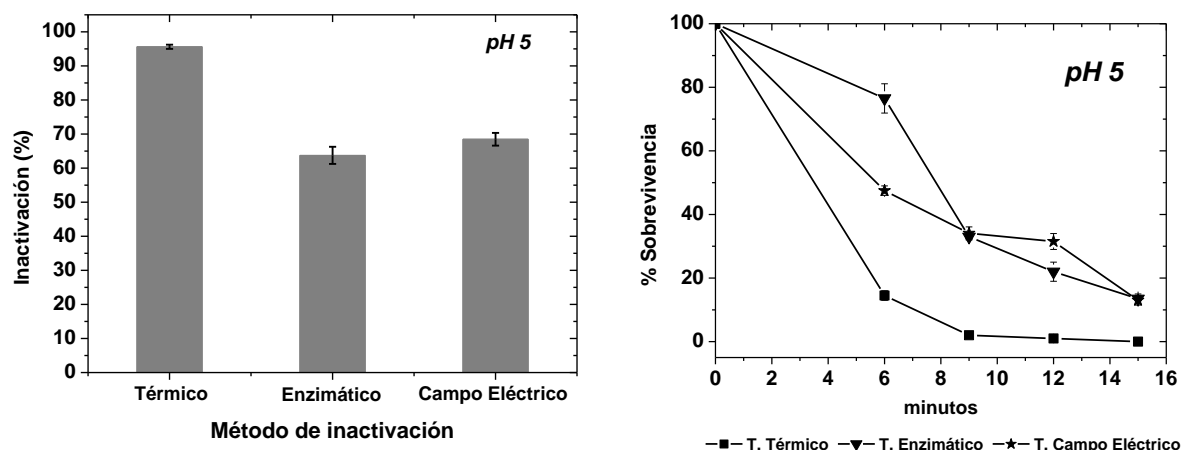


Figura 4. Nivel promedio de inactivación por método y sobrevivencia a través del tiempo

Al respecto, Wu *et. al.*, (2005), estudiaron el efecto de campos eléctricos en jugo de uva y combinación con antimicrobianos naturales (nisina y lisozima) y lo compararon con el tratamiento térmico, encontraron que una reducción aproximadas a 2 ciclos log a temperatura de 50 °C aplicado a jugo de uva (tratamiento térmico), cuando se expuso solamente a campo eléctrico de 80 kV/cm produjo 3,9 ciclos log, en combinación Campo Eléctrico Pulsado (CEP) mas nisina produjo 4,4 ciclos log de inactivación, nisina mas lisozima y CEP produjo 4,2 ciclos log de inactivación, mientras que la combinación de lisozima y CEP produjo 5,2 ciclos log de inactivación, todos estos tratamientos fueron realizados a temperatura de 50°C. Gallo *et. al.*, (2006), inactivaron *S. cerevisiae* utilizando antimicrobianos, reportaron que la

natamicina fue efectiva en suero de leche. El sotividal no fue instantánea registrando una reducción de 4,7 ciclos log después de 72 h a 20°C con 25 mg/L de natamicina con un inóculo inicial de 3×10^6 UFC/mL. Molinari *et. al.*, (2004), evaluaron el efecto de los campos eléctricos pulsados, sobre la fase de crecimiento y el tamaño del inóculo de *S. cerevisiae* en jugo de uva. Las condiciones de tratamiento CEP fueron desde 8 a 11 kV/cm. La inactivación producida oscila desde 2 a 5,8 ciclos log cuando el tamaño de inóculo se incrementa desde 5×10^5 a 1×10^{11} UFC/ml, respectivamente. En todos los experimentos la reducción de la población siguió un comportamiento lineal cuando el tamaño de inóculo se incrementó independientemente de la fase de crecimiento.

CONCLUSIÓN

Se logró inactivar *Saccharomyces cerevisiae* con los tres métodos ensayados, se demuestra la superioridad del tratamiento térmico sobre cualquier otro. Los tratamientos no térmicos con lisozima y campo eléctrico pueden alcanzar buena efectividad cuando el tiempo de tratamiento se prolonga a 15 minutos.

BIBLIOGRAFÍA

Balsa-Canto Eva, Rodríguez-Fernandez María y Banga Julio R. (2007). Optimal design of dynamic experiments for improved estimation of kinetic parameters of thermal degradation. *Journal of Food Engineering*, 82, p 178–188.

Fennema, O. 1985. Water and ice. In *Food Chemistry*, (2a ed.) Ed. Marcel Dekker Inc., New York, USA.

Gallo Luciana Ines, Jagus Rosa Juana, Pilosof R Ana Maria.(2006). Modelado de la inactivación de *Saccharomyces cerevisiae* por aplicación de natamicina en suero de queso líquido. Departamento de ingeniería química, universidad de buenos aires. *Brazilian Journal of Food Technological*, 9, p311-316.

Giner, J., Ortega, M., Mesegué, M., Gimeno, V., Barbosa-Cánovas, G. y Martín-Bellos, O. 2002. Inactivation of peach polyphenoloxidase by exposure to pulsed electric fields. *Journal of Food Science*. 67, 1467-1472.

Molinari P, A.M.R. Pilosof, R.J. Jagus. (2004). Effect of growth phase and inoculum size on the inactivation of *Saccharomyces cerevisiae* in fruit juice, by pulsed electric fields. (37), p.793-798.

Whitaker (2003). *Handbook of food Enzymology*. Ed. Marcel Dekker, p. 49-58.

Wu, Y. G.S. Mittal, M. W Griffiths. (2005). Effect of Pulsed Electric Field on the Inactivation of Microorganisms in Grape Juices with and without Antimicrobials. Department of food science, University of Guelph, Guelph, Canada, N1G 2W1. 90(1), p.1-7.

Zimmermann, U., Pilwat G. and Riemann, F. 1974. Dielectric breakdown in cell membranes. *Biophysical Journal*. 14, 881–899.

ALMIDONES RESISTENTES ELABORADOS POR EXTRUSIÓN: PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS Y ESTUDIOS DE DIGESTIÓN *IN VITRO*

E. von Borries Medrano, M. R. Jaime Fonseca y M. A. Aguilar Méndez

Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada del Instituto Politécnico Nacional, Legaria 694, Colonia Irrigación, C.P. 11500, México D. F.

INTRODUCCIÓN

El problema de obesidad que aqueja México y parte del mundo trae problemas socioculturales y de salud. Aproximadamente el 70% de la población adulta en México tiene sobrepeso y un 30% de ellos sufren de obesidad (Sarnali, et al., 2010). Hoy en día un factor que influye directamente en la predisposición a la obesidad es la alimentación. Debido al incremento en el consumo de comida de baja calidad nutritiva, ha aumentado la cantidad de personas con problemas de obesidad, lo que trae consigo padecimientos como diabetes tipo dos (Basen, et al., 2011; Qin, et al., 2010; Reis, et al. 2005). Por tal motivo, es importante desarrollar ingredientes que puedan ser útiles en la elaboración de alimentos capaces de suplir las falencias que hasta ahora se tienen, y que este trabajo intenta ser una base en el desarrollo de algún ingrediente en el futuro.

El almidón es un biopolímero abundante en la naturaleza, conformado químicamente por amilosa y amilopectina. Se estima que el 60-70% de la ingesta calórica en humanos proviene del almidón y ha sido de gran importancia en la evolución de los organismos, en especial el ser humano (Robyt, 2008). Un método muy utilizado para la gelatinización parcial es la extrusión, de gran utilidad por ser un proceso continuo de alta productividad y retención de nutrientes debido a las altas temperaturas y poco tiempo requerido, aunque también se ha reportado que la gelatinización y dextrinización después de la extrusión, aumenta la digestibilidad (Singh, et al., 2007). La goma guar es una fibra soluble que puede reducir el agua disponible dentro de un sistema alimenticio, evitando la gelatinización total del almidón y disminuyendo su digestibilidad (Bornet, 1993). Distintos estudios en modelos *in vitro* se han llevado a cabo para simular la digestión de almidón en el intestino delgado y observar su respuesta utilizando α -amilasa, ya que en el organismo humano esta es la enzima dominante en el proceso de digestión (Englyst, Klingman & Cummings, 1992). Se ha reportado que la disminución de la digestibilidad enzimática al modificar almidones químicamente (hidroxipropilación) (Chung & Shin, 2007), el impacto positivo en la salud que pueden proveer los almidones de lenta digestión (Lehmann & Robin, 2007), la disminución en la degradación del almidón en glucosa y del coeficiente de transferencia de masa por efecto de

agentes espesantes (Jaime, 2012). El objetivo del presente trabajo es elaborar y caracterizar complejos de almidón-goma guar producidos por extrusión, y determinar la velocidad de degradación de los complejos mediante un modelo de digestión *in vitro*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Mezclas de almidón y goma guar (0-2.5%, p/p) fueron acondicionadas a una humedad de 20-25% según el diseño de experimentos desarrollado. Posteriormente, las mezclas fueron extrudidas a una temperatura en la tercera sección del extrusor entre 110-140°C según el diseño y molidas en un molino de discos. Las muestras se caracterizaron obteniendo sus perfiles de viscosidad (RVA, Newport) y analizando la microestructura por Microscopía Electrónica de Barrido (JEM-6390 LV, JEOL).

Para las pruebas de digestión se utilizó un reactor de tanque agitado (RTA) como modelo *in vitro*, para lo cual se preparó una solución al 1% (p/v) del material en polvo y se emplearon las enzimas α -amilasa porcina (15U/ml) y amiloglucosidasa (1500U/ml) (Lo Curto, et al., 2011). La concentración de glucosa fue medida usando el método de DNS (Miller, 1959).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se puede observar en la figura 1 que a una mayor concentración de goma guar 2.5% p/p y humedad 25%, el complejo desarrolló una mayor viscosidad (765cP) en comparación con aquellos con un menor contenido de goma y humedad (0.5% p/p; 20% respectivamente). Al reducir la concentración de la goma y la humedad dentro del sistema, el gránulo de almidón queda expuesto al cizallamiento dentro del extrusor, provocando un mayor daño a su estructura y reflejándose en menores valores de viscosidad. Los datos concuerdan con estudios anteriores que indican que la adición de goma guar incrementa la viscosidad máxima (Brennan, et al., Brennan, Monro & Brennan, 2008) y la viscosidad final o retrogradación en los productos extrudidos, lo cual es atribuido a la mayor capacidad de hidratación que presenta la goma (Tudorica, et al., 2004).

La figura 2 muestra la microestructura de los complejos de almidón-goma guar obtenidos por extrusión a diferentes humedades. Se puede observar que a una concentración de goma guar entre 0-1% (p/p), el material extrudido tendió a desarrollar una microestructura en forma de fibras (Figuras 2a-c). A una concentración de goma guar de 2.5% (p/p) y 25% de humedad se puede observar una estructura amorfa, sin embargo, es posible observar la

existencia de gránulos intactos en la estructura (Figura 2d), los cuales confieren al complejo, al momento de realizar un viscoamilograma, un perfil de viscosidad propio de un almidón nativo.

En la figura 3 se observa que el proceso de digestión de complejos con una concentración menor de goma guar y menor contenido de humedad (0.5% goma; 25% humedad), tiene una velocidad mucho mayor (4.1 mM/min) que la digestión del complejo empleando una mayor concentración de goma y humedad (2.5% p/p; 25 % respectivamente), la cual fue de 0.03mM/min. Un contenido de humedad bajo durante la extrusión conlleva a un mayor daño en la estructura del almidón, resultando en una mayor gelatinización y dextrinización, y en consecuencia una digestión enzimática mayor, como se ha reportado en estudios previos sobre extrudidos de almidón adicionados con goma guar (Parada, Aguilera & Brennan, 2011). La reducción de digestibilidad se puede atribuir a la formación de una matriz a causa de la adición de la goma que protege al almidón de la acción de enzimas digestivas.

CONCLUSIONES

La concentración de goma guar y contenido de humedad juegan un papel importante tanto en la estructura del complejo almidón-goma guar después de la extrusión, así como en la digestión. Se puede notar que el perfil de viscosidad de 2.5% (p/p) de goma guar y 25% de humedad es mayor debido a la barrera protectora que generan estas dos condiciones a los gránulos de almidón durante la extrusión. Con respecto a la digestión del almidón, la concentración de 2.5% (p/p) de goma y 25% de humedad muestra una velocidad de conversión de glucosa mucho menor a los otros ensayos, esto podría ser atribuido a que los gránulos de almidón presentaron un menor daño debido al papel protector de la goma contra la acción enzimática.

AGRADECIMIENTOS

von Borries agradece a la COFAA-IPN por la beca de estudio recibida. Los autores también agradecen al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y a la Secretaria de Investigación y Posgrado del IPN (SIP) por el apoyo económico para la realización de este trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

- Basen- Engquist, K., Chang, M., *Curr Oncol Rep.*13910:71(2011)
- Bornet, F., *Carbohydrate Polymers*, 21:195 (1993)
- Brennan, M.A., Merts, I., Woolnough, J., Brennan C.S., *Starch/Stärke*. 60:248 (2008)
- Brennan, M.A., Monro, J.A., Brennan, C.S.. *Inter. J. Food Sci. And Tech.* 43:2278 (2008)
- Chung, H. J., Shin, D. H., Lim, S. T., *Food Res. Inter.* 41:579 (2008).
- Englyst, H.N., Kingman, S.M., Cummings, J.H., *Eur. J. Clin. Nutr.* 46:33(1992)
- Jaime-Fonseca, M. R., An Engineering Understanding of the Small Intestine. PhD Thesis. University of Birmingham, UK. 2012.
- Lehmann, U., Robin, F., *Trends Food Sci. Tech.* 18:346 (2007).
- Lo Curto, A., Pitino, I., Mandalari, G., Dainty, J. R., Faulks, R. M. & John Wickham, M. S., *Food Mic.* 28:1359 (2011)
- Miller G. L., *Anal. Chem.* 31: 426 (1959)
- Parada, J., Aguilera, J.M., Brennan, C., *J Food Eng.* 103:324 (2011)
- Qin, L., Knol, M.J., Corpeleijn, E., Stolk, R.P., *Eur J Epidemiol.* 25(1): 5(2010)
- Reis, A.F., Hauache, O.M., Velho, G., *Diabetes Metab.* 31: 318(2005)
- Robyt, J.F., *Glycoscience.*, 6:1438 (2008)
- Sarnali, T.T., et al., *Anwer Khan Modern Medical College Journal.* 1(2): 21(2010)
- Singh, S., Gamlath, S., Wakeling, L., *Inter. J. Food Sci.* 42:916(2007)
- Tudorica, C.M., Kuri, V., Jones, T.E.R., Brennan, C.S., *J. Sci. Food And Agr.* 84:1159 (2004)

FIGURAS

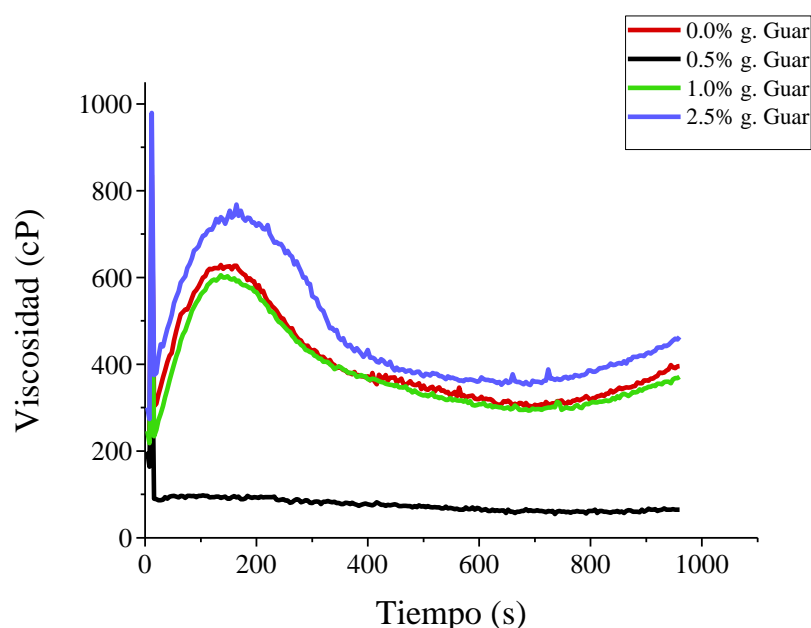


Figura 1. Perfiles de viscosidad de las muestras

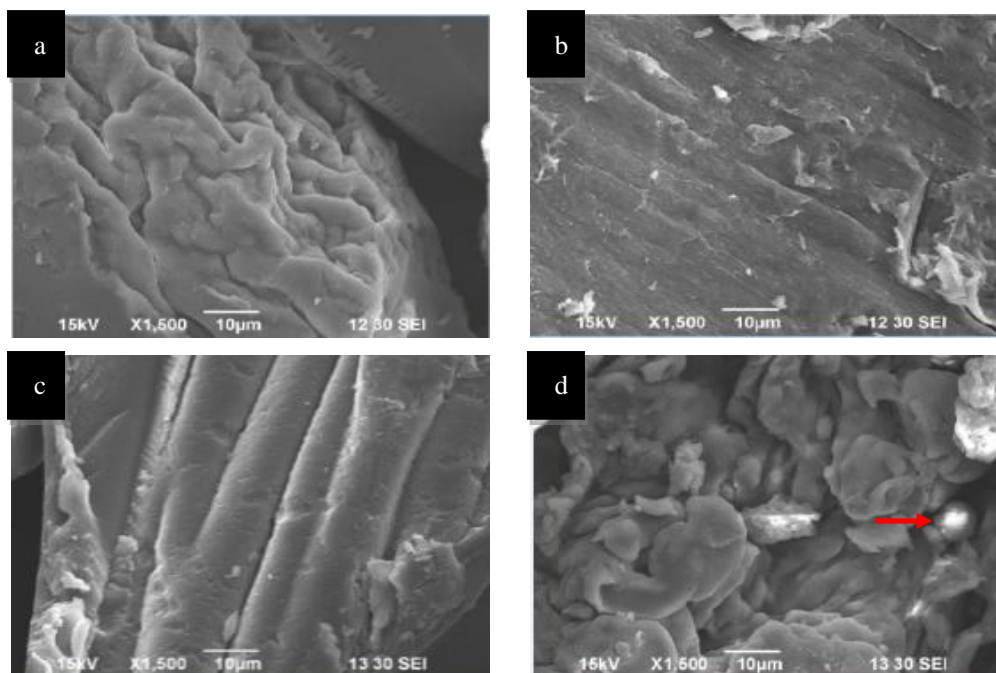


Figura 2. Micrografías del complejo almidón-goma guar: a) 0.0% goma; 25% humedad, b) 0.5% goma; 20% humedad, c) 1.0% goma; 25% humedad, d) 2.5% goma; 25% humedad

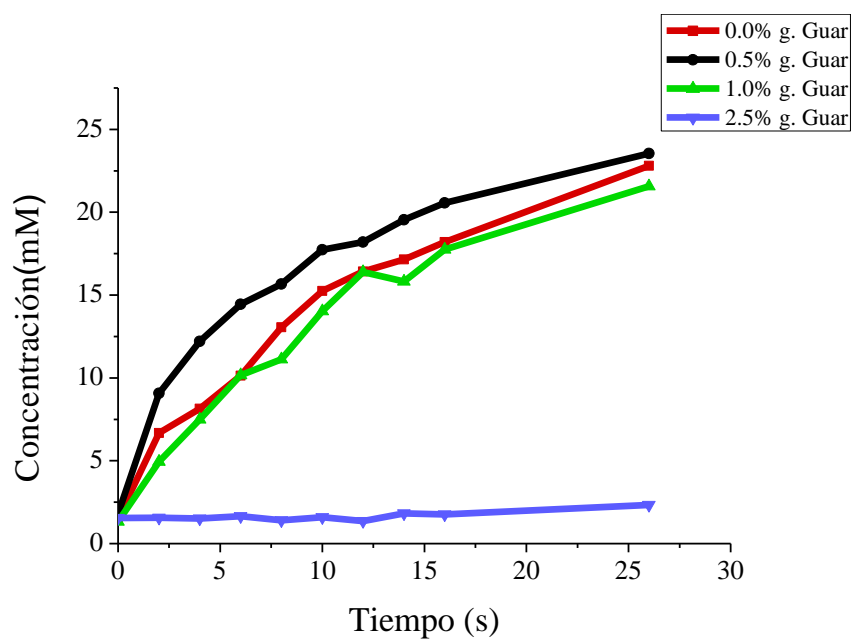


Figura 3. Digestión del complejo almidón-goma guar

EFFECTO DE LAS CONDICIONES DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN CON CO₂ SUPERCRÍTICO (ES-CO₂) Y APLICACIÓN DE PRETRATAMIENTOS DE LIOFILIZACIÓN Y MICROONDAS SOBRE LA OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE PULPA DE AGUACATE (*Persea americana* Mill., VARIEDAD HASS)

Jaime Ortiz¹, Juan P. Vivanco¹, Camila Mella^{1,2}, Fernando Osorio³, Eduardo Castro¹

¹: Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Departamento de Ciencia de los Alimentos y Tecnología Química. Santiago, Chile. ²: Universidad Tecnológica Metropolitana. Facultad de Ciencias Naturales, Matemática y del Medio Ambiente. Escuela de Ingeniería en Industria Alimentaria. Santiago, Chile. ³: Universidad de Santiago. Facultad Tecnológica. Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Santiago, Chile.

INTRODUCCIÓN

El aguacate o palta (*Persea americana* Mill.) corresponde a un fruto rico en compuestos bioactivos de carácter lipofílico, principalmente tocoferoles, provitamina A (β -caroteno), fitoesteroles, carotenoides y ácidos grasos monoinsaturados, que lo convierten en una materia prima de interés para la extracción de su aceite. Los lípidos del aguacate están localizados mayoritariamente en su pulpa o mesocarpo, y el contenido de aceite del aguacate depende de la variedad agronómica, de la región geográfica en que se cultiva, del estado de maduración del fruto, y dicho contenido puede ir desde un escaso 2,5% en cultivares caribeños hasta un 25% en variedades mexicanas; este aceite de aguacate resulta provechoso tanto por sus propiedades nutricionales debido a que sobre un 50% de sus ácidos grasos corresponde a ácido oleico (C18:1 ω 9c), su alto contenido en compuestos bioactivos; como también por sus propiedades regenerativas y de mantención de la hidratación de la piel que lo hacen un aceite reconocido en la industria de alimentos y cosmética (Lozano *et al.*, 1993; Bora *et al.*, 2001; Gómez-López, 2002; Fontanel, 2012).

La extracción con fluidos supercríticos (EFS) es un proceso de separación de sustancias desde una matriz que puede considerarse tanto una variación de la destilación a alta presión, en que la separación de solutos está basada en sus diferencias de presión de vapor; como una forma alternativa a la extracción con solventes líquidos convencionales a altas temperaturas, en la que la separación está basada en las interacciones soluto-solvente (del Valle y Aguilera, 1999). Los principales factores que deben considerarse para el éxito de un proceso de EFS son: la selección del fluido supercrítico correcto, la preparación y acondicionamiento de la matriz natural, y la determinación de las condiciones de presión y temperatura óptimas en el sistema extractor (Wang y Weller, 2006). El dióxido de carbono (CO₂) es el fluido supercrítico más utilizado en extracción, debido a las múltiples ventajas

que presenta sobre otros solventes: su presión crítica (P_c) es de 7,386 MPa, mientras que su temperatura crítica (T_c) es de 31°C, condiciones fácilmente alcanzables con equipamiento de laboratorio e industrial en la actualidad; además es un compuesto abundante, no inflamable, de bajo coste y toxicidad, y medioambientalmente amigable. Su mayor limitación es que posee una gran capacidad para disolver compuestos orgánicos de baja polaridad (como los hidrocarburos), por lo que la solubilidad de compuestos polares, iónicos o poliméricos es considerablemente menor (Hurren, 1999; Noyori, 1999).

Por las razones anteriormente expuestas, la extracción de compuestos lipídicos y bioactivos utilizando CO_2 supercrítico (ES- CO_2) es una tecnología emergente que ha mostrado múltiples ventajas respecto a las extracciones con solventes convencionales, que siempre dejan un residuo no deseable en los extractos, particularmente cuando la extracción se realiza con sustancias como hexano (disolvente orgánico más comúnmente usado), éter de petróleo, cloroformo, etc. En la actualidad, la tendencia de la legislación a nivel internacional está orientada hacia la restricción de la cantidad de hexano residual que deben contener los productos extraídos para uso alimentario, y se presume que cada vez será más prohibitiva, previéndose que en un futuro se cuestione cada vez más su uso hasta llegar a impedirse: mediante el uso de la ES- CO_2 supercrítico este inconveniente se elimina por completo (Velasco *et al.*, 2007), lo que favorecerá la obtención de lípidos e ingredientes de alto valor bioactivo que sean inocuos para su aplicación en productos de grado alimentario, cosmético y farmacéutico. El uso de esta tecnología ya ha sido reportado para la obtención de aceite de pulpa de aguacate (Mostert *et al.*, 2007; Restrepo-Duque *et al.*, 2012).

El objetivo de esta investigación fue encontrar las mejores condiciones de presión, temperatura y tipo de pretratamiento (liofilización o microondas) para la ES- CO_2 de los lípidos totales de la pulpa de aguacate (variedad Hass) dentro de una región experimental definida, mediante el uso de un diseño estadístico de tamizado factorial completo 2^3 , con tres repeticiones en el punto central.

METODOLOGÍA

Extracción con dióxido de carbono supercrítico (ES- CO_2) y aplicación de pretratamientos

Para realizar el estudio se utilizó una muestra de aguacate (*Persea americana* Mill., variedad Hass) perteneciente a una cosecha (año 2012) proveniente de la zona de Quillota (Región de Valparaíso, Chile), con un contenido graso entre 9 - 10%. El fruto muestreado se

dejo madurar a 20°C inmediatamente después de su cosecha. Los lípidos totales fueron extraídos con CO₂ supercrítico utilizando como materia prima la pulpa de la fruta a diferentes condiciones de presión y temperatura, aplicando pretratamientos que involucraron el uso de técnicas definidas de liofilización y microondas: para llevar a cabo la ES-CO₂ se utilizó una unidad de extracción *Spe-ed SFE (Applied Separations, Allentown, PA)* provista de una celda de extracción de 50 cm³ (14 mm de diámetro interno), la cual es alimentada con CO₂ (*Linde, Santiago, Chile*) cuya presión se encuentra controlada por medio de una bomba neumática, y la temperatura del baño de aire que se genera en el horno donde está contenida la celda de extracción se encuentra controlada automáticamente; las condiciones de operación (presión, temperatura y tipo de pretratamiento) fueron definidas de acuerdo a la matriz que se obtiene del desarrollo del diseño experimental expuesto a continuación.

Diseño experimental

Para efectuar el diseño experimental se siguió la metodología expuesta en Box *et al.* (1989), comenzando con un diseño estadístico de tamizado del tipo factorial completo (2³), considerando 3 variables independientes o factores (presión de extracción, temperatura de extracción y tipo de pretratamiento) y dos niveles de trabajo (mínimo y máximo); más tres repeticiones en el punto central del diseño. Esta metodología permite la localización parcial de las mejores condiciones de ES-CO₂, mediante el análisis de los factores que presentaron efectos significativos ($P \leq 0,05$) sobre las respuestas optimizadas dentro de la región experimental delimitada por los niveles mínimo y máximo determinados para cada factor, los que se detallan a continuación: presión de extracción (20-40 MPa), temperatura de extracción (35-55°C) y tipo de pretratamiento aplicado a la pulpa (microondas y liofilización), respectivamente; mientras que las variables de respuesta escogidas fueron el rendimiento de lípidos [% , en base seca], el contenido de ácido oleico [% de la fracción lipídica] y la concentración de tocoferoles totales [mg/kg de fracción lipídica]. El contenido de tocoferoles fue determinada en la fracción lipídica obtenida por ES-CO₂ mediante cromatografía líquida de alta resolución (*HPLC*) con detector de fluorescencia siguiendo el método oficial Ce 8-89 (AOCS, 1993), mientras que el contenido de ácido oleico (C18:1 ω 9c), fue cuantificado en la fracción lipídica obtenida por ES-CO₂ mediante cromatografía gaseosa de acuerdo a lo establecido en IRANOR (1973).

Para realizar el análisis estadístico del diseño experimental se utilizó el *software Statgraphics® Plus 5.1 edición profesional* (Statistical Graphics Corp., USA), a un nivel de confianza del 95%.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

El análisis estadístico de la varianza (ANDEVA) del diseño de tamizado factorial completo 2^3 para el rendimiento de la fracción lipídica de aguacate variedad Hass obtenida por ES-CO₂ entregó como resultado que sólo el aumento en la variable presión de extracción fue estadísticamente significativo para la maximización de esta respuesta (rendimiento de extracción) a un 95% de confianza ($P=0,0242$). La Figura N°1 muestra las gráficas de Pareto y de probabilidad normal para la maximización del rendimiento de extracción, la cual ratifica el resultado obtenido mediante ANDEVA, observándose el efecto significativo positivo de la variable presión de extracción sobre la cantidad de lípidos obtenida por ES-CO₂, la cual se encontró dentro del rango 26,16 – 55,09 [g lípido/100g pulpa seca] para los distintos ensayos experimentales.

Las concentraciones de tocoferoles totales determinadas para todos los ensayos experimentales obtenidos en los lípidos de aguacate se encontraron entre los 95,8 y los 170,9 [mg/kg] del extracto lipídico obtenido por ES-CO₂, siendo dicho contenido mayor cercano al valor de 150 [mg/kg] informado por Eyres *et al.* (2001) para tocoferoles totales en aceites de aguacate extra vírgenes provenientes de Nueva Zelanda. El ANDEVA realizado para el diseño de tamizado factorial completo 2^3 dio como resultado que ninguna de las variables independientes (factores) ni sus interacciones lineales reflejaron ser estadísticamente significativas para el contenido de tocoferoles totales a un 95% de confianza ($P>0,05$). La Figura N°2 muestra las gráficas de Pareto y de probabilidad normal que ratifican el resultado obtenido a través de ANDEVA para la optimización del contenido de tocoferoles totales, es decir, ninguno de los factores ni sus interacciones lineales presentaron efectos estadísticamente significativos sobre dicho contenido. Los mismos resultados se obtuvieron para el análisis estadístico del diseño experimental para el contenido de ácido oleico (C18:1 ω 9c), cuyos valores para los distintos ensayos experimentales se encontraron dentro del intervalo 62,0 - 65,7 [%] de la fracción lipídica extraída, aunque ninguno de los factores ni sus interacciones lineales resultaron ser estadísticamente significativos para dicho contenido a un 95% de confianza ($P>0,05$). Los valores obtenidos para ácido oleico en los lípidos de aguacate obtenidos por ES-CO₂ fueron cercanos al valor de 64,44 [%] determinado por Bora *et al.* (2001) para aceite de aguacate de la variedad Fuerte, y mayores al rango de 60,1 – 60,6 reportado por Ariza-Ortega *et al.* (2011) para aceites de aguacate de variedad Hass obtenidos por distintos métodos de extracción: mediante centrifugación, con hexano a temperatura ambiente, y con hexano a 70°C; la Figura N°3 muestra las gráficas de Pareto y

de probabilidad normal para la maximización del contenido de ácido oleico (C18:1 ω 9c), las que ratifican el resultado obtenido por medio de ANDEVA.

Por lo tanto, las mejores condiciones de ES-CO₂ dentro de la región experimental estudiada se obtienen usando la presión de trabajo mayor de 40 MPa y la temperatura mínima de 35°C, usando el pretratamiento de microondas: estas dos últimas condiciones son elegidas teniendo en cuenta parámetros no estadísticos (ya que no fueron significativamente incidentes en el análisis estadístico del diseño), tales como son costes de inversión, costes variables y consumo de energía menores al usar la temperatura de extracción más baja y el pretratamiento por microondas. El rendimiento maximizado que se alcanzaría bajo estas condiciones es igual a 48,63 [g lípido/100g pulpa seca], el cual fue determinado por la ruta de pendiente ascendente. Cabe destacar que este análisis, al considerar únicamente las interacciones lineales entre los factores, es válido sólo dentro de la región experimental estudiada, empleando las mismas condiciones de proceso.

AGRADECIMIENTOS: Esta investigación ha sido financiada en el marco de los proyectos InnovaChile-CORFO, código 11CEII-9568-F1-L5-P1 - Centro de Excelencia Internacional para la Industria de Alimentos (ICE FOOD CHILE- WUR) y Proyecto FONDECYT 1120312.

CONCLUSIONES

La aplicación y análisis de un diseño estadístico de tamizado factorial completo 2³ para el proceso de ES-CO₂ de lípidos totales a partir de pulpa de aguacate variedad Hass sometida a pretratamientos de liofilización y microondas mostró que sólo la presión de operación fue estadísticamente significativa ($P \leq 0,05$) sobre el rendimiento de extracción de lípidos totales a partir de pulpa de aguacate: al aumentar la presión de operación dentro de la región experimental estudiada, se observó un aumento en el rendimiento de extracción de lípidos de aguacate.

En tanto, ninguno de los factores estudiados para el proceso de ES-CO₂ (presión de operación, temperatura de operación, tipo de pretratamiento) mostró un efecto significativo ($P > 0,05$) sobre los contenidos de tocoferoles totales y de ácido oleico en los lípidos obtenidos a partir de pulpa de aguacate variedad Hass.

El valor óptimo aproximado para el rendimiento de extracción de lípidos totales de aguacate variedad Hass, dado por el análisis estadístico dentro de la región experimental

estudiada, es igual a 48,63 [g lípido/100g pulpa seca], al emplear la presión de trabajo máxima del diseño de 40 MPa, la temperatura mínima de 35°C, y el pretratamiento de microondas (estos dos últimos factores elegido por razones no estadísticas, tales como menores costes, mayor factibilidad y/o eficiencia técnica).

BIBLIOGRAFÍA

AOCS. Official methods and recommended practices of the American Oils Chemists' Society. 4th ed. AOCS Press, Champaign, IL, USA, 1993.

Ariza-Ortega, J.A., López-Valdez, F., Coyotl-Huerta, J., Ramos-Caselli, M.E., Díaz-Reyes, J. y Martínez-Zavala, A. Efecto de diferentes métodos de extracción sobre el perfil de ácidos grasos en el aceite de aguacate (*Persea americana* Mill. var. Hass). *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 2011, 2(2): 263-276.

Bora, P.S., Narain, N., Rocha, R.V.M. y Paulo, M.Q. Characterization of the oils from the pulp and seeds of avocado (cultivar: *Fuerte*) fruits. *Grasas y Aceites*. 2001, 52(3-4): 171-174.

Box, G.E.P., Hunter, W.G. y Hunter, J.S. Estadística para investigadores: introducción al diseño de experimentos, análisis de datos y construcción de modelos. Editorial Reverté, Barcelona, España, 1989, 675p.

del Valle, J.M. y Aguilera, J.M. Revisión: extracción con CO₂ a alta presión: fundamentos y aplicaciones en la industria de alimentos. *Food Science and Technology International*. 1999, 5(1): 1-24.

Eyres, L., Sherpa, N. y Hendriks, G. Avocado oil: a new edible oil from Australasia. *Lipid Technology*. 2001,13(4): 84-88.

Fontanel, D. Huiles et beurres de pulpes de fruits: revue des principales sources exploitées, teneurs en insaponifiables, propriétés et usages traditionnels d'intérêt cosmétique. *Oléagineux, Corps Gras, Lipides*. 2012, 19(4): 232-237.

Gómez-López, V.M. Fruit characterization of high oil content avocado varieties. *Scientia Agricola*. 2002, 59(2): 403-406.

Hurren, D. Supercritical fluid extraction with CO₂. *Filtration and Separation*. 1999, 36(3): 25-27.

IRANOR. Norma española UNE 55-037-73: materias grasas – determinación de ácidos grasos por cromatografía gaseosa. Instituto Nacional de Racionalización y Normalización, Madrid, España, 1973.

Lozano, Y.F., Dhuique-Mayer, C., Bannon, C. y Gaydou, E.M. Unsaponifiable matter, total sterol and tocopherol contents of avocado oil varieties. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 1993, 70(6): 561-565.

Mostert, M.E., Botha, B.M., Du Plessis, L.M. y Duodu, K.G. Effect of fruit ripeness and method of fruit drying on the extractability of avocado oil with hexane and supercritical carbon dioxide. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2007, 87(15):2880-2885.

Noyori, R. Supercritical fluids: introduction. *Chemical Reviews*. 1999, 99(2): 353-354.

Restrepo-Duque, A.M., Londoño-Londoño, J., González-Álvarez, D., Benavides-Paz, Y. y Cardona-Salazar, B.L. Comparación del aceite de aguacate variedad Hass cultivado en

Colombia, obtenido por fluidos supercríticos y métodos convencionales: una perspectiva desde la calidad. *Revista Lasallista de Investigación*. 2012, 9(2): 151-161.

Velasco, R.J., Villada, H.S. y Carrera, J.E. Aplicaciones de los fluidos supercríticos en la agroindustria. *Información Tecnológica*. 2007, 18(1): 53-65.

Wang, L. y Weller, C.L. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science & Technology*. 2006, 17(6): 300-312.

FIGURAS

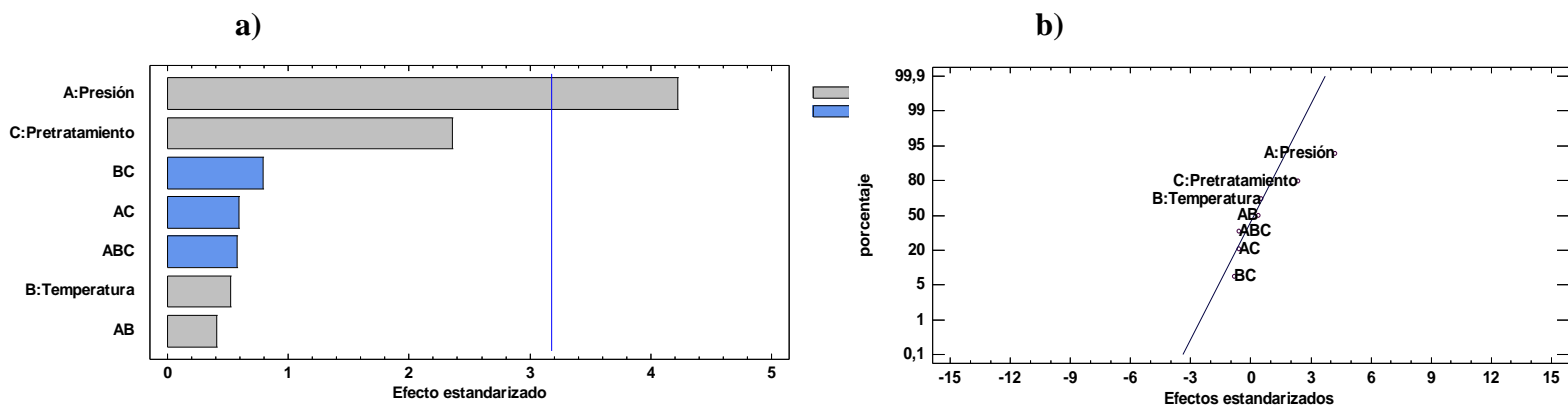


Figura N°1: Diagrama de Pareto (a) y Gráfico de Probabilidad Normal (b) obtenidos para los efectos estandarizados de las variables independientes y sus interacciones lineales para el rendimiento de extracción de la fracción lipídica de aguacate variedad Hass obtenida por ES-CO₂ ($\alpha=0,05$).

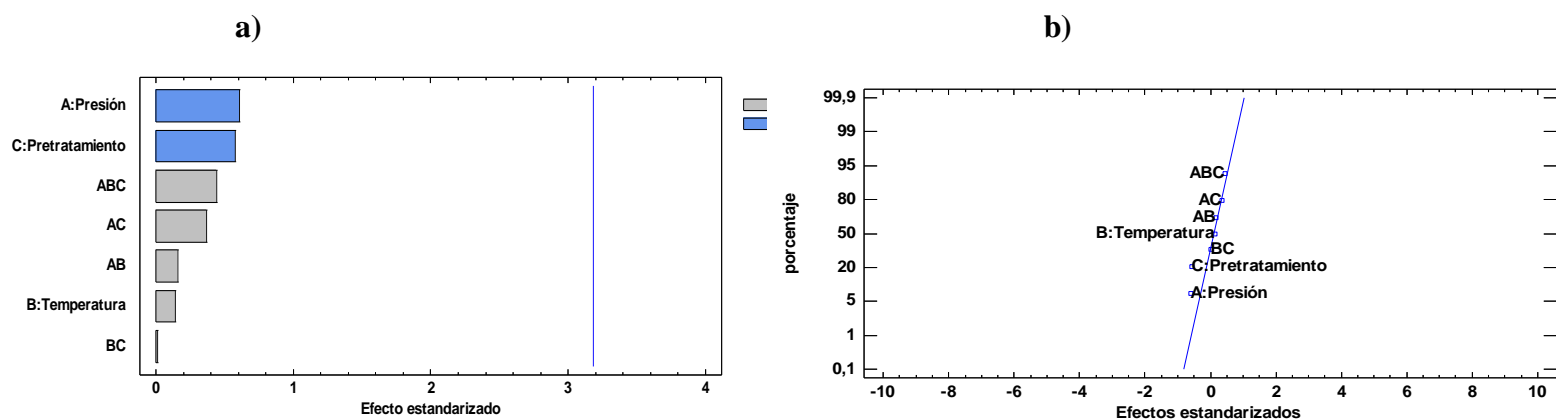


Figura N°2: Diagrama de Pareto (a) y Gráfico de Probabilidad Normal (b) obtenidos para los efectos estandarizados de las variables independientes y sus interacciones lineales para el contenido de tocoferoles totales de la fracción lipídica de aguacate variedad Hass obtenida por ES-CO₂ ($\alpha=0,05$).

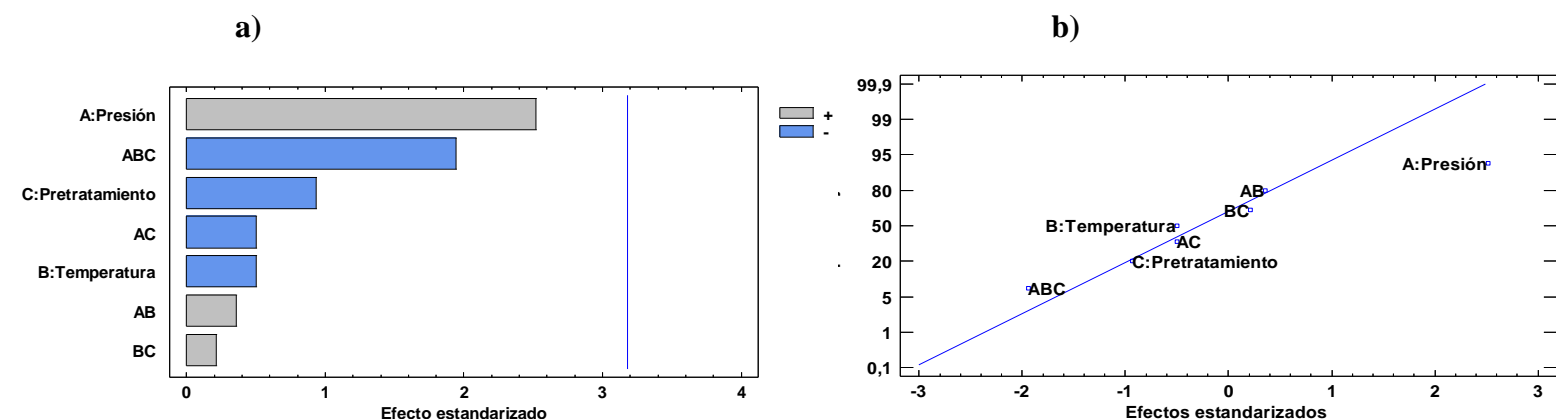


Figura N°3: Diagrama de Pareto (a) y Gráfico de Probabilidad Normal (b) obtenidos para los efectos estandarizados de las variables independientes y sus interacciones lineales para el contenido de ácido oleico (C18:1 ω 9c) de la fracción lipídica de aguacate variedad Hass obtenida por ES-CO₂ ($\alpha=0,05$).

AVALIAÇÃO DA MICROESTRUTURA E PROPRIEDADES MECÂNICAS DE FILMES COMPOSTOS A BASE DE ZEÍNA

Carolina Pena Serna^{a, b}, José Francisco Lopes Filho^a

^a Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual Paulista-UNESP. São José do Rio Preto, Brasil.

^b Grupo de Pesquisa em Ciências Agrárias-GRICA, Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade de Antioquia. Medellín, Colômbia.

INTRODUÇÃO

A maioria das embalagens usadas na comercialização de alimentos é baseada em materiais não biodegradáveis que contribuem para o aumento da contaminação ambiental. Por esta razão, atualmente, embalagens biodegradáveis em forma de filmes e coberturas estão sendo desenvolvidas (Ghanbarzadeh *et al.*, 2006).

A zeína é a proteína mais abundante do milho, obtida como co-produto na indústria de moagem úmida do milho (Forato *et al.*, 2004; Zhang *et al.*, 2011), sendo que a partir dela têm sido produzidos filmes e coberturas biodegradáveis e comestíveis com diferentes aplicações na indústria (Kim *et al.*, 2004; Lawton, 2004; Dangaran *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2011). Entretanto, para algumas aplicações, é necessário melhorar determinadas propriedades funcionais dos filmes e coberturas a base de zeína. De acordo com vários pesquisadores, a produção de filmes compostos permite a combinação das propriedades individuais dos componentes melhorando assim, as propriedades funcionais do filme.

Segundo Padua e Wang (2002) e Cuq *et al.* (1995), a adição de lipídeos, especificamente de ácido oleico, permite melhorar a barreira ao vapor de água dos filmes de zeína, assim como sua flexibilidade. De outro lado, Barbosa *et al.* (2010) relataram que a adição de goma xantana ao filme composto de zeína e ácido oleico melhorou a homogeneidade do filme, porém, o seu efeito sobre as propriedades mecânicas é desconhecido.

Considerando a necessidade de melhorar as propriedades funcionais e físicas dos filmes a base de zeína, o presente trabalho teve como objetivo avaliar as propriedades mecânicas e estruturais de filmes compostos de zeína e ácido oleico (Z-AO) e zeína e ácido oleico adicionado com o polissacarídeo goma xantana (Z-AO-GX).

MATERIAIS E MÉTODOS

Preparação dos filmes

Tomou-se 20 g de zeína que foram diluídos em 100 ml de etanol 95% (v/v) sob agitação mecânica intensa, por um período de 5 min à temperatura constante de $65\pm 0,5$ °C. Posteriormente, adicionou-se 70 g de ácido oleico, 5 g de emulsificante e 10 g de glicerol por cada 100 g de zeína e continuou-se agitando por mais 10 min. Para o preparo do filme Z-AO-GX também foram adicionados 0,05 g de goma xantana em pó. 50 ml da solução filmogênica foram derramados sobre uma placa de vidro retangular de 30 x 50 cm² e deixou-se secar em condições de laboratório por 16 h. Os filmes obtidos foram condicionados num dessecador com $58\pm 3\%$ de umidade relativa (%UR) a 24 ± 2 °C por no mínimo 40 h antes dos testes, de acordo com o procedimento da norma ASTM D618-08.

Determinação das propriedades mecânica

As propriedades mecânica dos filmes compostos a base de zeína foram determinadas de acordo com o método padrão da ASTM D882-10. Foram avaliadas a resistência máxima à tensão (TS), a percentagem de alongação na ruptura (%E) e o modulo de Young (YM) num equipamento Texturômetro TA.TX *plus*, usando a *probe* A/TG e o programa Exponent. As amostras foram cortadas em tiras de largura uniforme com uma guilhotina de acordo com o procedimento do padrão ASTM D6287-09.

As dimensões das amostras foram de 100 mm de comprimento, 15 mm de largura e a espessura determinada com micrometro digital ao longo da amostra. Foram feitas seis medições da espessura ao longo do comprimento da amostra, calculou-se a média e o desvio padrão, sendo que amostras com desvio padrão superior a 10% na espessura foram descartadas (ASTM D882-10). A separação inicial das pinças foi de 50 mm e a velocidade do teste foi 500 mm min⁻¹. A determinação das propriedades mecânicas foi feita a partir da curva de *Stress* vs. *Strain* e no mínimo cinco amostras foram analisadas.

Determinação da estrutura superficial e da seção transversal

A estrutura do filme foi avaliada num microscópio eletrônico de varredura (Carl Zeiss EVO LS15) usando um detector de elétrons secundários (SE) em alto vácuo e temperatura constante. As amostras foram revestidas com ouro e posteriormente as imagens foram digitalizadas utilizando potencial entre 15-20 kV e aumentos de 1000x e 5000x.

Para obter imagens da estrutura da seção transversal do filme, cortou-se as amostras dos filmes após acondicionamento em nitrogênio líquido. Para isto, as amostras foram imersas

durante 2 min em nitrogênio líquido e cortadas (quebradas) em seguida com ajuda de duas pinças. As amostras foram fixadas nos suportes do microscópio (*stubs*) com fita condutora dupla face de carbono e observadas nas condições mencionadas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Propriedades mecânicas

De acordo com os resultados apresentados na tabela 1, observa-se que a adição de goma xantana teve um efeito sobre as propriedades mecânicas do filme. Assim, o filme Z-AO-GX apresentou uma maior resistência à tensão como consequência da estrutura fortemente empacotada e arranjada, característica dos polissacarídeos como a goma xantana (Bourbon *et al.*, 2011; Krotcha, 2002). Esta estrutura, gerada pela formação de uma grande rede de pontes de hidrogênio produz uma matriz mais compacta, ajudando a melhorar a resistência à tensão mecânica do filme, porém, de outro lado, esta característica causa uma maior fragilidade no filme como verificado com o aumento no módulo de Young e a diminuição da porcentagem de alongação. O filme Z-AO apresentou-se mais flexível, embora, menos resistente a tensão.

A análise estatística mostrou efeito estatístico significativo ($p < 0,05$) do tipo de filme sobre as propriedades mecânicas de resistência à tensão, módulo de Young e porcentagem de alongação na ruptura.

Estrutura superficial e da seção transversal

Na figura 1 apresentam-se as micrografias da superfície dos filmes Z-AO (esquerda) e Z-AO-GX (direita) obtidas por microscopia eletrônica de varredura.

Observa-se que os filmes compostos a base de zeína exibem uma boa mistura e integração entre os componentes usados no seu preparo, mostrando ser filmes de aparência homogênea e contínua, sem presença de separações entre componentes ou aglomerações que ocorrem quando há baixa interação entre os componentes da solução filmogênica. Observa-se que ambos os filmes mostraram na sua superfície um material sólido de forma retangular ou quadrada, sendo que este material não faz parte da matriz e encontra-se solto na superfície do filme. Como citado em outro trabalho, o material sólido poderia ser uma substância contaminante presente em um dos reagentes usados no preparo dos filmes (Pena-Serna e Lopes-Filho, 2013).

Na figura 2 verifica-se que ambos os filmes exibiram uma estrutura da seção transversal homogênea, embora, caracterizada pela presença de micro orifícios ou micro poros. Acredita-se que a formação desta estrutura ocorreu durante a etapa de secagem, na qual aconteceu a evaporação do etanol, solvente usado no preparo dos filmes. Determinou-se que a porosidade da seção transversal dos filmes não apresentou efeito sobre as propriedades funcionais dos filmes compostos (Pena-Serna e Lopes-Filho, 2013).

CONCLUSÕES

No presente trabalho foi possível obter filmes compostos de zeína e ácido oleico e, zeína, ácido oleico e goma xantana com alto grau de homogeneidade tanto na sua estrutura superficial quanto na sua estrutura da seção transversal. Determinou-se que a adição de goma xantana gerou diferenças no desempenho mecânico dos filmes compostos, desta forma, o filme Z-AO-GX mostrou uma maior resistência à tensão mecânica, porém, uma menor flexibilidade quando comparado com o filme Z-AO.

BIBLIOGRAFIA

- Barbosa, C. Tafari, C. Lopes, M. Lopes J. F. Morphological and structural characteristics of zein biofilms with added xanthan gum. *Food Technol. Biotechnol.* 48, 19-27, 2010.
- Bourbon, A. Pinheiro, A. Cerqueira, M.A. Rocha, C.M.R. Avides, M.C. Quintas, M. A.C. Vicente, A.A. Physico-chemical characterization of chitosan-based edible films incorporating bioactive compounds of different molecular weight. *Journal of Food Engineering.* 106, 111-118, 2011.
- Cuq, B. Gontard, N. and Guilbert, S. Active food packaging. Chapter 5: Edible films and coatings as active layers. Glasgow: Blackie Academic & Professional. 1995.
- Dangaran, K. Tomasula, P.M. Qi, P. Structure and Function of Protein-Based Edible Films and Coatings. Em: Embuscado, M. E. Huber, K.C., Eds., *Edible films and coatings for food applications*, Springer, London, New York, 2009, pp. 25-56.
- Forato, L. Doriguetto, A. Fischer, H. MascarenhaS, Y. P. Craievich, A. F. Colnago, L. A. Conformation of the Z19 Prolamin by FTIR, NMR, and SAXS. *J. Agric. Food Chem.* 52, 2382-2385, 2004.
- Ghanbarzadeh, B. Oromiehie, A. Musavi, M. Jomeh, Z. Razmi, E. Milani, J. Effect of plasticizing sugars on rheological and thermal properties of zein resins and mechanical properties of zein Films. *Food Research International.* 39, 882–890, 2006.
- Kim, S. Sessa, D.J. Lawton, J.W. Characterization of zein modified with a mild cross-linking agent. *Industrial Crops and Products.* 20, 291-300, 2004.
- Krochta, J. Proteins as raw materials for films and coatings: definitions, current status and opportunities. Em: Gennadios, A., Ed., *Protein-based films and coatings*, CRC Press, Boca Raton, 2002, pp 1-42.

Lawton, J.W. Plasticizers for Zein: Their Effect on Tensile Properties and Water Absorption of Zein Films. *Cereal Chem.* 81, 1-5, 2004.

Padua, G Wang, Q. Formation and properties of corn zein films and coatings. Em: Gennadios, A., Ed., *Protein-based films and coatings*, CRC Press, Boca Raton, 2002, pp. 43-68.

Pena-Serna, C. Lopes-Filho, J. F. Influence of ethanol and glycerol concentration over functional and structural properties of zeineoleic acid films. *Materials Chemistry and Physics.* 142, 580-585, 2013.

Zhang, B. Luo, Y. Wang, Q. Effect of acid and base treatments on structural, rheological, and antioxidant properties of α -zein. *Food Chemistry.* 124, 210-220, 2011.

Tabela 1. Propriedades mecânicas de tensão dos filmes compostos de zeína

Amostra	Espessura (mm)	TS (MPa)	%E (%)	YM (MPa)
Z-AO	0,066 ± 0,004	8,500 ± 0,514 ^a	10,617 ± 2,288 ^a	5,015 ± 0,307 ^a
Z-AO-GX	0,065 ± 0,004	10,485 ± 0,635 ^b	6,656 ± 1,264 ^b	6,378 ± 0,501 ^b

Os valores referem-se à média ± o desvio padrão.

Diferentes letras na mesma coluna indicam diferença estatisticamente significativa (p<0,05).

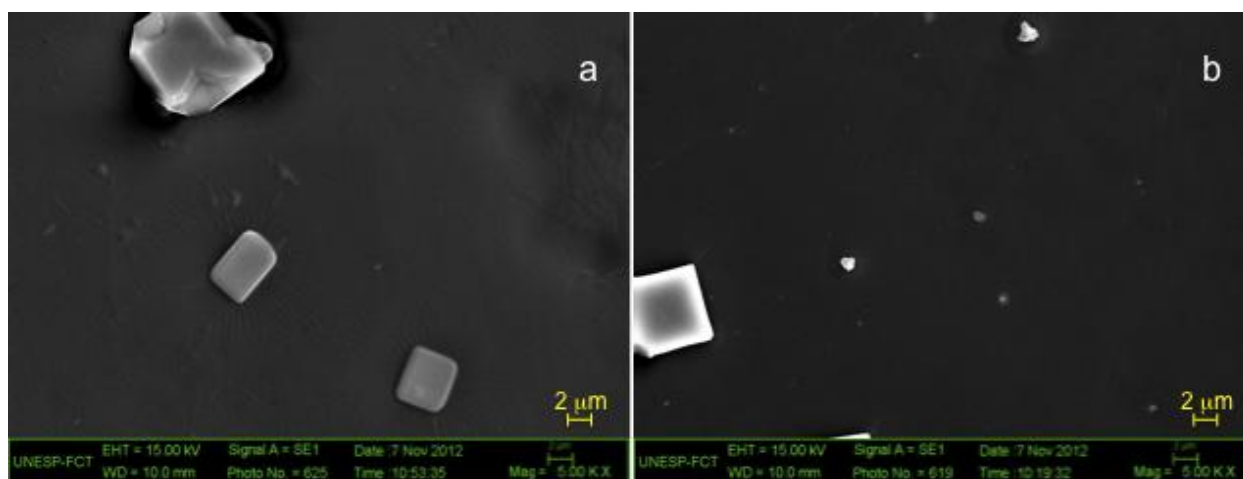


Figure 1. Micrografia MEV da superfície do filme a 5000x. Esquerda filme Z-AO, direita filme Z-AO-GX

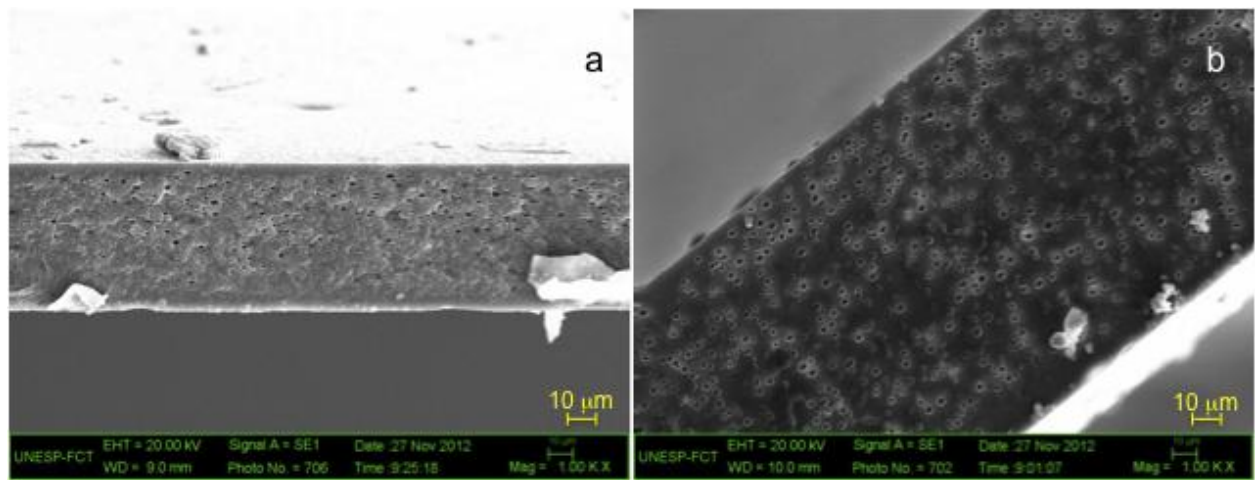


Figure 2. Micrografia MEV da seção transversal do filme a 1000x. Esquerda filme Z-AO, direita filme Z-AO-GX

SNACKS DE PIMIENTO EXPANDIDO POR MICROONDAS: EFECTO DE LAS CONDICIONES DE PROCESADO EN LA CALIDAD

R. Rodriguez¹, A.Baranda¹, I. Martínez-Marañón¹

1. AZTI-Tecnalia Astondo Bidea, Edificio 609 - Parque Tecnológico de Bizkaia - 48160 Derio (Bizkaia). rrodriguez@azti.es

RESUMEN

Las tecnologías tradicionales de obtención de snacks (fritura, secado con aire caliente y horneado) utilizan elevadas temperaturas, lo que implica la degradación de componentes nutricionales (ej. vitaminas) y la pérdida de otros interesantes desde el punto de vista sensorial o de la salud. Como alternativa, se propone un proceso combinado que incluye la tecnología de expansión por microondas. Se estudiaron varios parámetros tecnológicos como: el efecto del contenido de humedad del producto pre-seco, el formato, la densidad de potencia de microondas, la presión a la cual se lleva a cabo la expansión y el tiempo de procesamiento con el fin de obtener el mejor producto deshidratado expandido desde el punto de vista sensorial. Los resultados mostraron que un adecuado contenido de humedad del producto pre-seco y densidad de microondas puede mejorar la expansión del producto y las características sensoriales asociadas a la textura (crujiente). La utilización de vacío ayuda a la expansión, mejorando la calidad sensorial del producto final con menores riesgos de quemado durante el proceso de expansión. En cuanto a la variable formato, se obtuvieron mejores resultados para los cubos. Para establecer el impacto de las diferentes condiciones de procesado en la calidad del producto, se analizaron diferentes parámetros de calidad (ácido ascórbico, polifenoles totales, capacidad antioxidante, los carotenoides β -caroteno y luteína y las clorofilas) en el producto fresco, pre-seco, expandido y en el producto final correspondiente a dos condiciones experimentales. Los parámetros más afectados durante el proceso fueron el ácido ascórbico y las clorofilas, mientras los polifenoles totales, la capacidad antioxidante y los carotenoides fueron los menos afectados, siendo las etapas críticas de proceso el presecado y el secado final.

Palabras clave: vitaminas, antioxidantes, microondas, deshidratación, snack

INTRODUCCIÓN

En Europa, el consumo de frutas y verduras es inferior a la recomendación de la Organización Mundial de la Salud (OMS). Una alternativa a la ingesta de frutas y verduras en fresco es su consumo como snack, cuyo mercado ha experimentado un crecimiento del 63% en los últimos 5 años.

Las tecnologías más utilizadas hoy en día para la obtención de productos deshidratados tipo snack son el aire caliente, el horneado y la fritura. Los productos obtenidos de procesos como el aire caliente o el horneado presentan una elevada contracción, son duros, compactos y presentan texturas gomosas. Por otro lado, los procesos de fritura ofrecen productos expandidos con buenas texturas pero con alto contenido en grasa debido a la absorción parcial del aceite de fritura. Además, las altas temperaturas de estos procesos tradicionales implican una degradación de vitaminas o pérdida de otros compuestos interesantes (ej.: antioxidantes, polifenoles,...).

Las nuevas tecnologías, como la expansión por microondas, presentan algunas ventajas sobre la fritura como es la obtención de productos con contenido graso reducido (debido a la no utilización de aceites de fritura) y la posibilidad de obtener texturas nuevas y mejoradas (más expandidas) (Sagar, 2010). Sin embargo, existe poca información acerca de este innovador proceso de expansión así como del impacto de esta tecnología sobre la calidad sensorial (color, apariencia, textura,...) y nutricional (vitaminas,...) o de otros componentes interesantes de los alimentos.

Por tanto el **objetivo** de este trabajo fue el desarrollo de un snack de pimiento mediante la expansión por microondas y el estudio del efecto de las condiciones de procesado sobre la calidad (ácido ascórbico, polifenoles totales, capacidad antioxidante, carotenoides y clorofilas) de éste.

MATERIALES Y MÉTODOS

La materia prima utilizada en este trabajo fue el pimiento verde, por ser un producto muy consumido debido a la combinación de color, sabor y propiedades nutricionales, ya que es una excelente fuente de vitamina C y A (en forma de carotenoides) y contiene niveles de moderados a altos de fenoles y flavonoides.

El equipo utilizado es un equipo específicamente diseñado a medida de la marca SAIREM que tiene posibilidad de combinar diferentes tipos de energía, para este estudio habiéndose solo utilizado las microondas.

El proceso de obtención de un deshidratado expandido por microondas se compone principalmente de cinco pasos: el acondicionamiento de la materia prima, el pre-secado, la expansión por microondas, el secado final y el envasado, ver Figura 1. Con el fin de obtener los mejores productos expandidos desde el punto de vista sensorial, para el posterior análisis de la calidad de éstos, en cada paso se deben ajustar las variables del proceso siendo también importante la preparación inicial de las muestras. Un resumen de las variables del proceso y sus rangos de aplicación para cada paso se muestra en la Tabla 1.

Se consideraron dos formatos diferentes para la **materia prima**, cubos (C) y tiras (T), siendo las tiras cinco veces más largas que los cubos, a fin de analizar el efecto del formato (tamaño) en la correcta expansión del producto.

El **proceso de pre-secado** de la materia prima se realizó a 65°C, para evitar el pardeamiento por reacciones no enzimáticas del producto (Cernisev, 2010). El tiempo de pre-secado se determinó al alcanzar la humedad objetivo del producto pre-seco.

En el **proceso de expansión** se estudiaron los siguientes parámetros tecnológicos:

- Efecto del contenido de humedad del producto pre-seco (23, 30, 40 y 60 %). Se seleccionaron estos porcentajes de humedad al ser muy dispares y teniendo en cuenta los valores que se manejan en la bibliografía (Huang, 2011 y Zheng, 2013).
- Densidad de microondas (133-400W/g). Se eligieron estos rangos por las características técnicas del equipo en cuanto al límite de vacío alcanzable y por encontrarse en otros trabajos bibliográficos (Zhang, 2007 y Arimi, 2008).
- Tiempo de procesamiento (10-180s). El tiempo de procesado se fue ajustando para cada densidad de microondas.
- Presión en la expansión. Vacío máximo permitido por el equipo en torno a 250mbar (V) o Atmosférica (A).

En cuanto al **proceso final de secado** se seleccionó la temperatura de 85°C ya que en pruebas anteriores se vio que producía un impacto sensorial positivo (textura más crujiente y sabor más tostado) con respecto a temperaturas más bajas.

Una vez que se consiguieron varios prototipos de productos correctamente expandidos se realizó una cata sensorial para dos productos de cada formato. El ensayo se realizó con 8 catadores entrenados en este tipo de productos y se valoraron atributos del snack como el aspecto, sabor, color, sensación en boca y textura (grado de crujiente), seleccionándose dos productos correspondientes a un mismo formato (cubos).

Para analizar el efecto de las condiciones operacionales en la calidad del snack, se analizaron los productos seleccionados (cubos) en 4 fases diferentes del proceso de obtención

de éstos (antes del procesado, tras la etapa de pre-secado, tras la etapa de expansión por microondas y el producto final). Los parámetros analizados y su metodología incluyeron: contenido de humedad (%H), ácido ascórbico (HPLC-DAD), contenido en polifenoles totales (Folin-Ciocaltau), capacidad antioxidante (DPPH), carotenoides individuales (β -caroteno y luteína) y totales (HPLC-DAD) y clorofilas a y b (HPLC-Fluorescencia). Para una correcta caracterización del proceso, los resultados se expresaron respecto a porcentaje en base seca.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Según la experimentación realizada y teniendo en cuenta las posibilidades del equipo de microondas y los rangos contemplados, el **contenido de humedad** afecta de forma positiva al proceso de expansión. Valores superiores al 30% inciden en un mejor control del proceso ya que se pueden utilizar densidades de energía de microondas más elevadas sin quemar el producto, lo que incide de forma positiva en la textura de éste, ver Figura 2. En términos generales y dentro de los rangos estudiados, a mayor contenido inicial en humedad mayor es la expansión alcanzada en el producto siempre y cuando éste no se queme.

Las variables de proceso **densidad de energía y tiempo** están relacionadas entre ellas. Como muestra la Figura 3, para el mismo contenido en humedad al aumentar la densidad de energía de 133W/g a 266W/g el producto pasa de no estar expandido a expandir correctamente, mientras que al pasar de 266W/g a 400W/g el producto se expande correctamente pero se quema.

Se observa que la **utilización de vacío** mejora el proceso de expansión en términos de calidad sensorial del producto deshidratado final. Concretamente mejora fundamentalmente la textura, ya que se obtienen productos más aireados (ver Figura 4), el sabor y el color, ya que se obtienen productos que mantienen el color verde original según los datos obtenidos del análisis sensorial.

Al analizar el **efecto del tipo de formato** (cubos o tiras) para un mismo proceso de expansión (misma humedad inicial, densidad de energía, tiempo y presión) se observó que en el caso de las tiras al ser un producto más largo la expansión fue ligeramente más heterogénea (ver Figura 4).

Una vez que se consiguieron varios prototipos expandidos de forma correcta se realizó el **análisis sensorial** de los 4 prototipos presentados en la Figura 4. De estos 4 prototipos, se seleccionaron los dos correspondientes al formato de cubos por su mayor homogeneidad en la

expansión. Para estos dos productos se realizaron los ensayos necesarios para evaluar el impacto del proceso en las características nutricionales y de salud.

En cuanto a la **caracterización nutricional y salud** de las dos muestras seleccionadas se obtuvo que el pre-secado y el secado final se presentan como las etapas críticas para la pérdida de la calidad de las muestras analizadas. Por otro lado, se observa que el proceso de expansión a vacío ofrece resultados, en todos los parámetros de calidad, más favorables que el proceso de expansión a presión atmosférica. Los parámetros de calidad más afectados resultaron ser el ácido ascórbico (vitamina C) y las clorofilas (degradación de color verde), mientras que se observó un menor impacto sobre el contenido de polifenoles totales, la capacidad antioxidante y los carotenoides.

CONCLUSIÓN

Como conclusión general para el pimiento verde, se puede decir que la variable que menos afecta al proceso de expansión es el formato, mientras que las otras variables estudiadas (humedad inicial previa a la expansión, densidad de microondas, presión para la expansión) son las variables que afectan en mayor medida. Los mejores productos obtenidos desde el punto de vista sensorial y nutricional corresponden a unas condiciones de humedad, densidad de energía, presión de trabajo y tiempo de 60%, 250W/g, vacío y 14 segundos de expansión, siendo las etapas críticas para la pérdida de componentes nutricionales el presecado y el secado final.

La tecnología de expansión por microondas surge como una nueva tecnología para la obtención de productos expandidos deshidratados ya que supera algunas de las desventajas de los procesos tradicionales tales como el largo tiempo de proceso o la incorporación de aceite.

Esta tecnología también puede aumentar el nivel de expansión y mejorar la textura de los productos finales. A pesar de la pérdida de vitaminas o antioxidantes observada en este estudio, los productos finales obtenidos son interesantes para los consumidores desde el punto de vista nutricional o de la salud.

BIBLIOGRAFÍA

- Arimi, J.M., Duggan, E., O'Riordan, E.D., O'Sullivan, M y Lyng, J.G. 2008. Microwave expansion of imitation cheese containing resistant starch, *Journal of Food Engineering*, 88, 254-262.
- Cernisev, S. 2010. Effects of conventional and multistage drying processing on non-enzimatic browning in tomato, *Journal of Food Engineering*, 96, 114-118.
- Huang, L.L., Zhang, M., Mujumdar, A.S y Lim, R.X. 2011. Comparison of four drying methods for re-structured mixed potato with Apple chips, *Journal of Food Engineering*, 103, 279-284.
- Sagar, V.R y Suresch, K.P. 2010. Recent advanced in drying and dehydration of fruits and vegetables: a review. *Journal of Food Science and Technology*, 47(1), 15-26.
- Zhang, J., Zhang, M., Shan, L y Fang, Z. 2007. Microwave-vacuum heating parameters for processing savory crisp bighead carp (*Hypophthalmichthys nobilis*) slices, *Journal of Food Engineering*, 79, 885-891.
- Zheng, X., Liu, C., Shi, J., Xue, Y., Mu, J., Lin, Z y Liu, H. 2013. Analysis of volume expansion and dehydration ratio d Berry slab under microwave-vacuum puffing conditions, *LWT – Food Science and Technology*, 52, 39-48.

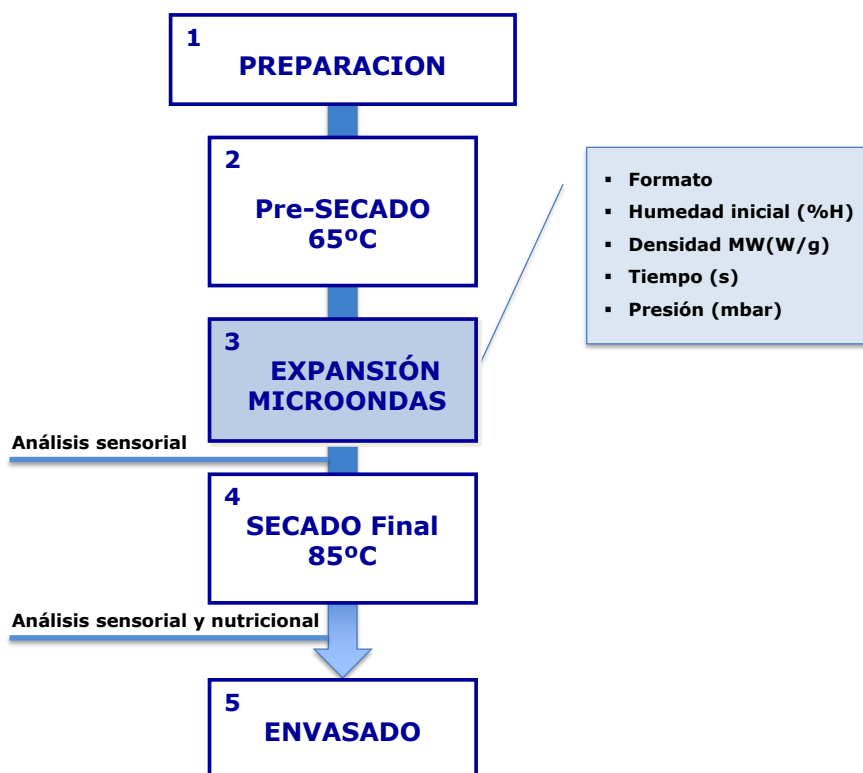


Figura 1. Proceso de obtención del snack de pimiento.

Tabla 1. Variables de proceso para cada paso.

FASE	VARIABLES	RANGOS
PREPARACIÓN	<ul style="list-style-type: none"> Cubos (10*10*5mm) Tiras (10*50*5mm) 	
PRE-SECADO	<ul style="list-style-type: none"> Aire forzado a 65°C Humedad inicial (%H) 	<ul style="list-style-type: none"> 23, 30, 40 y 60
EXPANSIÓN	<ul style="list-style-type: none"> Densidad de MW (W/g) Tiempo Presión 	<ul style="list-style-type: none"> de 133-400 W/g. de 10-180 s. Presión Atmosférica y Vacío
SECADO FINAL	<ul style="list-style-type: none"> Aire forzado a 85°C 	



Figura 2. Efecto de la Humedad. A. Humedad 23% - 250W/g – Presión Atmosférica – 14s. B. Humedad 60% - 250W/g – Presión Atmosférica – 14s.

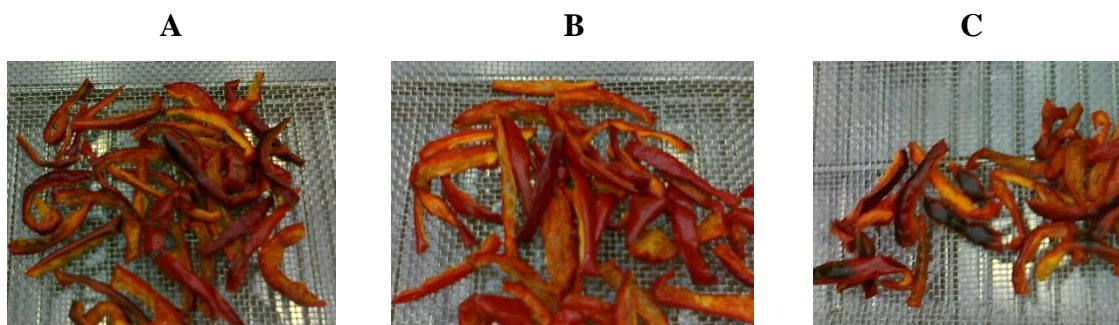


Figura 3. Efecto de la densidad de microondas. A. Humedad 23% - 133W/g – Vacío – 180s. B. Humedad 23% - 266W/g – Vacío – 60s. C. Humedad 23% - 400W/g – Vacío – 60s.

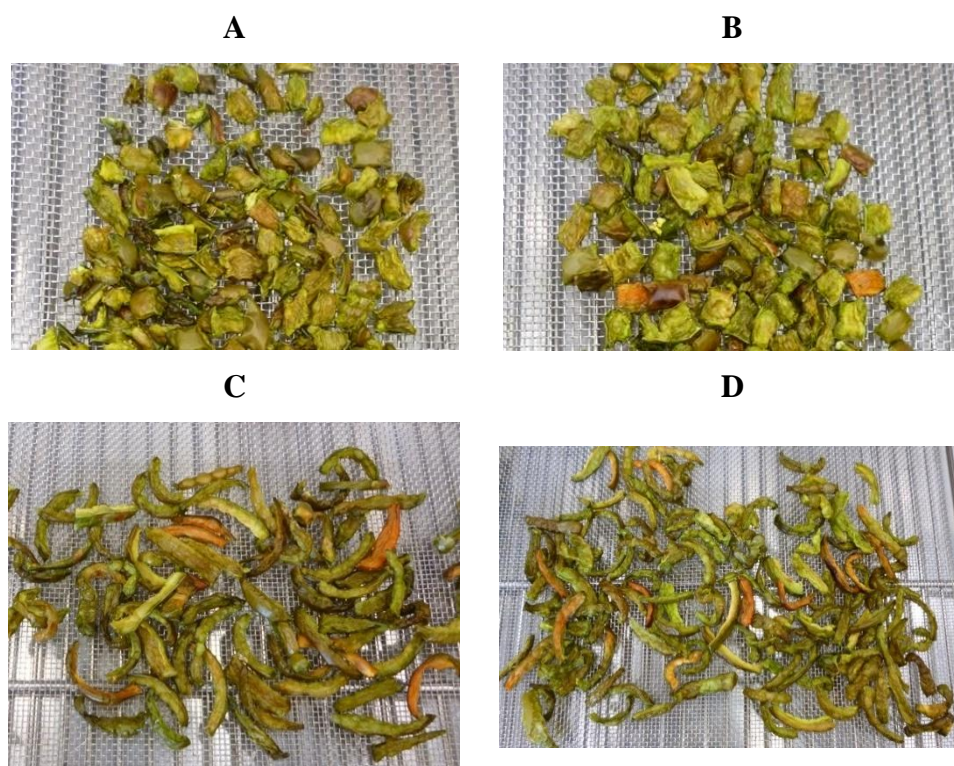


Figura 4. Efecto del formato y la presión en la expansión. A. Cubos - Humedad 60% - 250W/g – Presión Atmosférica – 14s. B. Cubos - Humedad 60% - 250W/g – Vacío – 20s. C. Tiras - Humedad 60% - 250W/g – Presión Atmosférica – 14s. D. Tiras - Humedad 60% - 250W/g – Vacío – 20s.

PERFIL SENSORIAL DO PRATO TRADICIONAL “CORDEIRO À MODA DE MONÇÃO”

Oliveira E. C.^{1,2}, Afonso I. M.¹, Pereira J.², Candeias G.¹, Lopes J.¹, Brito N. V.¹, Vale A.P.¹

¹FSQ - Escola Superior Agrária de Ponte de Lima, Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Portugal

²Escola Superior Agrária de Bragança, Instituto Politécnico de Bragança, Portugal
eduardaoliveira@esa.ipvc.pt

INTRODUÇÃO

A gastronomia é uma forma de diferenciação das sociedades, estimulando toda a cadeia agro-alimentar, o turismo e a preservação do património cultural. "Cordeiro de Monção" é um prato tradicional da região do Alto Minho, onde o cordeiro é assado em um forno a lenha pingando sobre arroz amarelo num alguidar de barro. Com a industrialização da produção de alimentos, torna-se necessária a caracterização dos atributos sensoriais identitários dos produtos tradicionais.

Actualmente, produtos alimentares tradicionais qualificados são, cada vez mais, valorizados pelos consumidores informados. Incentivar a produção e consumo de produtos tradicionais, não só protege e promove um património cultural, mas paralelamente contribui para o desenvolvimento e reforço das economias locais e regionais. Contrapondo com as dificuldades sentidas na fileira agro-alimentar esta é certamente uma questão que merece preocupação e debate, que urge analisar, no sentido de se promoverem novos rumos de desenvolvimento.

No caso dos produtos tradicionais de qualidade, refere Magalhães et al. (s.d), os fatores de origem, referente às características organolépticas específicas decorrentes de fatores da produção ou às características sensoriais do alimento difíceis de qualificar de outra forma que não sejam “de qualidade superior”, são praticamente indissociáveis.

Este trabalho teve como objetivo realizar a caracterização sensorial do prato “Cordeiro de Monção” com vista ao registo para a certificação como especialidade tradicional garantida (ETG).

MATERIAIS E MÉTODOS

Uma das componentes necessárias para a caracterização do prato gastronómico é a determinação do perfil sensorial, sendo necessário elaborar fichas de prova com descritores específicos para o Cordeiro à moda de Monção, estruturadas com variáveis qualitativas e não métricas.

O perfil sensorial, foi traçado para os dois componentes do prato, individualmente, através da Análise Descritiva Quantitativa. O painel composto por 14 provadores, teve que se pronunciar sobre os parâmetros (Aspecto, Sabor, Aroma e Textura), que comportavam vários atributos avaliados numa escala de 7 pontos, *Extremo* a muito *pouco* ou ausente, que contribuíram para a definição do perfil do Cordeiro e do Arroz, respectivamente.

Foi realizada uma análise estatística descritiva, por atributo, para a descrição geral do cada Parâmetro para o Cordeiro e para o Arroz. Seguidamente, realizou-se uma análise de componentes principais (V.20, IBM SPSS).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análise sensorial do Cordeiro

Como já foi referido, as provas sensoriais foram realizadas em triplicado, com amostras provenientes da restauração e de particulares. O prato, Cordeiro à moda de Monção, foi avaliado em duas componentes, carne e arroz, utilizando a respectiva ficha.

Na tabela 1 pode ler-se a avaliação média de cada atributo analisado nas provas sensoriais. O cordeiro foi avaliado com um aspecto ligeiramente homogéneo, de cor castanha; de textura firme, tenro com uma leve crocância e ligeiramente suculento; *flavour* (aroma + sabor, sensação retronasal) moderado e ligeiro a cordeiro e levemente avinagrado, e um pouco de todos os outros ingredientes.

A amostragem aleatória e pouco homogénea associada à componente subjectiva deste tipo de análises, poderá explicar o desvio padrão que os atributos avaliados apresentaram.

Na componente Aspecto, o atributo homogeneidade e Intensidade da cor de colorau, apresentam uma fraca correlação significativa ($P \leq 0,01$), em que o painel atribuiu 6,91% da variação da homogeneidade, à coloração de colorau. Na textura, verifica-se uma correlação moderada significativa ($P \leq 0,01$), entre a tenrura e a suculência, e a firmeza e a crocância de 0,48 e 0,40 respectivamente.

Jiménez (2007) citando Beltrán e Roncalés, refere que a textura da carne é determinada directamente pelas propriedades das estruturas miofibrilhares, conjuntivas e do

citoesqueleto, as quais variam com a raça, o sexo, a idade, além das variáveis biológicas e tecnológicas. Numerosos factores influenciam a mensuração da textura da carne: a temperatura de cozedura, uniformidade da amostra, a direcção das fibras musculares, a quantidade e distribuição do tecido conjuntivo e matéria gorda, a temperatura da amostra (Jimenez, 2007). Segundo Osório, Osório, & Sañudo, 2009, a succulência da carne pode apresentar-se em duas formas de sensação: inicialmente de humidade ao começar a mastigação, pela rápida libertação de suco e a causada pela libertação do soro e pelo efeito estimulante da gordura sobre o fluxo salivar. A carne de boa qualidade é mais succulenta devida, em parte, ao conteúdo de gordura intramuscular. A quantidade de gordura intramuscular (de infiltração ou marmoreio) da carne é dos factores determinantes da succulência.

Nos atributos que compõe os parâmetro do sabor e do aroma, verificaram-se várias correlações significativas, a salientar a forte relação entre os atributos sabor ácido e avinagrado (0,77), sabor a toucinho e presunto (0,81) e sabor e aroma a Anho (0,78).

Na análise de componentes principais, realçaram-se os atributos que compõem o flavour, como se pode ler no mapa bidimensional (Fig 1) definido pelas duas componentes principais retiradas após CATPCA.

As duas componentes, com boa fiabilidade na componente 1 e aceitável na componente 2, sendo $\alpha=0,935$ e $\alpha=0,739$ respectivamente.

De acordo com os pesos de cada variável, em cada dimensão, verifica-se que a dimensão 2 é claramente determinada por quatro variáveis, Intensidade de sabor e aroma e Aroma e Sabor a Anho. Todas as outras variáveis, são determinantes para a dimensão 1. Assim, poderemos classificar a dimensão 1, como sendo referente aos ingredientes secundários, os temperos, e a componente 2 referente aos Ingredientes principais, Cordeiro.

Da observação da figura 1, pode-se verificar que no quadrante positivo da intensidade de *flavour*, surge o ácido acético e o anho, como componentes principais do Cordeiro no prato em análise.

Análise sensorial do Arroz

No que respeita aos resultados, das provas sensoriais do Arroz (Tabela 2), verificou-se a ausência de indícios visíveis dos componentes da calda, apresenta-se com um aspecto ligeiramente homogéneo e gorduroso de cor amarela; de textura ligeiramente aderente com alguma gordura residual e pouco duro e o flavor moderadamente intenso, salienta sabor a

gordura, leve o aroma do Anho e do açafão, e um pouco de todos os outros ingredientes (presunto, chouriço, galinha, carne de vaca, salsa).

Em todos os parâmetros verificam-se correlações significativas ($P \leq 0,01$), a salientar uma relação moderada entre os atributos intensidade da cor e homogeneidade (-0,560) e a ligação dos grãos com o aspecto gorduroso (0,562) no que se refere à avaliação do parâmetro Aspeto. No parâmetro do Aroma, entre as correlações significativas ($P \leq 0,01$), evidencia-se as altas relações entre aroma a presunto e galinha (0,718) e aroma a presunto e chouriço (0,893). No sabor, sendo espectável, sobressai a relação alta entre chouriço e presunto (0,805), e a uma moderada entre estes e os restantes componentes da calda (carne de vaca e galinha). O atributo de gordura, também apresentou relações moderadas com os componentes da calda, no entanto e pesar de baixa verifica-se a relação entre sabor a gordura e a anho (0,342).

Na análise de componentes principais, (Fig 2) definido pelas duas componentes principais retiradas após CATPCA. Verifica-se que as duas componentes principais explicam 93,9% da variabilidade total, com valor próprio de 7,115 (Componente 1) e 6,028 (Componente 2) com uma boa fiabilidade na componente 1 e 2, sendo $\alpha = 0,926$ e $\alpha = 0,898$ respetivamente.

CONCLUSÃO

O conceito de Produtos Tradicionais, apresenta interpretações distintas de acordo com diferentes autores. Para Bernat (1996) os produtos são tradicionais na medida em que persistem no tempo, sempre se fizeram num determinado lugar e de uma determinada maneira e conservam, em maior ou menor grau as características que os definem, quanto ao aspeto, textura e sabor. Assim, e no caso específico do Cordeiro à Moda de Monção, podemos dizer que é um produto tradicional, com uma forte componente de Aroma e Sabor aos ingredientes utilizados na sua confecção, nomeadamente, produtos fumados (chouriço e presunto), carne vaca, vinho, Anho e Açafão.

BIBLIOGRAFIA

Magalhães, A., Malheiros, J., Nunes, A., Possidónio, D., Lourenço, F., Rego, P., et al. (s.d.). *Estudo para a valorização dos Produtos Regionais*. Comissão de coordenação e desenvolvimento regional do Alentejo.

Bernat, E. (1996). Los “nuevos consumidores” o las nuevas relaciones entre campo y ciudad através de los “productos de la tierra”. *Agricultura y Sociedad n.º 80-81*, 83-116.

Jiménez, M. G. (2007). *Características de la canal y calidad de la carne, composición mineral y lipídica del cerdo Chato Murciano y su cruce con Ibérico. Efecto del sistema de manejo*. Murcia: UNIVERSIDAD DE MURCIA, DEPARTAMENTO DE TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS, NUTRICIÓN Y BROMATOLOGÍA.

Osório, J. d., Osório, M. M., & Sañudo, C. (2009). Características sensoriais da carne ovina. *R. Bras. Zootec.*, 38, p.292-300.

Tabela 1: Avaliação, pelo painel de provadores, do Cordeiro, em cada atributo e respectiva escala.

Parâmetros	Atributo	Média	Escala	
			(1)	(7)
Aspecto	Intensidade cor de cloracau	3,91 ± 1,73	Castanho dourado	Castanha Avermelhado
	Intensidade cor de Açafão	4,31 ± 1,55	Amarelo pálido	Castanho
	Homogeneidade	3,91 ± 1,12	Extremo	Muito pouco
Aroma	Intensidade	3,51 ± 1,30	Extremo	Muito pouco
	Vinagre/ acético	4,86 ± 1,51	Extremo	Muito pouco
	Alho	5,60 ± 1,29	Extremo	Nenhum
	Vinho	5,21 ± 1,26	Extremo	Nenhum
	Loureiro	5,83 ± 1,01	Extremo	Nenhum
	Tostado	4,82 ± 1,43	Extremo	Nenhum
	Presunto	5,75 ± 1,01	Extremo	Nenhum
	Toucinho	5,90 ± 0,90	Extremo	Nenhum
	Anho	4,28 ± 1,63	Extremo	Nenhum
Textura	Suculência	4,18 ± 1,48	Extremo	Muito pouco
	Firmeza	3,85 ± 1,05	Extremo	Muito pouco
	Tenrura	3,68 ± 1,30	Extremo	Muito pouco
	Crocância	4,89 ± 1,46	Extremo	Muito pouco
Sabor	Intensidade	3,82 ± 1,23	Extremo	Muito pouco
	Salgado	5,35 ± 1,27	Extremo	Muito pouco
	Picante	6,21 ± 0,92	Extremo	Muito pouco
	Ácido	5,44 ± 1,30	Extremo	Muito pouco
	Adocicado	5,44 ± 1,27	Extremo	Muito pouco
	Avinagrado	5,33 ± 1,27	Extremo	Ausência
	Alho	5,70 ± 1,06	Extremo	Muito pouco
	Colorau	5,89 ± 1,04	Extremo	Ausência
	Loureiro	5,89 ± 0,99	Extremo	Ausência
	Salsa	6,15 ± 0,80	Extremo	Ausência
	Presunto	5,69 ± 1,05	Extremo	Ausência
	Toucinho	5,82 ± 0,94	Extremo	Ausência
	Anho	4,35 ± 1,51	Extremo	Ausência
	Ranço	6,40 ± 1,09	Extremo	Ausência

Tabela 2: Avaliação, pelo painel de provadores, do Arroz, em cada atributo e respectiva escala

Parâmetros	Atributo	Média	Escala	
			(1)	(7)
Aspecto	Intensidade da cor	4,58 ± 1,90	Amarelo-Branco	Amarelo
	Homogeneidade	4,03 ± 1,68	Extremo	Muito pouco
	Gorduroso	4,48 ± 1,50	Muito gorduroso	Pouco
	Presença Componentes da Calda	6,14 ± 1,23	Extremo	Nenhum
	Ligação dos grãos	4,38 ± 1,71	Muito ligado	Solto
Aroma	Intensidade	3,81 ± 1,13	Extremo	Muito pouco
	Anho	4,87 ± 1,45	Extremo	Muito pouco
	Presunto	5,59 ± 1,13	Extremo	Nenhum
	Chouriço	5,70 ± 1,14	Extremo	Nenhum
	Galinha	5,38 ± 1,20	Extremo	Nenhum
	Carne de vaca	5,60 ± 1,02	Extremo	Nenhum
	Salsa	6,20 ± 0,75	Extremo	Nenhum
	Açafrão	5,13 ± 1,28	Extremo	Nenhum
	Loureiro	6,09 ± 0,92	Extremo	Nenhum
	Ranço	6,33 ± 1,18	Extremo	Nenhum
Textura	Liga do Arroz	3,89 ± 1,74	Solto	Nada solto
	Dureza do arroz	4,63 ± 1,43	Extremo	Muito pouco
	Aderência	4,64 ± 1,37	Extremo	Muito pouco
	Gordura residual	4,61 ± 1,43	Extremo	Muito pouco
Sabor	Intensidade	3,76 ± 1,09	Extremo	Muito pouco
	Salgado	5,04 ± 1,35	Extremo	Muito pouco
	Picante	6,10 ± 0,97	Extremo	Muito pouco
	Açafrão	5,18 ± 1,25	Extremo	Muito pouco
	Salsa	6,18 ± 0,84	Extremo	Muito pouco
	Anho	5,07 ± 1,30	Extremo	Muito pouco
	Galinha	5,09 ± 1,06	Extremo	Muito pouco
	Carne de vaca	5,56 ± 1,05	Extremo	Muito pouco
	Chouriço	5,69 ± 1,03	Extremo	Muito pouco
	Presunto	5,59 ± 1,13	Extremo	Muito pouco
	Ranço	6,39 ± 1,11	Extremo	Muito pouco
	Gordura	4,74 ± 1,35	Extremo	Muito pouco

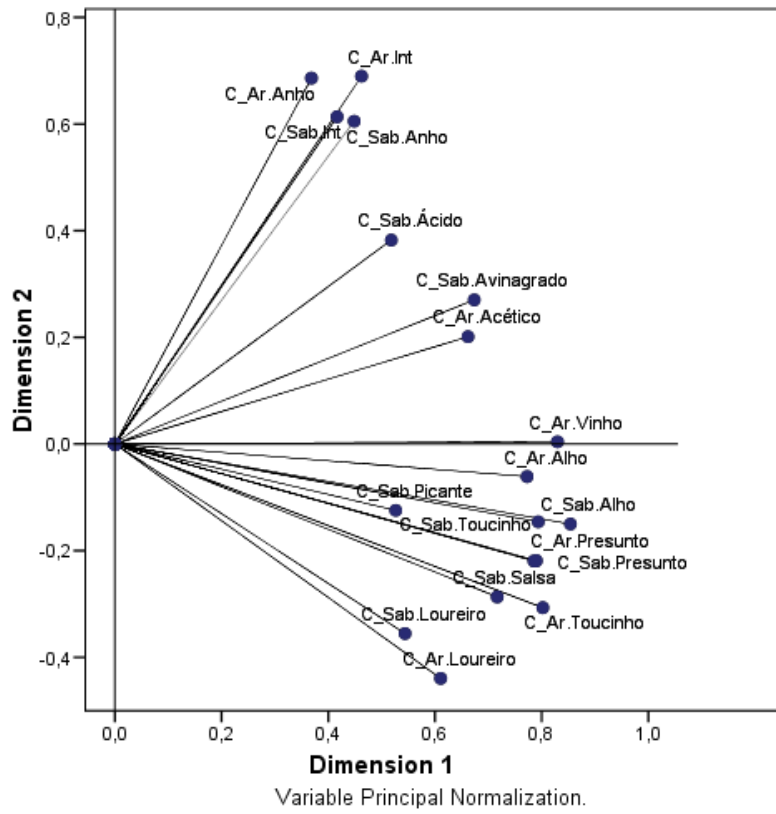


Fig. 1 - Mapa bidimensional, das componentes principais do Cordeiro.

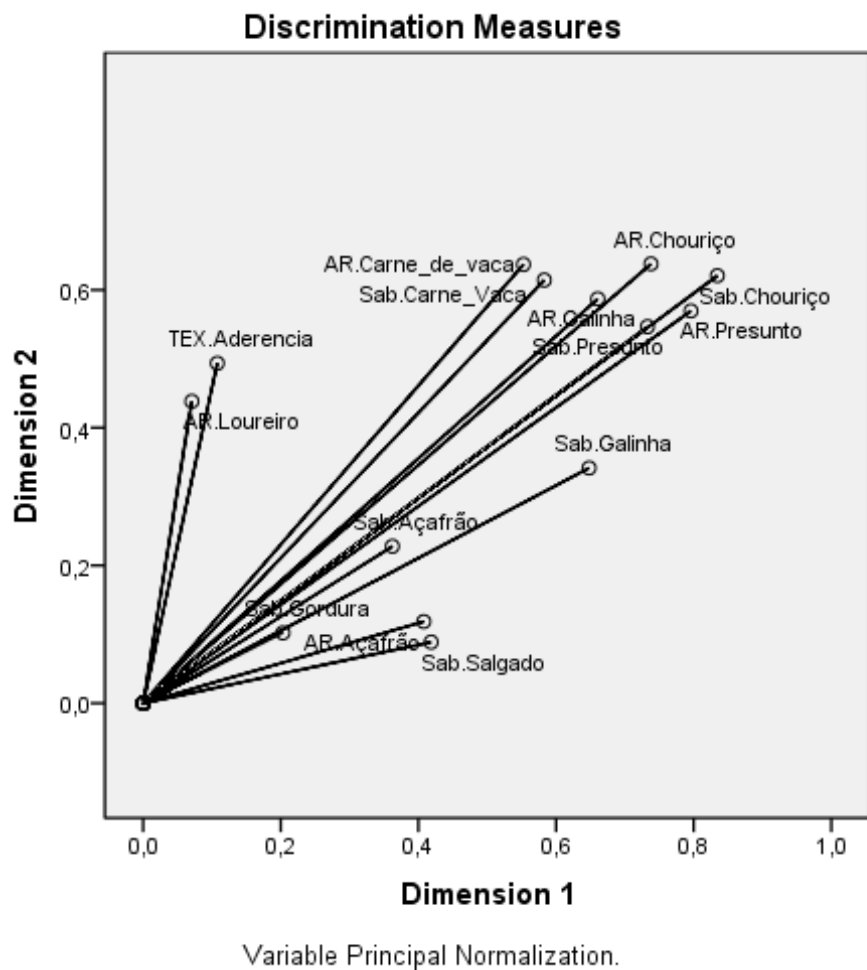


Fig. 2 - Mapa bidimensional, das componentes principais do Arroz.

Trabalho financiado: PRODER – Medida 3.2 – Acção 3.2.1 – Conservação e Valorização do património.

EVALUACIÓN DE LA BIOACCESIBILIDAD DE MERCURIO Y SELENIO DESDE MUESTRAS DE PEZ ESPADA Y DE LOS FACTORES QUE LA CONDICIONAN

Carlos Jadán, M^a Jesús Clemente, Antonio Ruiz, Dinoraz Vélez, Vicenta Devesa

Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA-CISC). Av. Agustín Escardino nº 7, 46980 Paterna, Valencia (España).

Correspondencia: teléfono (+34) 963 900 022; fax (+34) 963 636 301; e-mail: vdevesa@iata.csic.es

1. INTRODUCCIÓN

La principal exposición a mercurio (Hg) para gran parte de la población se produce a través de los alimentos. Los predadores marinos como pez espada, atún de gran tamaño, tiburón y marrajo son los que contribuyen en mayor medida a la ingesta de Hg (SANCO, 2004). El metilmercurio (MeHg), forma mercurial mayoritaria en estos alimentos, está considerada un probable cancerígeno para el hombre por la Agencia Internacional de Investigación sobre el cáncer (IARC, 1993), además de ser un importante neurotóxico (Grandjean et al., 2010). Algunos autores cuestionan la relación directa entre la ingesta de MeHg a través de los alimentos y el desarrollo de patologías (Grandjean et al., 2011). En muchos casos los productos pesqueros con elevados contenidos de MeHg son también importantes fuente de otros nutrientes con demostrado carácter antagonista del efecto tóxico del Hg, como el selenio (Se). Estudios *in vitro* e *in vivo* muestran que el exceso molar de Se respecto a Hg, disminuye el efecto tóxico de la forma mercurial (Newland et al., 2006).

El Hg y Se presentes en los productos pesqueros se encuentran unidos principalmente a proteínas y por tanto su absorción depende de su solubilización durante el paso del alimento por el tracto digestivo. La digestión gastrointestinal consiste en una serie de etapas enzimáticas a distintos pHs que disgregan el alimento y liberan los nutrientes y tóxicos que lo integran, favoreciendo así su posterior absorción intestinal. Los estudios de bioaccesibilidad, llevados a cabo para evaluar la solubilización de un compuesto desde el alimento, se realizan mediante ensayos *in vitro*. La mayor parte de las investigaciones sobre elementos traza tóxicos utiliza modelos estáticos (Morera et al., 2011), donde se mantienen condiciones fijas de trabajo. Sin embargo, estos modelos estáticos impiden evaluar el efecto del pH, tiempo de residencia del alimento en el tracto o las variaciones de los niveles enzimáticos durante el proceso digestivo. Por tanto, se desconoce si estos factores pueden influir en la solubilización del Hg y Se presente en los productos pesqueros y por ello si los modelos *in vitro* existentes son adecuados para evaluar la bioaccesibilidad de estos elementos traza desde los alimentos.

El objetivo de presente proyecto es la evaluación de la bioaccesibilidad del Hg y Se presente en muestras de pez espada cocinado y la identificación de las etapas (gástrica o intestinal) y algunos de los factores de la digestión gastrointestinal (pH, concentraciones enzimáticas, sales biliares y lipasa) que pueden influir de forma más determinante en la bioaccesibilidad de ambos elementos traza.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Muestras. Se analizaron muestras de pez espada congelado (*Xiphia gladius*) adquiridas en comercios de Valencia (n=32). El pescado fue cocinado sin empleo de ingredientes adicionales. Posteriormente se eliminaron las partes no comestibles y las muestras resultantes se trituraron, homogenizaron y almacenaron a 4 °C hasta el momento de su análisis.

2.2. Método de simulación de digestión gastrointestinal. Las muestras cocinadas se sometieron a un proceso de digestión gastrointestinal *in vitro*. El método de digestión empleado fue una modificación del descrito por Laparra et al. (2003). Se pesaron 10 g de muestra y se añadieron 90 g de agua, ajustando el pH a 2.0 con HCl 6 mol/L. Posteriormente se adicionó una solución de pepsina (Sigma) (0.02 g de pepsina/10 g de muestra). La mezcla se llevó a un peso de 100 g con agua y se incubó a 37 °C durante 2 h a 120 rpm.

Tras la simulación de la etapa gástrica, el digerido se enfrió a 4 °C y el pH se aumentó a 6.5 empleando NaHCO₃ 1 mol/L. Posteriormente se añadió una mezcla de pancreatina (Sigma) y extracto biliar (Sigma) a una concentración final de 0.0025 g de pancreatina y 0.015 g de extracto biliar/10 g de muestra. La mezcla se llevó a 100 g con agua y se incubó (37 °C, 2 h, 120 rpm). Tras la digestión, las muestras se centrifugaron a 10000 rpm y 4 °C durante 30 minutos. En la fracción soluble obtenida (bioaccesible) se cuantificaron los contenidos totales de Se y Hg, y se determinó la bioaccesibilidad (porcentaje de elemento solubilizado respecto al contenido inicial en el alimento)

A lo largo del estudio se aplicó esta metodología variando los siguientes parámetros:

- pH de la etapa gástrica: se ensayaron pH 2, 3, 4, 5 y 6.
- Concentración de pepsina en la etapa gástrica. Se ensayaron 6 concentraciones: 0.01; 0.02; 0.04; 0.06; 0.08 y 0.13 g pepsina/10 g muestra fresca.
- Concentración de sales biliares en la etapa intestinal. Se ensayaron 3 concentraciones: 0.30 1 y 3 g de extracto biliar/10 g de muestra fresca.

- Concetración de lipasa pancreática en la etapa intestinal. Se ensayaron 3 concentraciones: 0.01, 0.05 y 0.1 g lipasa/10 g de de muestra fresca.

2.3. Determinación de Hg. Las muestras cocinadas (0,5 g) y las fracciones bioaccesibles (4 mL) fueron tratadas con 4 mL de HNO₃ 14 mol/L (Merck) y 1 mL de H₂O₂ (30% v/v, Prolabo) en un microondas operando a 800 W (MARS, CEM, Vertex). La cuantificación se realizó mediante un espectrómetro de fluorescencia atómica con vapor frío, (Millennium Merlin PSA 10.025, PSA Analytical).

2.4. Determinación de Se. Las muestras cocinadas (1 g) y las fracciones bioaccesibles (10 mL) fueron tratadas con 1 mL de agente de mineralización [20% m/v MgNO₃ (VWR) + 2% m/v MgO (Prolabo)] y 5 mL de 7 mol/L HNO₃ (v/v). Posteriormente se evaporaron en un baño de arena hasta sequedad y se mineralizaron empleando un horno mufla a 425 ± 25 °C. Para la cuantificación se utilizó un espectrómetro de fluorescencia atómica con generación de hidruros (Millennium Merlin, PSA Analytical).

2.5. Análisis estadístico. El análisis estadístico se realizó mediante el análisis de varianza (ANOVA) de uno o dos factores con comparaciones múltiples post hoc empleando el test HSD de Tukey (SigmaPlot, versión 12). Las diferencias se consideraron significativas con p<0.05.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Contenidos de Hg y Se en pez espada cocinado. Los contenidos de Hg en las muestras analizadas oscilan entre 0.23 y 2.82 mg/kg peso fresco (pf). Tras el cocinado, el 40% de las muestras superan el límite de Hg permitido por la legislación vigente en España para esta especie de pescado (1 mg/kg pf, Reglamento CE No 1881/2006). El consumo de una ración de este pescado (150 g) supondría una ingesta de MeHg entre 35 y 423 µg. La Organización Mundial de la Salud establece una ingesta tolerable (IST) para MeHg de 1.6 µg/kg de peso corporal/semana (FAO/WHO, 2006). Este valor equivale a 140 µg/semana para un adulto de 65 kg de peso corporal y 40 µg/semana para niños con 25 kg de peso. El consumo semanal de una ración de alguna de las muestras de pez espada del presente estudio, superaría ampliamente esta ingesta recomendada.

Por otro lado, los resultados obtenidos han evidenciado que el pez espada es una fuente importante de selenio (0.17 y 0.98 mg/kg pf). El consumo de las muestras analizadas

supondría un aporte de selenio entre 26 y 147 $\mu\text{g}/\text{día}$, que supliría en la mayoría de los casos las ingestas diarias recomendadas (55-70 $\mu\text{g}/\text{día}$; WHO 2011).

Se ha puesto de manifiesto que la presencia de selenio disminuye el efecto tóxico del mercurio (Raymond y Ralston, 2006). Algunos estudios indican que la relación molar Hg/Se en la dieta es un parámetro más adecuado que las concentraciones individuales de Hg a la hora de realizar estimaciones sobre los riesgos asociados a la exposición a este contaminante (Kaneko y Ralston, 2007). En concreto, se ha puesto de manifiesto que ratios Hg/Se inferiores a la unidad suponen un menor efecto tóxico del Hg (Raymond y Ralson, 2006). En el presente estudio las relaciones molares Hg/Se en el pescado cocinado varían entre 0.19 y 2.28. De las 13 muestras que superan el límite legislado para Hg, sólo 4 presentan un ratio molar superior a la unidad. Estas muestras que no deberían comercializarse por sus altos contenidos de Hg, presentan sin embargo ratios molares Hg/Se adecuados, que podrían indicar un menor riesgo potencial para el consumidor.

3.2. Bioaccesibilidad de Hg y Se. Los contenidos de Hg solubilizados tras la digestión gastrointestinal oscilan entre 0.21 y 1.07 mg/kg pf. La bioaccesibilidad del Hg presenta una elevada variabilidad (14-85%). La bioaccesibilidad del Se (46-100%) es mayor que la observada para el Hg y los contenidos de Se bioaccesible varían entre 0.37-0.63 mg/kg pf.

La solubilización del Hg y Se en el pez espada se produce principalmente durante la etapa gástrica. La etapa intestinal no afecta la solubilización de Se, sin embargo disminuye significativamente la de Hg. Los ratios molares de Hg/Se en la fracción bioaccesible obtenida tras la digestión son en todas las muestras inferiores a la unidad (0.15 y 0.97). Por tanto, si se tiene en cuenta el contenido bioaccesible, el riesgo asociado a la ingesta de Hg disminuye ostensiblemente respecto al cálculo realizado en base a contenido en el producto cocinado.

3.3. Influencia de los parámetros de la digestión en la solubilización de Hg y Se.

3.3.1. Parámetros de la etapa gástrica

pH. Los resultados ponen de manifiesto que el pH es un factor determinante, especialmente en la bioaccesibilidad del Hg, ya que a pH mayores o iguales que 4 este elemento traza no se solubiliza durante la digestión. Para el Se, el descenso es menos acentuado pasando de una solubilización del 100% a pH 2 a un 60% a pH 4. A partir de pH 4, la bioaccesibilidad de Se no es dependiente del pH.

Concentración de pepsina. La ausencia de pepsina en la etapa gástrica conlleva solubilizaciones muy bajas de Hg (x%) y de Se (y%). El aumento de la concentración, no afecta a la bioaccesibilidad de Se; sin embargo aumenta significativamente el Hg solubilizado

3.3.2. *Parámetros de la etapa intestinal.*

Concentración de sales biliares. La presencia de sales biliares conlleva una disminución de la cantidad de Hg solubilizada [sin sales biliares: (34-62%); 3 g sales biliares/100 g: (5-11%)]. En el Se ocurre todo lo contrario, las sales biliares favorecen su solubilización [sin sales biliares: (49-78%); 3 g sales biliares/100 g: (73-82%)].

Concentración de la lipasa pancreática. La adición de lipasa pancreática a la digestión intestinal supone un incremento de la bioaccesibilidad de ambos elementos traza, más evidente para el Hg (lipasa 40%; con lipasa 60%). El uso conjunto de sales biliares y lipasa, conlleva una reducción en un 10%, de la bioaccesibilidad, respecto al uso únicamente de lipasa.

El presente trabajo muestra la importancia de la bioaccesibilidad en la evaluación de la seguridad alimentaria. Sin embargo, la evaluación de este parámetro es un tema en continuo debate. No existe un método universal, y en la mayoría de los métodos empleados no están suficientemente contrastados. Por otro lado, los modelos estáticos, más empleados por su sencillez, no tienen en cuenta las modificaciones de parámetros que ocurren *in vivo* durante el proceso digestivo y que podrían ser determinantes en la solubilización. Así, la mayoría de modelos estáticos mantiene el pH cercano a 2 durante todo el período de la etapa gástrica. Sin embargo, tras una ingesta se produce un aumento del pH estomacal, que dependiendo del alimento y el individuo puede llegar a alcanzar valores cercanos a la neutralidad en los primeros momentos (Dressman et al., 1990). Los resultados obtenidos en el presente trabajo muestran que la mayor solubilización de Hg y Se se produce a pHs ácidos, por tanto, el mantenimiento del pH en valores cercanos a 2 durante todo el proceso gástrico, tal y como ocurre en la mayoría de los métodos estáticos, podría conllevar sobreestimaciones de la bioaccesibilidad ya que favorece la solubilización, especialmente del Hg.

Antecedentes previos indican que ambos elementos traza se encuentran mayoritariamente en la fracción proteica de los alimentos, unidos probablemente a través de enlaces covalentes con grupos tioles. Por tanto, su solubilización desde la matriz requiere al menos en parte de una actividad proteasa. La posible reducción de la solubilización a pHs menos ácidos puede deberse a una menor actividad de la pepsina gástrica, cuyo pH óptimo oscila entre 1.5 y 2.5 (Piper y Fenton, 1965). Los ensayos realizados en ausencia de pepsina a pH 2, indican claramente que la solubilización de Hg y Se depende de su actividad, ya que su solubilización se reduce de forma significativa en ausencia de este enzima. Podemos por tanto concluir, que la pepsina es un factor importante en la solubilización de ambos

elementos y por tanto, es de esperar que si su actividad se reduce debido a un aumento del pH se vea disminuida la bioaccesibilidad de estos elementos.

Otro parámetro importante en la digestión gastrointestinal, especialmente en los alimentos con una importante proporción de lípidos, son las sales biliares (Maldonado-Valderrama et al., 2011). El pez espada es un producto pesquero con contenidos importantes de lípidos (5-9%) y por tanto sería de esperar que la presencia de sales biliares aumentara la bioaccesibilidad de los elementos que lo componen. Así ocurre para el selenio, que experimenta un aumento en presencia de contenidos biliares semejantes a los presentes en el intestino durante la digestión de alimentos con altos contenidos en grasa. Sin embargo, se observa el efecto contrario para el Hg, donde la presencia de sales biliares reduce el Hg solubilizado tras la digestión. Se ha puesto de manifiesto que el metilmercurio presenta afinidad por la taurina (Hoban, 2008), aminoácido que forma parte de ácidos biliares conjugados, tales como el taurocolato, el desoxitaurocolato y el kenodesoxitaurocolato. Algunas de las sales de estos ácidos conjugados tienden a precipitar en determinadas condiciones, y este podría ser el caso de las sales de Hg.

Finalmente se ha ensayado el efecto de la lipasa pancreática en la solubilización de ambos elementos. La lipasa es importante en la digestión de lípidos, la cual ocurre mayoritariamente en el intestino. Este componente no se emplea de forma habitual en los métodos de digestión *in vitro*, y si se emplea no se ensaya en sus condiciones óptimas de actividad. En el presente estudio se ha evidenciado que el empleo de las concentraciones de lipasa presentes en el duodeno tras la ingesta de un alimento rico en lípidos supone una mayor solubilización de Hg. También se ha evidenciado, que las sales biliares disminuyen este efecto, tal y como era de espera si tenemos en cuenta que las sales pueden unirse a la lipasa e inactivarla en ausencia de colipasa. Por tanto este factor, que no suele tenerse en cuenta en los modelos estáticos, puede afectar la solubilización final de los elementos traza presentes en el pez espada.

5. CONCLUSIONES

La estimación del riesgo asociado a la ingesta de Hg y Se a través de los alimentos varía al considerar la bioaccesibilidad en lugar de los contenidos en el alimento cocinado. Tras la digestión gastrointestinal, la bioaccesibilidad del Hg es inferior a la del Se, observándose una relación molar Hg/Se en la fracción bioaccesible inferior a la unidad en todas las muestras de pez espada analizadas. Esta bioaccesibilidad está afectada por las condiciones de ensayo del modelo gastrointestinal utilizado. La solubilización del mercurio

es altamente dependiente del pH y de la concentración de pepsina durante la etapa gástrica, y de la concentración de sales biliares y la presencia de lipasa en la etapa intestinal. El selenio presenta un comportamiento distinto ya que su solubilización no es tan dependiente de la modificación de los parámetros de la digestión.

Los resultados obtenidos ponen de manifiesto la necesidad de investigar en profundidad como la variación que *in vivo* presentan diferentes parámetros de la digestión gastrointestinal puede afectar a la bioaccesibilidad de los elementos traza y en consecuencia a la utilidad de este tipo de estudios *in vitro* para la estimación del riesgo asociado al consumo de ciertos alimentos.

6. REFERENCIAS

- Dressman, J. B., Berardi, R. R., Dermentzoglou, L. C., Russell, T. L., Schmaltz, S. P., Barnett, J. L., Jarvenpaa, K. M., 1990. *Pharmaceutical Research*, 7, 756–761.
- FAO/WHO/Expert Committee on Food Additives. Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants, 2006.
- Grandjean, P., Satoh, H., Murata, K., Eto, K., 2010. *Environmental Health Perspectives*, 118, 1137–1145.
- Grandjean, P., Herz, K. T., 2011. *The Mount Sinai Journal of Medicine*, 78, 107–118.
- Hoban, C. A., 2008. Mechanisms for methylmercury cell-to-bath transport by the basolateral membrane of the rabbit proximal tubule. Georgia State University, Biology dissertations, paper 49.
- IARC (International Agency for Research on Cancer). Grupo 2B, Volumen 58, 1993.
- Kaneko, J. J, Ralston, N. V. C. (2007). *Biological Trace Elements Research*, 119, 242–254.
- Laparra, J.M., Velez, D., Montoro, R., Barberá, R., Farré, R., 2003. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 6080–6085.
- Maldonado-Valderrama, J., Wilde, P., Macierzanka, A., Mackie, A. 2011. *Advance in colloid and interface science*, 165, 36–46.
- Moreda-Pineiro, J., Moreda-Pineiro, A., Romaris-Hortas, V., Moscoso-Perez, C., Lopez-Mahia, P., Muniategui-Lorenzo, S., Bermejo-Barrera, P., Prada-Rodríguez, D., 2011. *TrAC-Trends in Analytical Chemistry*, 30, 324–345.
- Newland, M. C., Reed M. N., LeBlanc, A., Donlin, W. D., 2006. *Neurotoxicology*, 27, 710–720.
- WHO (World Health Organization). Selenium in Drinking Water, 2011.
- Piper, D. W., Fenton, B. H., 1965. *Gut*, 6, 506–508.
- Raymond, L. J., Ralston, N. V. C., 2006. *Neurotoxicology*, 27, 1172–1173.
- Reglamento CE No 1881/2006. Diario Oficial de la Unión Europea.
- SANCO (Directorate General for Health and Consumer Affairs). Assessment of the dietary exposure to arsenic, cadmium, lead and mercury of the population of the EU Member States, 2004.

HONGOS ENDOFITOS APLICADOS EN RECUBRIMIENTO A SEMILLAS DE SOJA COMO BIOPROTECTORES FRENTE A *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goidanich

S. Larran¹, M.R. Simón¹, M.P. Santamarina³, S. Giménez³, A. Perello^{1,2}

¹Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Nacional de La Plata, Buenos Aires, Argentina; ²Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Argentina; ³Departamento de Ecosistemas Agroforestales. Escuela Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio Rural, Universidad Politécnica de Valencia.

La soja ha sido utilizada por cientos de años por los chinos para consumo humano, animal como en el tratamiento de algunas enfermedades (Sinclair & Backman, 1989). Su grano contiene entre 20 y 25% de hidratos de carbono, 13 a 24% de aceite y entre 35 y 50% de proteínas. Entre éstas las glicininas (albúminas y globulinas) constituyen alrededor del 65 y 85% de la proteína total del grano (Satorre *et al.*, 2010). El procesamiento de soja conduce a la obtención de dos productos principales: aceite y harina. La producción mundial de este grano alcanzó los 238,73 y 268,00 millones de t en las campañas 2011/12 y 2012/2013 y en Argentina la cosecha de esta última campaña fue de 48,5 millones de t, con una superficie sembrada de 19,7 millones de ha ocupando el tercer lugar en el mundo como productor y exportador de granos y el primero como exportador de aceite y harina (USDA, 2013). Debido a la importancia mundial de este cultivo, la seguridad alimentaria ha ganado prioridad en la agenda internacional, discutiéndose en el mundo distintas estrategias para aumentar los rendimientos. Teniendo en cuenta que el potencial de la producción agrícola es el resultado de la interacción de una serie de factores bióticos y abióticos entre los cuales se encuentran las enfermedades de las plantas. El panorama sanitario de la soja en la Argentina ha cambiado en los últimos años, siendo actualmente las enfermedades responsables de severas reducciones en el rendimiento y la calidad (Couretot & Ivancovich, 2009). En Argentina, el número de patologías identificadas y sus respectivos niveles de infección se ha venido incrementando con los sucesivos años de cultivo, aunque los problemas más serios se manifestaron recién a partir de la década del 90 (Ivancovich *et al.*, 2002; Ploper *et al.*, 2003; Sillón *et al.*, 2006; Sillón, 2012). Las enfermedades que afectan a la raíz y tallo de la soja, generalmente ocasionadas por patógenos de suelo y/o transmisibles por semillas, conforman un grupo potencialmente peligroso según las regiones o situaciones productivas (Sillón, 2012). La podredumbre carbonosa del tallo ocasionada por *Macrophomina phaseolina* (MP) está presente en todas las áreas sojeras del mundo, predominando en las regiones tropicales, en donde el cultivo está expuesto a condiciones de estrés en cualquier etapa de su desarrollo.

MP es un hongo polífago que afecta cerca de 500 especies vegetales, de una amplia variabilidad morfológica, fisiológica, patogénica y genética, por lo cual ha podido adaptarse a diferentes condiciones ambientales y tener una amplia distribución geográfica (Srivastava *et al.*, 2001). Afecta cultivos de América del Norte y Sur, Asia, Australia, África y algunas partes de Europa. En la Argentina, ha sido siempre considerada de poca importancia, sin embargo, al extenderse el área cultivada con soja a regiones no tradicionales, de características climáticas predisponentes para el desarrollo de la enfermedad y suelos pobres, está surgiendo como de gran incidencia. Es una enfermedad considerada “oportunista” que al estar siempre presente en toda la zona sojera Argentina, cuando ocurren condiciones favorables para el desarrollo del patógeno, puede llegar a ser limitante para vastas regiones del país. Está asociada principalmente con plantas adultas, aunque afecta en todas las etapas del desarrollo de la soja, ocasionando la podredumbre de la semilla y debilitando o matando plántulas. En el marco del manejo integrado de las enfermedades de las plantas se buscan alternativas tendientes al uso racional de productos fitosanitarios, que causen el mínimo impacto ambiental y económico. Por ello, el objetivo del trabajo fue evaluar el potencial de diferentes especies de *Trichoderma*, aisladas previamente como endófitos de plantas asintomáticas de soja, como bioprotectores de semilla frente a MP. Las cepas utilizadas fueron: *Trichoderma koningii*, tres cepas de *T. harzianum*, *T. aureoviride*, *T. pseudokoningii* y dos cepas de *T. longibrachiatum*, en bioensayos en laboratorio y en invernáculo. Los ensayos fueron realizados en el Centro de Investigaciones de Fitopatología (CIDEFI) de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de la Universidad Nacional de La Plata, Argentina.

Evaluación de la capacidad antagónica de especies de *Trichoderma* frente a *M. phaseolina* en condiciones controladas de laboratorio

MP se sembró en cajas de Petri conteniendo agar de papa glucosado (APG) al 2% adicionado de 250 mg/L de cloranfenicol, manteniéndose a $28 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 4 días. Las especies de *Trichoderma* se multiplicaron en el mismo medio de cultivo y se incubaron a $24 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 7 -15 días. El recubrimiento de las semillas fue preparado a partir de las colonias de *Trichoderma* spp. desarrolladas en APG a las que se les agregó agua estéril realizando un raspado para la extracción de los conidios. Luego, las suspensiones de cada endófito fueron filtradas y estandarizadas a concentraciones de 1×10^7 conidios/mL con hematocitómetro de Neubauer, adicionándose 0.05 % (v/v) de Tween 20. De cada suspensión se tomaron 2 mL y se adicionaron 18 mL de agar agua al 0,25% esterilizado, colocándose en vasos de precipitado junto con 30 semillas en agitador magnético por 20 minutos. A

continuación, se filtraron las semillas y se dejaron secar en cámara de flujo laminar durante 12 hs (Perelló *et al.*, 2006). Luego las semillas recubiertas fueron directamente colocadas en las cajas de Petri colonizadas con MP de acuerdo a los siguientes tratamientos: T1: semillas con *T. koningii*; T2: semillas con *T. harzianum* (Th1); T3: semillas con *T. harzianum* (Th2); T4: semillas con *T. harzianum* (Th3); T5: semillas con *T. aureoviride*; T6: semillas con *T. pseudokoningii*; T7: semillas con *T. longibrachiatum* (T11); T8: semillas con *T. longibrachiatum* (T12), además de dos testigos: T9: (testigo 1): semillas con agar agua en medio colonizado por MP y T10: (testigo 2): semillas con agar agua sembradas en medio APG al 2%. Se colocaron seis semillas en cada caja de Petri realizándose cinco repeticiones para cada uno de los tratamientos y se incubaron a 28 ± 2 °C con 12 hs de luz y 12 horas de oscuridad durante seis días. La evaluación consistió en la cuantificación del daño causado por el patógeno en los distintos tratamientos y en comparación con los testigos, realizándose el recuento de semillas germinadas y midiéndose el largo de las radículas. Los datos fueron registrados y procesados realizándose un análisis de la varianza, comparando las medias mediante el Test de LSD ($P=0.05$).

Bioensayo en condiciones semicontroladas (*in vivo*)

El ensayo consistió en la evaluación de la capacidad antagónica de las cepas de *Trichoderma* utilizadas en el ensayo anterior frente a MP en plántulas de soja, evaluando el porcentaje de semillas germinadas y la presencia de sintomatología de la enfermedad a los 21 días.

El patógeno se multiplicó en arroz blanco colocando 10 gramos de arroz en cajas de Petri y 8 ml de agua destilada y se esterilizó. Luego, se sembraron discos del patógeno de 1 cm sobre el arroz y se incubó en estufa a 28 ± 2 °C durante 12 días en condiciones de oscuridad. El arroz colonizado se dejó orear en cámara de flujo laminar durante 1 día, se molió y se esparció sobre papel de filtro para su total secado en estufa a 28 ± 2 °C durante 24 hs. Luego, se realizó una nueva molienda hasta obtener un polvo fino de color negro.

Las cepas de *Trichoderma* se multiplicaron y las semillas fueron recubiertas con las suspensiones fúngicas de igual manera que en el ensayo en laboratorio.

El sustrato para el ensayo consistió de una mezcla de tierra estéril, arena y perlita en una proporción de 50:35:15: Esta preparación se tinalizó en autoclave en bolsas de nylon a 120°C durante 20 minutos, manteniéndose allí hasta su utilización. El sustrato se colocó en bandejas multimacetas de 50 celdas de 9 cm x 5 cm cada una. El ensayo fue diseñado con los 10 tratamientos con 20 repeticiones cada uno. La inoculación del sustrato para todos los

tratamientos excluyendo el T10 se realizó incorporando 0,1 gr de inóculo de MP junto a la semilla en el mismo momento de la siembra (Fig. 1).

El ensayo se llevó a cabo con temperaturas entre 25-30/12-15°C (día/noche), regando artificialmente para mantener un nivel de humedad menor al óptimo. Se realizó un seguimiento permanente evaluando el porcentaje de semillas germinadas y analizando la presencia de sintomatología hasta los 21 días. Los datos fueron registrados y procesados realizándose un ANOVA, comparando las medias mediante el Test de LSD (P=0,05).

Los resultados obtenidos en el bioensayo *in vitro* mostraron diferencias significativas entre los tratamientos en el número de semillas germinadas y en el largo de radícula. Los valores más altos en la variable semillas germinadas fueron con *T. longibrachiatum*, cepas T11 y T12 y *T. harzianum* cepa Th1 y para el largo de radícula con las cepas de *T. longibrachiatum*, *T. koningii* y *T. harzianum* cepa Th1 (Tablas 1 y 2).

En cuanto al ensayo en invernáculo, los tratamientos con aplicación de las diferentes cepas de *Trichoderma*, contribuyeron a mejorar el porcentaje de semillas germinadas en relación al testigo enfermo (T9). El efecto varió con la cepa testada, alcanzándose valores de germinación del 100%, mediante la protección conferida por las cepas de *T. koningii* y *T. harzianum* (Th1) (Tabla 3). El recubrimiento de semillas con especies de *Trichoderma* (excepto para *T. koningii*) contribuyó significativamente a reducir la sintomatología observada en los cotiledones. En particular, son destacables las dos cepas de *T. longibrachiatum* (T11 y T12) por su buen comportamiento respecto al resto. Se observaron síntomas necróticos en cotiledones (Fig.2) y detención del crecimiento y/o muerte de las plántulas al estado cotiledonear (Fig. 3). Cinco de las ocho cepas de *Trichoderma* testeadas contribuyeron significativamente a reducir esta sintomatología en un 50%. *T. harzianum* (Th1) brindó una protección total (100 %) de las plántulas. El 20% de las plántulas correspondientes al testigo enfermo desarrollaron plántulas débiles o más pequeñas que el testigo sano (Fig. 4), mostrando los síntomas característicos de la podredumbre carbonosa. Excepto el efecto de *T. longibrachiatum* (T12), la protección brindada con especies de *Trichoderma* fue importante en este aspecto, destacándose el efecto de las cepas de *T. harzianum*.

En conclusión, en ambos ensayos la mayoría de las especies mejoraron el porcentaje de semillas germinadas y redujeron el daño de la enfermedad en relación al testigo, se destacan el comportamiento de las especies *T. koningii*, *T. harzianum* y *T. longibrachiatum*. De acuerdo a los resultados obtenidos, la protección de semillas con estas especies

potenciales biocontroladores de *Macrophomina phaseolina* se constituyen en alternativas al uso de fungicidas.

BIBLIOGRAFÍA

- Couterot, L. e Ivancovich, A. 2009. Taller de diagnóstico y manejo de enfermedades de soja. Programa Nacional de Roya de la Soja. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Estación Experimental Agropecuaria Pergamino Ing. Agr. Walter Kugler. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos. Argentina. Pp. 5-10.
- Ivancovich, A.; Botta, G.; Dándrea, F.; Marchi, L.; Rostagno, J. Y Sillón, M. 2002. Relevamiento de enfermedades de fin de ciclo de la soja en áreas sojeras de las provincias de Buenos Aires y Santa Fe (Argentina)- pautas para su manejo a través del uso de fungicidas. II Congreso Brasileiro de soja e do Mercosoja 2002. Resumos: Pag. 30; y XI Jornadas Fitosanitarias Argentinas. Universidad Nacional de Río Cuarto. Actas de resúmenes Pag.59.
- Perelló, A., Mónaco, C., Moreno, M.V., Simón, M.R. and Cordo, C. 2006. *Trichoderma* spp. isolates as potential biological agents for foliar wheat diseases under field conditions in Argentina. *Biocontrol Science and Technology* 16: 803-813.
- Ploper, L.D.; Yorinori, J.T.; Morel Paiva, W. 2003. Importancia de las enfermedades de la soja en el Mercosur. In: XI Congreso Nacional de AAPRESID, Rosario, Argentina. Actas p. 163-174.
- Satorre, E.H., Benech Arnold, R.L., Slafer, G.A., de la Fuente, E.B., Miralles, J. D.; Otegui, M.E. y Savin, R. 2010. Producción de Granos. Bases funcionales para su manejo. Editorial Facultad de Agronomía. Universidad de Buenos Aires. 4° Reimpresión. Pp. 783.
- Sillón, M.; Albrecht, J.; Weder, E.; Ivancovich, A.; Borsarelli, J.; Brusa, N.; Galleto, E.; Tunineti, R.; Recanatesi, J.; Fontanetto, H.; Godio, G.; Marinone, D.; Abba, F.; Gauchat, M. Y Baigorri, H. 2006. Evolución de la situación sanitaria del cultivo de soja en el centro de Santa Fé y su manejo: campañas 2002/03 a 2005/06. III Congreso de soja del Mercosur Mercosoja 2006. Pág. 344-347.
- Sillón, M. 2012. Enfermedades del cultivo de soja. Pp. 303-316. En: El cultivo de soja en Argentina. Baigorri, H.E.J. y Salado Navarro, D.L.R. Vicente López, Agroeditorial. Pp. 400.
- Sinclair, J.B. and Backman, P.A. eds. Compendium of soybean diseases. 3 Ed. Saint Paul, MN, Estados Unidos, APS Press.
- Srivastava, A.K., Sing, T., Jan, T.K., Arora, D.K. 2001. Microbial colonization of *Macrophomina phaseolina* and suppression of charcoal rot of chickpea. In *Microbes and plants*. Edited by A. Sinha. Vedams eBooks (P) Ltd., New Delhi, India. Pp. 269-319.
- United States Department of Agriculture (USDA). 2012. Grain: World Markets and Trade. Foreign Agricultural Service Circular. Disponible en: <http://www.fas.usda.gov/psdonline/circulars/grain.pdf>

Tabla 1: ANOVA del número de semillas germinadas y del largo de radícula de soja germinadas en los 10 tratamientos evaluados

Fuente de variación	de	Grados de libertad	Número de semillas		Largo de radícula	
			Cuadrados medios	Probabilidad de F	Cuadrados medios	Probabilidad de F
Tratamientos		9	12,70	<0,001	2,38	0,003
Repeticiones		4	1,53	0,583	0,26	0,814
Residuos		36	2,12		0,66	
Total (corregido)		49				

Tabla 2: Medias del número de semillas germinadas y largo de radícula de semillas de soja para los 10 tratamientos evaluados

Tratamientos	Número de semillas germinadas	Largo de radícula
T1	1,6 ab	0,70 cd
T2	2,2 bc	0,65 bc
T3	1,8 abc	0,61 bcd
T4	1,0 ab	0,22 cd
T5	1,4 ab	0,49 cd
T6	1,6 ab	0,63 cd
T7	2,6 bc	1,31 bc
T8	3,6 c	1,77 b
T9	0,0 a	0,00 d
T10	5,8 d	2,20 a

Tratamientos: T1: semillas con *T. koningii*; T2: semillas con *T. harzianum* (Th1); T3: semillas con *T. harzianum* (Th2); T4: semillas con *T. harzianum* (Th3); T5: semillas con *T. aureoviride*; T6: semillas con *T. pseudokoningii*; T7: semillas con *T. longibrachiatum* (T11); T8: semillas con *T. longibrachiatum* (T12); T9: (testigo 1): semillas con agar agua en medio colonizado por MP. T10: (testigo 2): semillas con agar agua sembradas en medio APG al 2%

Los valores de las medias seguidas por la misma letra en la misma columna no difieren significativamente de acuerdo a LSD ($P \leq 0,05$)

Tabla 3: Porcentaje de semillas germinadas y presencia de sintomatología en plántulas de soja en el bioensayo *in vivo* con la aplicación en semillas de los diferentes tratamientos con *Trichoderma* spp.

Tratamientos	Semillas germinadas	Plántulas con cotiledones manchados	Semillas germinadas detenidas y/o muertas en estado de cotiledón	Plántulas débiles, pequeñas/muertas
T1	100	45	15	10
T2	100	15	0	0
T3	95	15	5	0
T4	90	10	5	0
T5	85	10	15	5
T6	85	15	5	5
T7	80	0	5	5
T8	95	0	5	20
T9	80	45	10	20
T10	100	0	0	0



Fig. 1: Bioensayo en condiciones semicontroladas



Fig. 2: Cotiledones de semillas de soja con síntomas característicos de la podredumbre carbonosa ocasionada por *M. phaseolina*

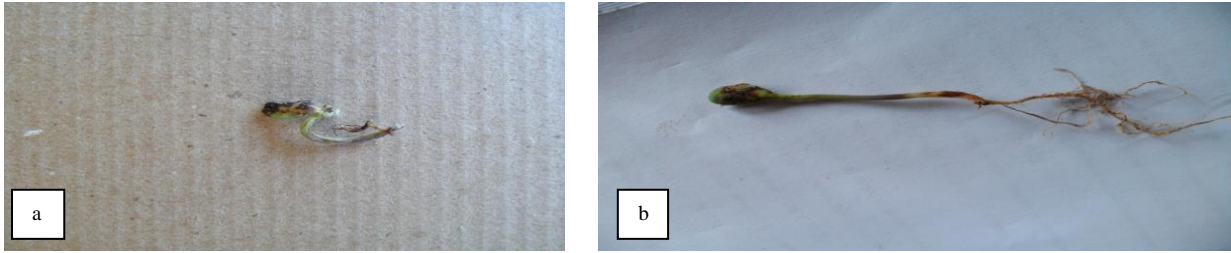


Fig. 3 a y b: Semillas germinadas detenidas en estado de cotiledón



Fig. 4.: Síntomas de podredumbre carbonosa. a: en la base del tallo; b: plántula con podredumbre basal (izq.) y plántula sana (der.); c: plántulas con escaso desarrollo radicular; d: plántulas de tamaño reducido, escaso desarrollo radicular, síntomas en la base del tallo y cotiledones manchados (izq.); plántulas testigo (der.)

EFFECTO DE LA ADICIÓN DE ACEITE DE COLZA O DE PESCADO EN LAS PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS Y ANTIMICROBIANAS DE PELÍCULAS COMESTIBLES DE QUITOSANO

Ángela Perdonés¹, Laura Sánchez-González², Elmira Arab-Tehrany², Maria Vargas¹, Amparo Chiralt¹

¹Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo (IIAD) – Universitat Politècnica de València, Spain. Camino de Vera s/n, 46022 Valencia, Spain

²Laboratoire d'Ingénierie des Biomolécules (LIBio). ENSAIA – Université de Lorraine. 2 avenue de la Forêt de Haye, TSA 40602, 54518 Vandœuvre-lès-Nancy Cedex, France.
anpermon@posgrado.upv.es

INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha experimentado un aumento en el interés por el desarrollo de materiales con capacidad de formación de película y con propiedades antimicrobianas intrínsecas que ayuden a mejorar la seguridad de los alimentos y su vida útil. Entre las biomoléculas activas en la naturaleza se encuentra el quitosano, polisacárido con gran potencial en la aplicación en alimentos debido a su biodegradabilidad, biocompatibilidad, actividad antimicrobiana, no toxicidad y excelente capacidad de formación de films (Li et al., 1992; Tharanathan et al., 2003). Sin embargo, el quitosano posee una permeabilidad al vapor de agua relativamente alta (Vargas et al., 2009). Esto hace necesario la adición de componentes hidrofóbicos, como lípidos, a las películas formadas por este tipo de hidrocoloides hidrofílicos.

El objetivo de este estudio fue obtener películas comestibles a base de quitosano, aceite de colza o pescado; y evaluar del efecto de la adición de dichos aceites en las propiedades físicoquímicas y antimicrobianas de las películas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para la obtención de las películas se utilizó quitosano de bajo peso molecular, Q (Sigma-Aldrich Chemie, Steinheim, Alemania), aceite de colza, C (The Solae Company, Solae Europe, Ginebra, Suiza) y aceite de pescado, P (Laboratoire d'Ingénierie des Biomolécules, Nancy, Francia). El quitosano, 1% p/p, se dispersó en una solución acuosa de ácido acético glacial (Sigma-Aldrich Chemie, Steinheim, Alemania) al 1% v/p. Para la obtención de las formulaciones con aceite, una vez disuelto el quitosano, se añadió C o P al 0.3% p/p. Las formulaciones se agitaron durante 10 minutos y se sonicaron a 40 kHz y 40%

de amplitud durante 240 s mediante un sonicador Vibra Cell 75115 (Bioblock Scientific, Illkirch, Francia). Las películas se obtuvieron mediante *casting*, vertiendo una cantidad de formulación sobre placas Petri, tal que la cantidad de quitosano se mantuvo constante (28 g Q/m²). Las películas se acondicionaron en un desecador a 20°C y 54% de humedad relativa (HR), mediante una disolución saturada de nitrato de magnesio 6-hidratado (Sigma-Aldrich Chemie, Steinheim, Alemania) durante una semana, antes de realizar los diferentes análisis.

La permeabilidad al vapor de agua (PVA) de las películas fue determinada a partir de una modificación del método gravimétrico ASTM E96-95 (1995) para películas hidrofílicas (Gennadios et al., 1994), para un gradiente de humedad relativa de 54/100% y 20°C. Para cada formulación, 3 muestras circulares fueron montadas sobre copas de aluminio de 3.5 cm de diámetro (Payne, elcometer SPRL, Hermelle /s Argenteau, Bélgica, según el procedimiento descrito por Vargas et al (2011). Los ensayos mecánicos se realizaron mediante un analizador de textura LRX (Lloyd instruments, AMETEK, Reino Unido). Las muestras (25 x 100 mm) fueron colocadas dejando una separación entre las pinzas de 50 mm y el ensayo se realizó a una velocidad de 50 mm·min⁻¹ (ASTM standard method D882, 2001). El esfuerzo de fractura (TS), la elongación (E), así como el módulo de elasticidad (ME) de las películas fueron evaluados en al menos 9 muestras de cada una de las formulaciones. La medida del espesor de las películas se realizó con un micrómetro electrónico digital (0-25 mm, 1 µm). El color de las películas se determinó a partir de los espectros de reflexión de las películas (Espectrocolorímetro CM-3600d, Minolta Co, Tokyo, Japón). Se midieron 9 muestras de cada formulación sobre un fondo estándar blanco y uno negro. Se aplicó la teoría Kubelka-Munk para obtener la transmitancia interna (Ti) a partir de la reflectancia de las muestras (Hutchings, 1999). A partir del espectro infinito de reflexión, se obtuvieron las coordenadas CIEL*a*b* (CIE, 1986) utilizando como sistema de referencia el iluminante D65/observador 10° y se determinó el tono, croma, índice de blancura (IB). Para llevar a cabo el análisis microbiológico se realizó una modificación del método propuesto por Kristo (2008). *Listeria monocytogenes* (CIP 82110), suministrada por Collection Institut Pasteur (CIP, Francia), fue reactivada transfiriendo 10 µl de la bacteria a 10 ml de caldo de triptona y soja (CTS, Biokar Diagnostics, Beauvais, Francia). Se incubó a 37°C durante 24h y 10 µl del cultivo obtenido se transfirieron a 10 ml de CTS y se incubó a 37°C hasta que se alcanzó la fase exponencial de crecimiento. Este cultivo (10⁵ UFC/cm²) se utilizó para inocular la superficie de placas de agar triptona, soja y extracto de levadura (ATS-EL, Biokar Diagnostics, Beauvais, Francia) como alimento modelo. Las películas

fueron colocadas recubriendo la totalidad de la superficie inoculada. Como control se utilizaron placas de ATS-EL inoculadas y no recubiertas. Inmediatamente después de la inoculación y transcurridos 1, 3 y 7 días de almacenamiento a 5°C, se realizaron recuentos *L. monocytogenes* en ATS-EL. Todos los análisis se llevaron a cabo por duplicado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 1 muestra los valores obtenidos para el espesor, la permeabilidad al vapor de agua (PVA) y las propiedades mecánicas de las películas a 20°C y 54% HR. Puesto que se mantuvo constante la cantidad de quitosano en las diferentes formulaciones, las películas que contenían lípido en su composición (36 g/m²), presentaron unos valores de espesor significativamente ($p < 0.05$) superiores a los obtenidos para las películas Q. La incorporación de aceite en las películas Q mejoró significativamente ($p < 0.05$) las propiedades barrera al vapor de agua, obteniendo una reducción en la PVA del 14%. No se detectaron diferencias significativas por efecto del tipo de aceite. Souza et al., (2011) observaron unas reducciones entre 60 y 65%, al añadir aceite de arroz refinado y aceite de pescado refinado a la matriz de quitosano, siendo este último el que dio lugar al mayor descenso de la PVA.

El módulo de elasticidad (EM), esfuerzo de tracción (TS) y elongación (E) en el momento de la rotura se muestran en la Tabla 1. La incorporación de aceite provocó un descenso significativo ($p < 0.05$) del EM y de TS. Resultados similares fueron observados por Sánchez-González et al., (2011) en películas de quitosano y diferentes concentraciones de aceites esenciales. La adición de P en la matriz de quitosano provocó un descenso de EM y TS más marcado que C, siendo las diferencias significativas ($p < 0.05$) para el parámetro TS.

El espectro de transmitancia interna (Ti) de las películas se muestra en la Figura 1. La adición de aceite en la matriz polimérica no afectó a la forma del espectro. Se observó un descenso significativo en Ti ($p < 0.05$) de las películas Q:C y Q:P con respecto a Q. En la Tabla 2 se presentan los parámetros cromáticos y diferencia de color (ΔE) de las películas Q:C y Q:P con respecto a las Q. Ambos aceites provocaron un ligero descenso en los valores de luminosidad, índice de blancura y tono, así como un incremento significativo en la saturación de color. El tipo de aceite incorporado no tuvo efecto significativo en la diferencia de color con respecto a las películas Q.

La Figura 2 muestra el efecto de las películas sobre el crecimiento de *Listeria monocytogenes* en alimento modelo durante el almacenamiento en refrigeración. Todas las

películas mostraron un efecto bacteriostático, incluso bactericida durante el almacenamiento. La adición de aceite de colza no supuso cambios significativos. La adición de aceite de pescado dio lugar a un aumento de los recuentos microbianos.

CONCLUSIONES

La adición de aceite de colza o de pescado supuso un aumento de las propiedades barrera al vapor de agua de las películas de quitosano. La incorporación de aceites de colza o de pescado dio lugar a películas más frágiles y menos elásticas. La adición de aceite de colza no parece afectar a las propiedades antibacterianas de las películas de quitosano.

BIBLIOGRAFÍA

- ASTM. (1995). Standard test methods for water vapor transmission of materials. Standard designations: E96-95. In: Annual Book of ASTM Standards (pp. 406-413). Philadelphia: ASTM.
- ASTM. (2001). Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting. Standard D882. In: Annual Book of ASTM Standards (pp. 162-170). Philadelphia: ASTM.
- CIE (1986). Colorimetry. (2nd ed.). Paris: Commission Internationale de L'Eclairage. (Technical Report CIE 15.2).
- Gennadios, A., Weller, C. L., & Gooding, C. H. (1994). Measurements errors in water vapour permeability of highly permeable, hydrophilic edible films. *Journal of Food Engineering*, 21, 395-409.
- Hutchings, J. B. (1999). Food and colour appearance. (2nd ed.). Gaithersburg: Aspen Publication.
- Kristo, E., Koutsoumanis, K. P., & Biliaderis, C. G. (2008). Thermal, mechanical and water vapor barrier properties of sodium caseinate films containing antimicrobials and their inhibitory action on *Listeria monocytogenes*. *Food Hydrocolloids*, 22(3), 373-386.
- Li, Q., Dunn, E.T., Grandmason, E.W., Goosen, M.F.A., 1992. Applications and properties of chitosan. In: Goosen, M.F.A. (Ed.), *Applications of Chitin and Chitosan*. Technomic Publishing Co., Inc., pp. 3-29.
- 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, 246-253
- Souza, V.C., Monte, M.L., Pinto, L.A.A., 2011. Preparation of biopolymer film from chitosan modified with lipid fraction. *International Journal of Food Science and Technology*, 46, 1856-1862.
- Tharanathan, R., Kittur, F., 2003. Chitin - the undisputed biomolecule of great potential. *Critical Reviews in Food Science*, 43 (1), 61-87.

Vargas, M., Perdonés, A., Chiralt, A., Cháfer, M., & González-Martínez, C. (2011). Effect of homogenization conditions on physicochemical properties of chitosan-based film-forming dispersions and films. *Food Hydrocolloids*, 25, 1158-1164.

Tabla 1. Espesor, permeabilidad al vapor de agua (PVA) y módulo de elasticidad (EM), tensión de fractura (TS) y deformación en la fractura (E) de las películas. Media y (desviación estándar). Q: quitosano. C: aceite de colza. P: aceite de pescado.

Película	Espesor (μm)	PVA $\cdot 10^{11}$ ($\text{g}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{Pa}^{-1}$)	EM (MPa)	TS (MPa)	E (%)
Q	30 (2) ^a	121 (9) ^a	3059 (291) ^a	43 (73) ^a	10 (6) ^a
Q:C	41 (8) ^b	107 (7) ^{ab}	1970 (338) ^b	28 (7) ^b	8 (6) ^a
Q:P	43 (3) ^b	101 (10) ^b	1761 (224) ^b	33 (7) ^c	8 (5) ^a

^{a, b, c} Diferentes superíndices indican diferencias significativas entre formulaciones ($p < 0.05$).

Tabla 2. Coordenadas de color: luminosidad (L^*), croma (C^*_{ab}) y tono (h^*_{ab}), índice de blancura (IB) y diferencia de color (ΔE) con respecto a las películas Q. Media y (desviación estándar). Q: quitosano. C: aceite de colza. P: aceite de pescado.

Película	L^*	C^*_{ab}	h^*_{ab}	IB	ΔE
Q	85.6 (0.7) ^a	13.7 (0.4) ^a	92.94 (1.09) ^a	80.1 (0.4) ^a	-
Q:C	82.3 (0.5) ^b	17.8 (0.7) ^b	88.1 (0.6) ^b	75.3 (0.8) ^b	5.0 (0.8) ^a
Q:F	82.8 (0.5) ^b	18.23 (0.96) ^b	86.6 (0.9) ^c	74.7 (0.7) ^{bc}	5.9 (0.7) ^a

^{a, b, c} Diferentes superíndices indican diferencias significativas entre formulaciones ($p < 0.05$).

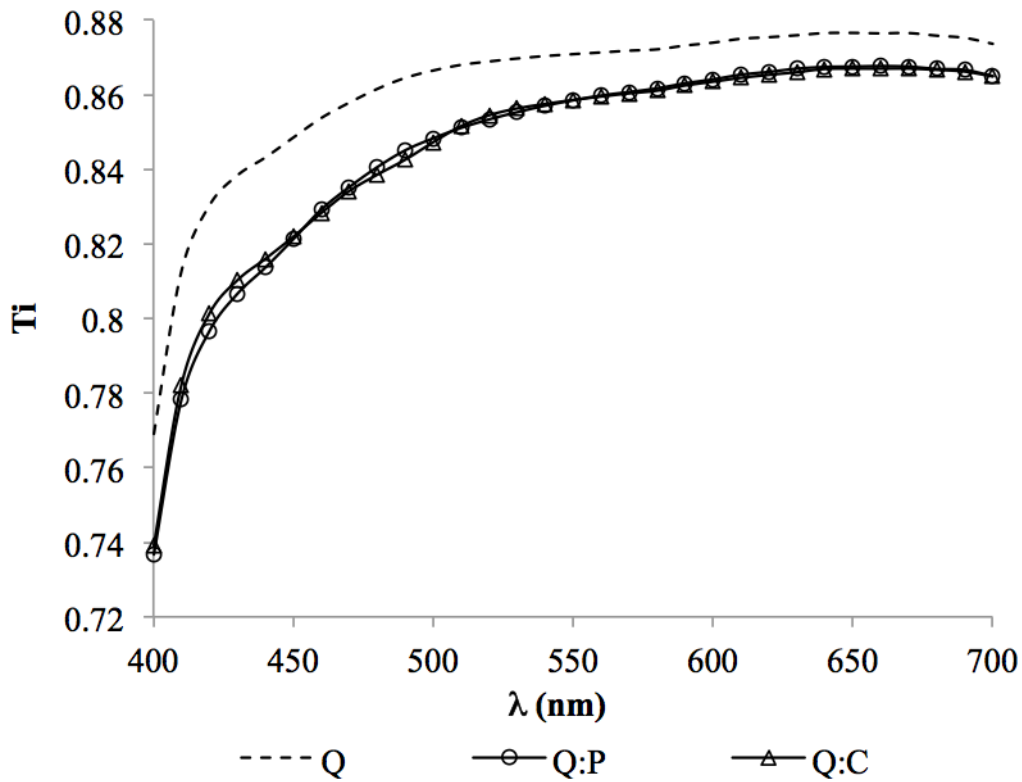


Figura 1. Espectros de transmitancia interna (Ti) de las películas a 20°C y 54% HR. Q: quitosano. C: aceite de colza. P: aceite de pescado.

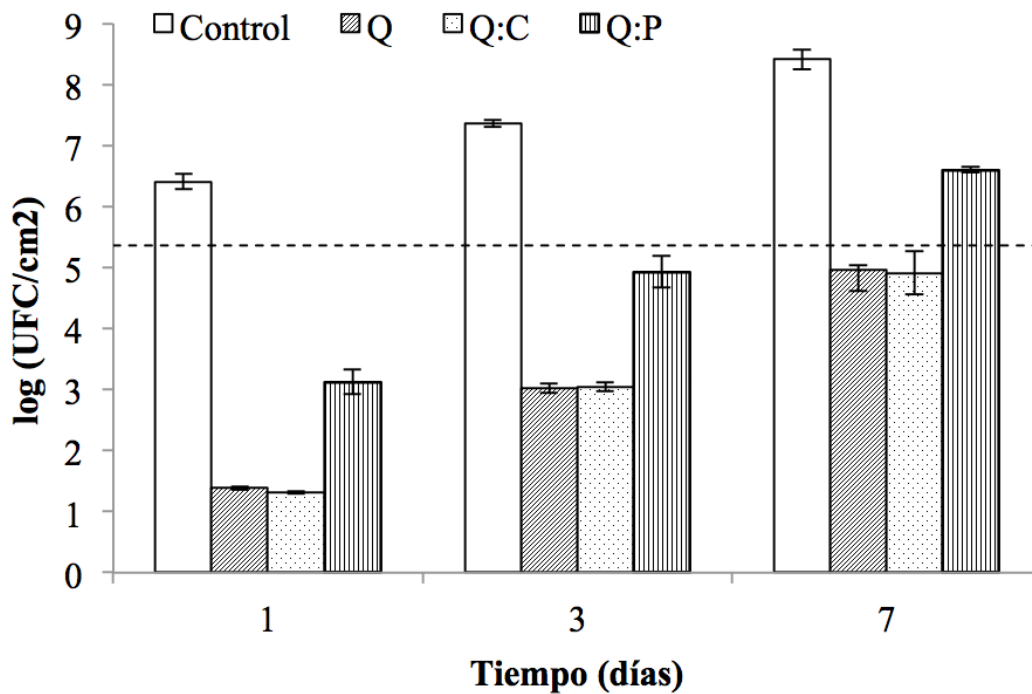


Figura 2. Efecto de las películas a base de quitosano sobre el crecimiento de *Listeria monocytogenes* en medio TSA-EL almacenadas a 5°C. Control: no recubierto. Q: quitosano. C: aceite de colza. P: aceite de pescado.

ESTUDIO DE LA VIABILIDAD DE LA TERMOGRAFÍA INFRARROJA COMO HERRAMIENTA DE MONITORIZACIÓN DE LA EVOLUCIÓN DEL SECADO DE CARNE DE CERDO

Traffano-Schiffo, M.V., Castro-Giráldez, M.*; Fito, P.J.

Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo, Universidad Politécnica de Valencia, Camino de Vera s/n, 46022 Valencia, España.

*Email: marcasgi@upv.es

RESUMEN

La operación de secado es considerada una de las mejores operaciones unitarias para preservar los productos en el tiempo, aumentando no sólo el período de vida útil sino además el valor del mismo, como es el caso del jamón serrano. Esta operación implica diferentes mecanismos acoplados entre sí, por lo tanto, es necesario analizar y cuantificar cada uno de ellos con el fin de lograr un producto de alta calidad.

En el presente trabajo, se ha utilizado la termografía infrarroja como una técnica capaz de describir el movimiento del agua en el interior de la muestra de carne.

Durante el proceso de secado, se ha registrado de forma continua la masa de la muestra, además de ser monitorizada constantemente mediante una cámara termográfica Optris PI® 160 (Optris GmbH, Berlín, Alemania), en un rango del espectro electromagnético de longitud de onda de 7.5 a 13 μm . La evolución de la emisividad de la carne se obtuvo mediante el uso de un material de referencia ($\epsilon = 0.95$ - Optris GmbH, Berlín, Alemania) colocada a un lado de la muestra estudiada y registrada también de forma continua.

Se ha demostrado que la temperatura superficial de la muestra disminuye hasta alcanzar temperatura húmeda (24.5° C), para luego aumentar hasta alcanzar la temperatura del aire de secado. A excepción de la teoría tradicional del secado, se ha demostrado que existen más etapas involucradas en el proceso. Los resultados con la cámara de infrarrojos han permitido obtener la evolución de la emisividad y su relación con las etapas propuestas para el período de velocidad de secado decreciente. Por lo tanto, es posible mediante esta técnica, identificar los puntos críticos además de la temperatura superficial de la muestra durante todo el tratamiento, destacando las altas aptitudes de la termografía infrarroja para controlar el proceso de secado.

Palabras clave: Infrarrojos, emisividad, secado, carne.

1.INTRODUCCIÓN

A causa de la fuerte crisis que actualmente atraviesa Europa, la mayoría de las industrias agroalimentarias se han visto afectadas en gran medida. Sin embargo, la industria cárnica Española, ha sufrido un crecimiento en la producción, el consumo y las exportaciones a lo largo de los últimos años. A pesar de este crecimiento, las empresas se han visto obligadas a adaptarse a los continuos cambios que están viviendo en lo que respecta a las demandas y las preferencias de los consumidores, además de adaptarse a las exigencias de exportación (Cruz, 2009).

A causa de lo mencionado anteriormente, las empresas se ven forzadas a optimizar cada una de las etapas de sus procesos productivos. En el caso del jamón serrano, la etapa de secado es considerada como una de las más costosas, tanto desde el punto de vista de costes operativos como de monitorización del proceso, es por ello, que este estudio se centra principalmente en la obtención de sensores en línea, de respuesta rápida y exacta sobre la composición del alimento.

El proceso de secado es promovido por el movimiento del agua, en el cual las transferencias de calor y de masa ocurren de forma simultánea. Es por ello, que es importante desarrollar un modelo que permita optimizar el proceso industrial y así obtener un método de control no destructivo, en línea y rápido.

La Termografía Infrarroja (TI) es una herramienta muy interesante para poder abordar este estudio, la cual proporciona información importante sobre los tejidos biológicos (Workmaster *et al.*, 1999). Esta nueva tecnología, brinda la posibilidad de determinar la cinética de secado de la carne a través de las medidas de la distribución de temperatura en la superficie de las muestras. TI se basa en la medida de la radiación infrarroja que es emitida por la superficie de un cuerpo y así obtener una imagen de su distribución térmica. Esta técnica sin contacto y rápida, permite además obtener un mapa de temperaturas de todo el objeto, diferencia importante con respecto a otros tipos de sensores que brindan información sólo de un punto. Algunas aplicaciones desarrolladas con esta tecnología se realizaron en frutas (Fito *et al.*, 2004; Cuccurullo *et al.*, 2012, Veraverbeke & Verboven, 2005), carne (Garipey *et al.*, 1989) y calidad y seguridad alimentaria (Gowen *et al.*, 2010), entre otros.

2.MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Preparación y caracterización de las muestras

El experimental ha sido realizado utilizando muestras frescas de carne de cerdo correspondientes al músculo *Longissimus dorsi* con 1.5 días de post-mortem. Se procedió a la preparación de las muestras (cilindros de 3 cm de diámetro y 1 cm de espesor). Éstos fueron cortados en dirección a las fibras musculares con el fin de asegurar que la difusión de las moléculas de agua se realice en dirección perpendicular con respecto a las mismas.

La masa de las muestras fue determinada utilizando una balanza Mettler Toledo AB304-S con una precisión de $\pm 0,001$. Para las medidas de actividad de agua superficial se utilizó un higrómetro de punto de rocío Decagon (Aqualab®, series 3 TE) con una precisión de ± 0.003 .

Los análisis de humedad se realizaron siguiendo la norma ISO 1442 (1997) específica para productos cárnicos, en la cual las muestras se deben secar a 110°C a presión atmosférica durante 48 horas o hasta lograr un peso constante. En el caso de la determinación del volumen, se siguió el método de análisis de imagen utilizando el programa Adobe® Photoshop® CS6 con el objetivo de obtener tanto el diámetro, como el espesor de las muestras. Cabe destacar que la caracterización de las muestras se realizó tanto antes como después del proceso de secado.

2.2. Secado de las muestras

La muestra en estudio fue colocada en el interior de un secadero convectivo, y se le ha registrado la masa de forma continua a lo largo de todo el proceso. Con el fin de determinar la temperatura superficial a lo largo del proceso, se colocó, adyacente a la muestra de estudio, una muestra de referencia con una termocupla situada a una profundidad de 1 mm de la superficie. Al otro lado de la muestra se colocó un material de referencia con una emisividad conocida ($\varepsilon = 0.95$ - Optris GmbH, Berlín, Alemania).

Una cámara de infrarrojos Optris PI® 160 (Optris GmbH, Berlín, Alemania) fue instalada frente a la muestra de carne a una distancia inferior a 20 cm., con el objetivo de monitorizar y grabar el proceso de secado. Las temperaturas del material de referencia, de los ambientes, tanto interior como exterior al secadero fueron también registradas por termocuplas tipo K conectadas a un multiplexor Agilent 34901A (Agilent Technologies, Malaysia) y registrado por un sistema de adquisición de datos Agilent 34972A (Agilent Technologies, Malaysia). Dicho Sistema facilitará posteriormente el tratamiento de los datos proporcionados por la cámara de infrarrojos.

La velocidad del aire fue regulada, medida y monitorizada mediante un anemómetro digital de hilo caliente TESTO 425 (precisión ± 0.03 m/s). Considerando estudios previos, la temperatura en el interior del secadero y la velocidad del aire fueron determinadas a 40°C y 1.5 m/s.

2.3. Medidas de Infrarrojos

Las imágenes en el rango del espectro electromagnético de los infrarrojos fueron obtenidas utilizando una cámara de infrarrojos Optris PI® 160 (Optris GmbH, Berlin, Germany), la cual utiliza un plano focal bidimensional con 160x120 píxeles, en un rango espectral de 7.5 a 13 μm , con una resolución de 0.05 ° C y una precisión de $\pm 2\%$. La cámara es capaz de cubrir un rango de temperatura de -20 a 100 ° C y posee un campo de visión de 23 ° x 17 ° con una distancia focal mínima de 0.02 m. La cámara viene acompañada de un software Optris PI Connect (Optris GmbH, Berlín, Alemania).

3.RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Obtención de la emisividad de la muestra

Con el objetivo de determinar la temperatura superficial de la muestra durante el proceso de secado, ha sido necesario calcular el flujo de energía total de la muestra mediante la ecuación de Planck, la cual fue simplificada por Stephan-Boltzmann:

$$E_T = \varepsilon_{cam} \sigma T_{cam}^4 \quad (1)$$

Dónde: E_T (W/m^2) representa el flujo de energía total del sistema, el cual es obtenido a partir del flujo de fotones emitido por la muestra durante el tratamiento y es recibido por el sensor piroeléctrico (que se encuentra en el interior de la cámara de infrarrojos). El sensor piroeléctrico es un material que manteniendo su temperatura constante, varía su conductividad, y es capaz de convertir dicha variación en energía recibida. ε_{cam} representa la emisividad que recibe la cámara de infrarrojos (adimensional), σ corresponde a la constante de Stefan-Boltzmann ($5.67 \cdot 10^{-8} \text{ W}/\text{m}^2\text{K}$) y T la temperatura (de la muestra o los alrededores en K).

Una vez calculado el flujo de energía total, es necesario estimar la emisividad de la muestra a lo largo del tratamiento, para ello se ha planteado un balance de energía, el cual se puede observar en la Ecuación 2:

$$E_T = \varepsilon_{cam} \sigma T_{cam}^4 = F \cdot \varepsilon_m \sigma T_m^4 + (1 - \varepsilon_{alr}) \sigma T_{alr}^4 - (1 - \tau_{aire}) F \cdot \varepsilon_m \sigma T_m^4 \quad (2)$$

Dónde: F es el factor geométrico, siendo 1 debido a que la cámara se encuentra en una posición perpendicular con respecto a la muestra, τ corresponde a la transmitividad del aire y los subíndices m , alr y $aire$ corresponden a la muestra, alrededores y aire, respectivamente. El primer término representa el flujo de energía que es emitido por la muestra; el segundo, el flujo de energía que es emitido por los alrededores y por último, el tercero, la cantidad de energía que es absorbida por el aire. Cabe destacar que el tercer término es despreciable, ya que como se ha mencionado en el apartado 2.2. la muestra y la cámara se encuentran a una distancia menor a 20 cm.

Como se ha mencionado anteriormente, con el fin de determinar la emisividad de la muestra a lo largo del tratamiento, en primer lugar ha sido necesario obtener el flujo de energía que es emitido por los alrededores. Esto se ha logrado mediante el material de referencia con emisividad conocida ($\epsilon = 0.95$ - Optris GmbH, Berlin, Germany) que fue colocado de forma adyacente a la muestra en estudio y utilizando la siguiente ecuación (Ecuación 3):

$$E_T^{ref} = 0.95 \cdot \sigma \cdot T_{ref}^4 + E_{alr} \tag{3}$$

Dónde, E_T^{ref} corresponde al flujo de energía total del material de referencia (W/m^2) y T_{ref}^4 es la temperatura del mismo material (K).

Por lo tanto, una vez obtenidos los parámetros mencionados anteriormente, es posible estimar la evolución de la emisividad en función al flujo de energía.

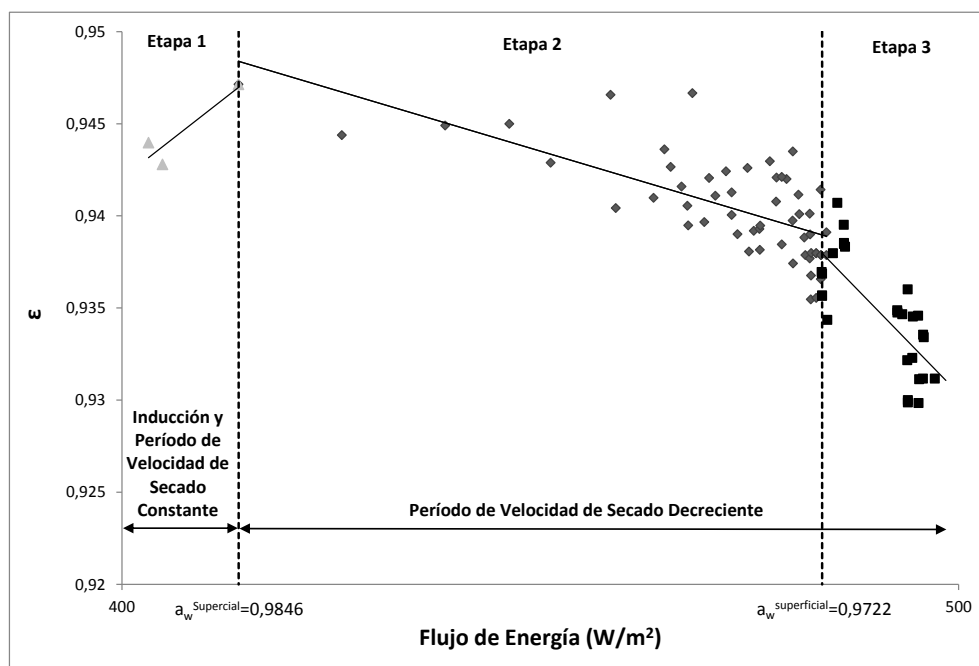


Figura 2. Evolución de la emisividad de la carne en relación al flujo de energía.

En la Figura 2, es posible observar que existen 3 etapas claramente diferenciadas: la primera a altas humedades y baja temperatura superficial de la muestra, la segunda, en la cual la temperatura aumenta hasta alcanzar la temperatura del aire de secado, y por último, una tercera, en la cual la temperatura se mantiene hasta finalizar el proceso. La teoría tradicional del secado explica el secado en tres etapas: la primera, la cual corresponde al período de inducción, la segunda al período de velocidad de secado constante, mientras que la tercera corresponde al período de velocidad de secado decreciente.

En la Figura 3, se observa el período de inducción y el período de velocidad de secado constante, lo cual corresponde con la etapa 1 propuesta para la Figura 2. A partir de allí, durante el período de velocidad de secado decreciente, se observan dos etapas: una primera etapa, en la cual la temperatura superficial aumenta hasta alcanzar la temperatura del aire de secado, y una segunda etapa en la cual, la temperatura superficial de la muestra se mantiene constante en un valor coincidente con la temperatura del aire de secado.

Cabe destacar que según lo expuesto, la respuesta de la superficie de la muestra a absorber energía radiante (Figura 2) cambia en los mismos puntos críticos que se observan en la Figura 3.

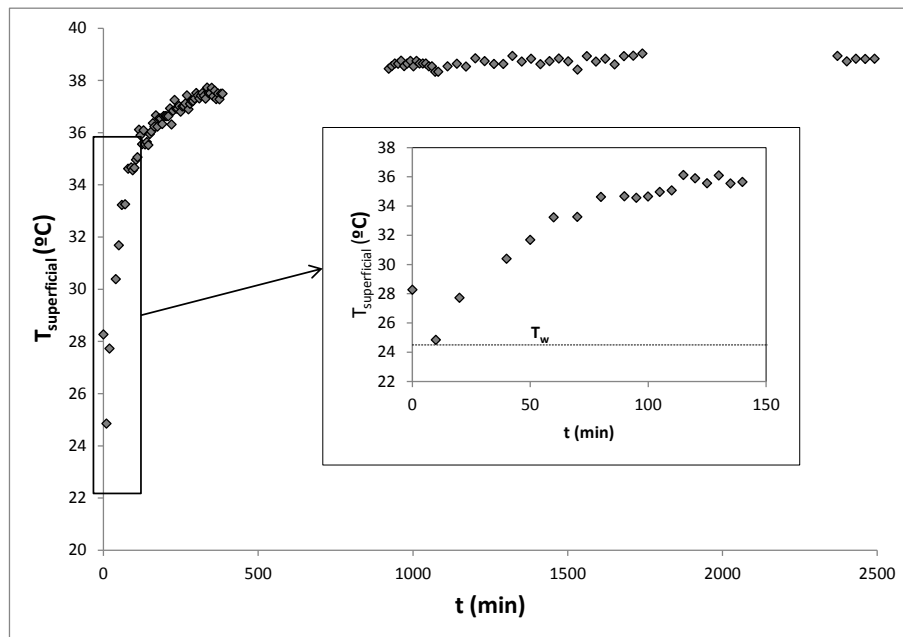


Figura 3. Temperatura superficial de la muestra a lo largo del proceso de secado.

La Figura 4 muestra la evolución de la actividad de agua superficial con respecto a la temperatura superficial de la muestra. En este caso, tanto la etapa 1 como la etapa 2 corresponden al período de velocidad de secado decreciente. La etapa 1 presenta una gran variación de la temperatura superficial de la muestra y una leve disminución de la actividad

de agua superficial, mientras que la etapa 2 presenta una gran variación de la actividad de agua superficial, manteniendo la temperatura de la muestra a la temperatura del aire de secado.

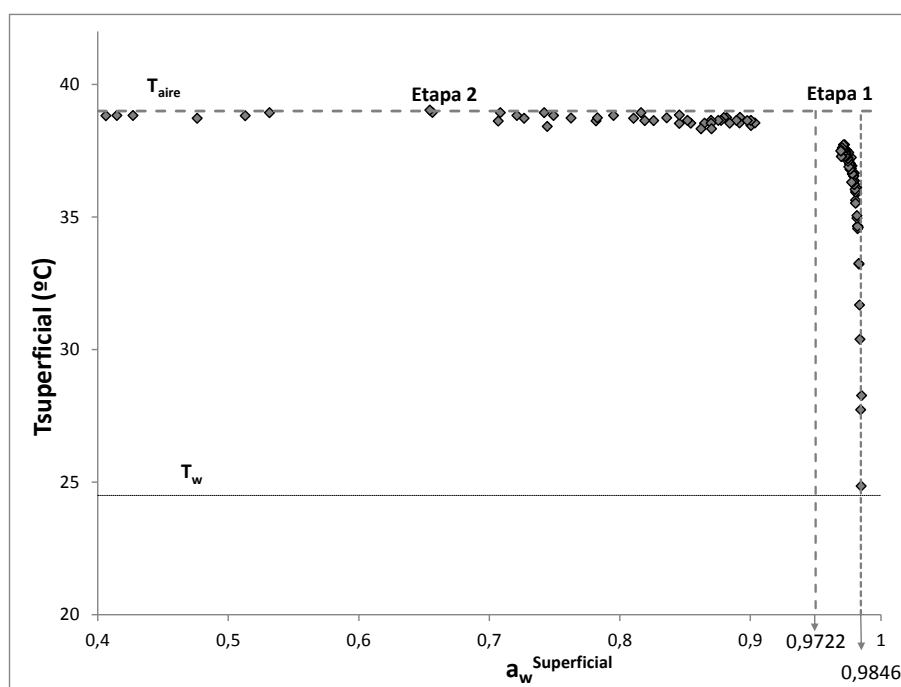


Figura 4. Actividad de agua superficial de la muestra en relación con su temperatura.

Cabe destacar que a una actividad de agua superficial de 0.9846 se inicia la primera etapa del período de velocidad de secado decreciente, lo cual coincide con el primer cambio en la tendencia de la evolución de la emisividad que se muestra en la Figura 2. La finalización de la primera etapa e inicio de la segunda, se lleva a cabo a una actividad de agua superficial de 0.9722, tal y como se puede observar en la Figura 4, además de en la Figura 2.

4.CONCLUSIONES

Ha sido posible demostrar que la termografía infrarroja es una buena herramienta para controlar el proceso de secado de carne, ya que provee información sobre la transferencia de calor en tejidos biológicos, haciendo posible obtener la evolución de la emisividad y su clara relación con las etapas propuestas para el período de velocidad de secado decreciente. Por lo tanto, con esta técnica, es posible identificar los puntos críticos y la temperatura superficial de la muestra a lo largo de todo el tratamiento.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el soporte financiero del Ministerio de Ciencia e Innovación a través del proyecto AGL2011-30096 y además a ERASMUS MUNDUS (Programa Eurotango II) por el financiamiento de los estudios de doctorado de María Victoria Traffano-Schiffo en la Universidad Politécnica de Valencia, España.

La autora Marta Castro-Giráldez agradece al Campus de Excelencia Internacional VLC/CAMPUS por el soporte.

5.BIBLIOGRAFÍA

- Cruz, J. (2009). La industria cárnica española sigue creciendo. *Eurocarne*, (175), 1.
- Cuccurullo, G., Giordano, L., Albanese, D., Cinquanta, L., Di Matteo M., 2012. Infrared thermography assisted control for apples microwave drying. *Journal of Food Engineering*, 112, 319-325.
- Fito, P.J., Ortolá, M. D., De los Reyes, R., Fito, P., De los Reyes, E., 2004. Control of citrus surface drying by image analysis of infrared thermography. *Journal of Food Engineering*, 61, 287-290.
- Garipey, C., Amiot, J., Nadai, S., 1989. Ante-mortem detection of PSE and DFD by infrared thermography of pigs before stunning. *Meat Science*, 25, 37-41.
- Gowen, A. A., Tiwari, B. K., Cullen, P. J., McDonnell, K., O'Donnell, C. P., 2010. Applications of thermal imaging in food quality and safety assessment. *Trends in Food Science & Technology*, 21, 190-200.
- Veraverbeke, E.A., Verboven, P., Lammertyn, J., Cronje, P., De Baerdemaeker, J., Nicolai, B.M., 2006. Thermographic surface quality evaluation of apple. *Journal of Food Engineering*, 77, 162–168.
- Workmaster B. A., Palta, J. P., Wisniewski, M., 1999. Ice nucleation and propagation in cranberry uprights and fruit using infrared video thermography. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, USA, 124, 619

PROPIEDADES FÍSICAS Y ANTIOXIDANTES DE PELÍCULAS COMESTIBLES DE ALMIDÓN DE MAÍZ Y SUERO DE MANTEQUILLA.

Olga Moreno, Clara Pastor, Justine Muller, Lorena Atarés, Chelo González, Amparo Chiralt

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

1. INTRODUCCIÓN

Actualmente se están desarrollando un número importante de estudios encaminados a la sustitución de plásticos sintéticos derivados del petróleo por polímeros biodegradables (Saiah et al., 2009) para evitar costes de reciclado y minimizar el impacto ambiental (Azeredo, 2009; Sánchez-García et al., 2008). El almidón es un polisacárido muy adecuado como fuente renovable para la obtención de películas biopoliméricas por ser un producto accesible en el mercado, de bajo coste y gran disponibilidad (Cuq et al., 1997; Carvalho, 2008). En su estado termoplástico (thermoplastic starch, TPS), tratado térmicamente junto con plastificantes como el glicerol, el almidón posee propiedades termoplásticas muy similares a las de los polímeros sintéticos. Además, existe un gran número de estudios centrados en el desarrollo de envases bioactivos a base de almidones de diferentes orígenes (Pyla et al., 2010; Kechichian et al., 2010; Shen et al., 2010; Mathew & Abraham, 2008). Estos envases incorporan agentes antioxidantes y/o antimicrobianos que mejoran la eficacia del envase para la conservación del alimento.

El suero de mantequilla es un subproducto obtenido durante la elaboración de mantequilla a partir de nata, el cual posee proteínas y péptidos de membrana con propiedades antioxidantes y fisiológicas (Affolter et al. 2010; Michalski & Januel, 2006; Wong & Kitts (2001, 2003); Pihlanto, 2006). El tratamiento térmico del suero de mantequilla permite la inactivación de su flora nativa, a la vez que permite la liberación de péptidos antimicrobianos a partir de las proteínas lácteas nativas (Mils et al, 2011).

El objetivo de este trabajo es analizar la influencia de la incorporación de suero de mantequilla en diferentes proporciones, con y sin tratamiento térmico, en las propiedades físicas (mecánicas, de barrera al vapor de agua), microestructura y actividad antioxidante de películas de almidón de maíz.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

El almidón de maíz (AM) fue proporcionado por Roquette Laisa España, SA (Valencia, España). Lactotecnia, S.L. (Barcelona, España) proporcionó el suero de mantequilla (SM) con la siguiente composición química: lactosa (51%), proteína (31%), grasa (7%) y sales minerales (7%). El glicerol, nitrato de magnesio, y P_2O_5 fueron obtenidos en Panreac Química S.L.U. (Barcelona, España). Para el ensayo de actividad antioxidante se utilizaron diferentes reactivos: Trolox (6-hydroxy- 2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid), $K_2S_2O_8$ y ABTS (202-azino-bis-[3-etilbenzotiazol-6-sulfonic acid]) los cuales fueron proporcionados por Sigma-Aldrich (Madrid, España).

Preparación y caracterización de las películas

Las dispersiones de AM y SM se prepararon mediante agitación magnética separadamente al 3% (p/p) en agua destilada. El AM se gelatinizó a 95°C durante 30 minutos agitando cada 5 minutos, y se enfrió en baño de agua. En ambas dispersiones, se añadió 0.25 g de glicerol por 1g de AM o SM y se ajustó el peso. Las dispersiones se homogenizaron utilizando un rotor stator ultraturrax (DI25, Janke and Kunkel, Alemania) a 13500rpm durante 4 minutos y se desgasificaron mediante una bomba de vacío (MZ 2C NT, Vacubrand GMBH + CO KG, Wertheim, Alemania) a temperatura ambiente. Ambas dispersiones se mezclaron entre sí con agitación magnética en diferentes proporciones p/p, obteniéndose las siguientes formulaciones, donde los subíndices indican la proporción de ambos polímeros: $AM_1:SM_0$, $AM_{0.75}:SM_{0.25}$, $AM_{0.5}:SM_{0.5}$, $AM_{0.4}:SM_{0.6}$.

Se preparó una segunda serie de formulaciones en las cuales el SM fue calentado junto con el AM, obteniéndose las formulaciones: $AM_{0.75}:SM_{0.25}$ Q, $AM_{0.5}:SM_{0.5}$ Q, $AM_{0.4}:SM_{0.6}$ Q.

Para la obtención de las películas se vertió la masa de dispersión necesaria para obtener una densidad de sólidos de $56g/m^2$ en placas de teflón niveladas de 150 mm de diámetro. El tiempo de secado fue de 24h, a 25°C y 45(±2)% de humedad relativa (HR). Las películas así obtenidas fueron acondicionadas en desecadores herméticos con una disolución sobresaturada de $Mg(NO_3)_2$ (54% HR) a 25°C.

Se obtuvieron micrografías de las secciones transversales de las películas mediante la técnica de microscopía electrónica de barrido (SEM) con un microscopio electrónico JEOL® modelo JS-5410 (Japón). Previamente las muestras fueron desecadas con P_2O_5 , montadas sobre portas de cobre y recubiertas con oro. El voltaje utilizado fue 10kV.

Se midió el espesor de las películas en cuatro puntos mediante un micrómetro digital portátil (Electronic Digital Micrometer, Comecta S.A., Barcelona, España) con una sensibilidad de 0.001mm. Se analizó el comportamiento mecánico de las películas siguiendo el método descrito por Jiménez et al, (2012), utilizando una prensa universal (TA-XTplus, Stable Micro Systems, Surrey, Reino Unido). Se obtuvieron los parámetros mecánicos: módulo elástico (EM) tensión a la fractura, (TS), y deformación en el punto de fractura, (%E). Se realizaron 12 repeticiones por formulación.

La permeabilidad al vapor de agua (WVP) se determinó por medio de un método gravimétrico (Bonilla et al, 2013) a 25°C y un gradiente de 54-100% de HR, habiendo medido previamente el espesor. Se realizaron seis repeticiones por formulación.

Se determinó la actividad antioxidante de las películas que contenían SM, así como del SM puro con y sin calentamiento, mediante el método descrito por Re et al., (1999). Se utilizó un espectrofotómetro modelo Beckman Coulter DU 730. Se disolvieron 0.5g de película o SM en 10ml de agua bidestilada. Todos los ensayos se realizaron por triplicado. Los resultados se expresaron en equivalentes de trolox (TEAC trolox equivalent antioxidant capacity), lo cual corresponde a la concentración de SM o film seco (g de SM o de film seco/l) que produce la misma reducción porcentual de absorbancia que una disolución 1mM de trolox.

Análisis estadístico

El análisis estadístico de los datos se llevó a cabo por medio de un análisis de la varianza con el programa Statgraphics® Plus para Windows 5.1 (Manugistics Corp., Rockville, Md.). Se aplicó un intervalo LSD con un 95% de nivel de significación.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Imagen 1 muestra las micrografías transversales de SEM obtenidas para las diferentes formulaciones. Se observó cómo la formulación sin SM ($AM_1:SM_0$) presenta la mayor homogeneidad estructural, con formaciones lineales en el mismo sentido del flujo de agua durante el secado del film, las cuales podrían deberse a la formación de complejos helicoidales de amilosa (Gelders et al. 2004; Famá et al. 2005). A medida que la proporción de SM añadido aumentó, la estructura de la matriz es más irregular, lo que indica la falta de miscibilidad de componentes. Este resultado es consecuencia de una incompatibilidad entre los polímeros, que da lugar a la coexistencia de dos fases, una rica en almidón y otra en proteína, inmiscibles entre sí y que ocasiona una separación de fases. La grasa aportada por el SM dio lugar a partículas irregulares dispersas en la matriz ya que la grasa láctea se encuentra

en estado sólido durante la dispersión y el secado de las películas. Las películas con SM con tratamiento térmico presentaron partículas lipídicas de menor tamaño, lo cual indica una mejor dispersión de la grasa en la matriz al estar en estado líquido a la temperatura de dispersión, obteniéndose una mayor cohesión estructural, en comparación con las películas con la misma proporción de SM sin tratamiento térmico. Este efecto fue especialmente notable para la mayor proporción de SM (60%), lo cual podría ser debido a la formación de una fase continua proteica, imbricada con la del almidón, durante el secado de las películas (Nicolai et al., 2011; Zuniga et al., 2010) que incorpora mejor la fase lipídica debido al carácter anfifílico de las proteínas.

La Tabla 1 muestra los resultados obtenidos para el espesor y parámetros mecánicos de todas las películas formuladas, acondicionadas a 54% HR y 25°C. El espesor aumentó significativamente como consecuencia del tratamiento térmico del SM ($p < 0.05$) lo que parece indicar una diferente interacción entre las cadenas de AM y el SM dando lugar a una estructura más abierta que se traduce en un aumento del grosor del film. La proporción de AM:SM no afectó significativamente al espesor. En cuanto a los parámetros mecánicos, los resultados obtenidos para la formulación $AM_1:SM_0$ fueron del mismo orden que los publicados por Jiménez et al., (2012) para películas de almidón de maíz. Para ambas series, con y sin tratamiento térmico del SM, el aumento en la proporción de SM dio lugar a películas significativamente menos rígidas y menos resistentes a la fractura ($p < 0.05$), por los menores valores de EM y TS. Coherentemente con lo observado en las micrografías de SEM, la adición de SM provocó una pérdida de cohesión de la matriz de AM, debido a la coexistencia de dos fases con diferente resistencia mecánica, y la presencia de discontinuidades en la matriz que disminuyen la cohesión global. Además el SM adicionó sólidos no poliméricos al sistema, como la lactosa y sales minerales, que contribuyen a plastificar la matriz con la consiguiente pérdida de rigidez y resistencia. Para la formulación $AM_{0.4}:SM_{0.6}$ Q se observó un aumento significativo en los parámetros EM y TS ($p < 0.05$), mejorándose la cohesión de la estructura. En las condiciones de concentración proteica de esta formulación, el tratamiento térmico, así como la presencia de iones Ca^{2+} , parecen provocar una inversión de fases dando lugar a una matriz continua de proteína por las mejores condiciones para gelificar de la proteína (Nicolai et al., 2011; Baussay et al., 2004). El gel proteico se configura como fase continua durante el secado. Esto dio lugar a una mejora del comportamiento mecánico de la película respecto a la obtenida con SM no calentado en la misma proporción. En cuanto a la elongación de las películas, a mayor proporción de SM no calentado se produjo un aumento significativo de la extensibilidad de

las mismas ($p < 0.05$). Esto se explica por el aporte del SM de una elevada proporción de lactosa, la cual actúa como plastificante, así como sales minerales que contribuyeron a una mayor higroscopicidad y humedad de las películas (Tabla 2). Consecuentemente, las películas fueron más débiles y menos resistentes, pero más extensibles. El calentamiento del SM contribuyó a mejor integración de la lactosa y las sales en la matriz proteica, dando lugar a una reducción de la higroscopicidad y extensibilidad de las películas.

Los resultados de permeabilidad al vapor de agua (WVP), medida a 25°C y con un gradiente de HR de 54-100%, se muestran en la Tabla 2. La formulación AM₁:SM₀ presentó valores similares a los presentados por Jiménez et al., (2012) para películas de almidón de maíz. La incorporación de SM por debajo del 50% no supuso cambios significativos en esta propiedad. Aunque el SM aportó lípidos al sistema, la pérdida de cohesión estructural parece compensar el posible efecto barrera de éstos a la transferencia al vapor de agua. Para la formulación AM_{0.4}:SM_{0.6} el valor de WVP fue significativamente mayor ($p < 0.05$) que el resto, coherentemente con la mayor heterogeneidad estructural y contenido en humedad, lo cual contribuye a la transferencia de masa a través de la película. Como ya se ha comentado, para la formulación AM_{0.4}:SM_{0.6} Q el tratamiento térmico contribuyó a la formación de una matriz continua proteica al promoverse la gelificación de la proteína, lo cual aumentó la cohesión de la estructura y redujo la movilidad molecular, con la consiguiente reducción de la WVP con respecto a la formulación AM_{0.4}:SM_{0.6}.

Los resultados obtenidos para la capacidad antioxidante de las películas expresada como equivalentes trolox (TEAC), se muestran en la Figura 2. Solamente presentaron actividad antioxidante aquellas películas que fueron formuladas con SM con tratamiento térmico, a pesar de que la actividad antioxidante del SM puro no cambió significativamente con el tratamiento térmico. Esta actividad aumentó con la proporción de SM presente en las mismas. Esto sugiere que el tratamiento térmico contribuyó a la capacidad de liberación de los componentes antioxidantes de las películas, tal y como indica Mills et al., (2011). Estudios previos han reportado la actividad antioxidante de las proteínas derivadas de productos lácteos (Allen and Wrieden, 1982; Colbert and Decker, 1991; Stuchell and Krochta, 1995; Maté et al., 1996), lo que se ha atribuido a diferentes causas, como la reducción de radicales libres a través del hidrógeno liberado por las proteínas de suero (Taylor and Richardson, 1980a, 1980b). La actividad antioxidante del SM se basa principalmente en su contenido en grupos libres de sulfhidrilo presentes en la cisteína (Wong & Kitts, 2003), con la capacidad de inhibir la autooxidación lipídica (Taylor and Richardson,

1980a, 1980b). Además, el SM actúa como agente reductor mediante el secuestro de grupos peróxido, del radical hidroxilo e iones de Fe^{2+} y Fe^{3+} .

4. CONCLUSIÓN

Las propiedades físicas y actividad antioxidante de las películas estuvieron afectadas significativamente por la proporción de SM y AM en el film. La incompatibilidad entre ambos polímeros dio lugar a una separación de fases y estructura heterogénea, como se observó en las micrografías de SEM. Este comportamiento influyó en las propiedades mecánicas y de barrera, de forma que las películas fueron menos resistentes y rígidas y más permeables al vapor de agua con la adición de SM. Sin embargo, el calentamiento del SM a una concentración elevada permitió la formación de una matriz continua de proteína que mejoró las propiedades mecánicas y de barrera de las películas mixtas. Se observó actividad antioxidante en aquellas películas formuladas con SM con tratamiento térmico, siendo los resultados coherentes con el contenido en SM de las películas. En combinación con una matriz adecuada el SM podría presentar ventajas para la formulación de películas biodegradables con actividad antioxidante.

5. BIBLIOGRAFÍA

- Allen, J. C., and W. L. Wrieden. 1982. Influence of milk proteins on lipid oxidation in aqueous emulsion. I. Casein, whey protein and α -lactalbumin. *J. Dairy Res.* 49:239–248
- Affolter, M., Grass, L., Vanrobaeys, F., Casado, B., Kussmann, M. (2010). Qualitative and quantitative profiling of the bovine milk fat globule membrane proteome. *Journal of Proteomics* 73, 1079-1088.
- Azeredo, H.M.C.O.. (2009). Nanocomposites for food packaging applications. *Food Research International* 42, 1240-1253
- Baussay, K., Le Bon, C., Nicolai, T., Durand, D., & Busnel, J. (2004). Influence of the ionic strength on the heat-induced aggregation of the globular protein β -lactoglobulin at pH7. *International Journal of Biological Macromolecules*, 34, 21e28.
- Bonilla, J., Talón, E., Atarés, L., Vargas, M., Chiralt, A. (2013) Effect of the incorporation of antioxidants on physicochemical and antioxidant properties of wheat starch–chitosan films. *Journal of food engineering*, 118, 271-278.
- Carvalho, A.J.F. (2008) Starch: major sources, properties and applications as thermoplastic materials. En: *Monomers, Polymers and Composites from renewable Resources* (Ed.: Belgacem, M.N. and Gandini, A.) Elsevier Ltd., p: 321-342.
- Colbert, L. B., and E. A. Decker. 1991. Antioxidant activity of an ultrafiltration permeate from acid whey. *J. Food Sci.* 56:1248–1250.

- Cuq, B., Gontard, N., Guilbert, S. (1997). Thermoplastic properties of fish myofibrillar proteins: application to biopackaging fabrication. *Polymer* 38 (16), 4071-4078
- Famá, L., Rojas, A., Goyanes, S., & Gerschenson, L. (2005). Mechanical properties of tapioca-starch edible films containing sorbates. *LWT – Food Science and Technology*, 38 (6), 631-639.
- Gelders, G.G., Vanderstukken, T.C., Goesaert, H., & Delcour, J.A. (2004). Amylose lipid complexation: a new fractionation method. *Carbohydrate Polymers*, 56 (4), 447-458.
- Jiménez, A.; Fabra, M.J.; Talens, P.; Chiralt, A. (2012). Effect of re-crystallization on tensile, optical and water vapour barrier properties of corn starch films containing fatty acids. *Food Hydrocolloids*, 26(1), 302-310.
- Kechichian, V., Ditchfield, C., Veiga-Santos, P. & Tadini, C.C. (2010). Natural antimicrobial ingredients incorporated in biodegradable films based on cassava starch. *LWT-Food Science and Technology* 43, 1088-1094.
- Maté, J. I., E. N. Frankel, and J. M. Krochta. 1996. Whey protein isolate edible coating: Effect on the rancidity process of dry roasted peanuts. *J. Agric. Food Chem.* 44:1736–1740.
- Mathew, S. & Abraham, T.E. (2008). Characterisation of ferulic acid incorporated starch-chitosan blend films. *Food Hydrocolloids* 22, 826-835.
- Michalski, M.C., and Januel, C. (2006). Does homogenization affect the human health properties of cow's milk? *Trends in Food Science & Technology* 17, 423–437
- Mills, S., Ross, R.P., Hill, C., Fitzgerald, G.F., Stanton, C. (2011) Milk intelligence: Mining milk for bioactive substances associated with human health. *International Dairy Journal* 21 377e401.
- Nicolai, T., Britten, M., Schmitt, C. (2011) β -Lactoglobulin and WPI aggregates: Formation, structure and applications. *Food Hydrocolloids* 25 1945e1962.
- Pihlanto, A. (2006). Antioxidative peptides derived from milk proteins. *International Dairy Journal* 16,1306–1314
- Pyla, R., Kim, T.J., Silva, J.L., Jung, Y.S. (2010). Enhanced antimicrobial activity of starch-based film impregnated with thermally processed tannic acid, a strong antioxidant. *International Journal of Food Microbiology* 137, 154-160
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C., (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decoloration assay. *Free Radical Biology and Medicine* 26, 1231–1237
- Saiah, R., Sreekumar, P.A., Leblanc, N. & Saiter, J.M. (2009). Structure and thermal stability of thermoplastic films based on wheat flour modified by monoglyceride. *Industrial Crops and Products* 29, 241-247.
- Sánchez-García, M.D., Giménez, E., & Lagaron, J.M. (2008). Morphology and barrier properties of solvent cast composites of thermoplastic biopolymers and purified cellulose fibers. *Carbohydrate Polymers* 71, 235-244.
- Shen, X.L., Wu, J.M., Chen, Y. & Zhao, G. (2010). Antimicrobial and physical properties of sweet potato starch films incorporated with potassium sorbate or chitosan. *Food Hydrocolloids* 24, 285-290

Stuchell, Y. M., and J. M. Krochta. 1995. Edible coating on frozen king salmon: Effect of whey protein isolate and acetylated monoglycerides on moisture loss and lipid oxidation. *J. Food Sci.* 60:28–31.

Taylor, M. J., and T. Richardson. 1980a. Antioxidant activity of skin milk: Effect of heat and resultant sulfhydryl groups. *J. Dairy Res.* 63:1783–1795.

Taylor, M. J., and T. Richardson. 1980b. Antioxidant activity of cysteine and protein sulfhydryls in a linoleate emulsion oxidized by hemoglobin. *J. Food Sci.* 45:1223–1227, 1230.

Wong, P.Y.Y. & Kitts, D.D.(2001). An iron binding assay to measure activity of known food sequestering agents: studies with buttermilk solids. *Food chemistry* 72, 245-254.

Wong, P.Y.Y. & Kitts, D.D. (2003). Chemistry of buttermilk solid antioxidant activity. *Journal of Dairy Science* 86 (5), 1541-1547

Zuniga, R. N., Tolkach, A., Kulozik, U., & Aguilera, J. M. (2010). Kinetics of formation and physicochemical characterization of thermally-induced beta-lactoglobulin aggregates. *Journal of Food Science*, 75, E261-E268.

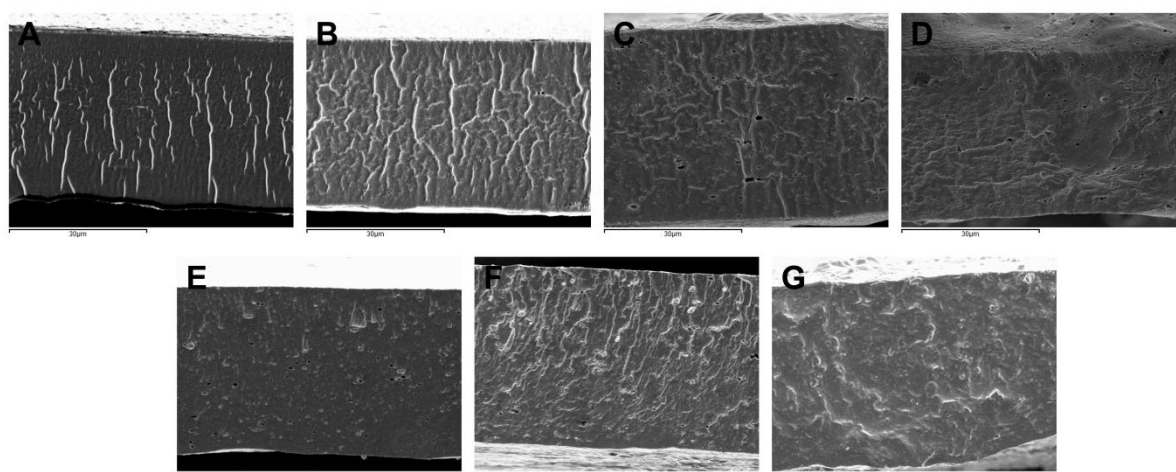


Figura 1 Imágenes de SEM del corte transversal de películas acondicionadas con P_2O_5 a $25^\circ C$. . A) $AM_1:SM_0$, B) $AM_{0.75}:SM_{0.25}$, C) $AM_{0.5}:SM_{0.5}$, D) $AM_{0.4}:SM_{0.6}$, E) $AM_{0.75}:SM_{0.25} Q$, F) $AM_{0.5}:SM_{0.5} Q$, G) $AM_{0.4}:SM_{0.6} Q$.

Tabla 1: Espesor y parámetros mecánicos (EM, TS, E%) de las películas acondicionadas a 54% de H.R. y $25^\circ C$. Valores medios y desviaciones estándar entre paréntesis.

	$AM_1:SM_0$	$AM_{0.75}:SM_{0.25}$	$AM_{0.50}:SM_{0.50}$	$AM_{0.40}:SM_{0.60}$	$AM_{0.75}:SM_{0.25} Q$	$AM_{0.50}:SM_{0.50} Q$	$AM_{0.40}:SM_{0.60} Q$
Espesor (μm)	45 (4) ^a	45 (2) ^a	47 (4) ^{ab}	51 (4) ^{bc}	57.0 (1.1) ^d	52 (4) ^c	52 (6) ^c
EM (MPa)	1331 (91) ^e	849 (83) ^d	304 (171) ^b	8.017 (1.103) ^a	540 (99) ^c	270 (33) ^b	342 (84) ^b
TS (MPa)	31 (6) ^e	8 (3) ^d	5.0 (1.9) ^c	0.66 (0.09) ^a	1.8 (0.6) ^{ab}	3.0 (1.4) ^{abc}	4.1 (0.8) ^{bc}
E%	2.8 (0.6) ^{bc}	1.1 (0.5) ^a	3 (3) ^c	16 (4) ^d	0.440 (0.103) ^a	1.3 (0.5) ^a	1.6 (0.5) ^{ab}

a, b, c, d Diferentes superíndices indican diferencias significativas entre las películas ($p < 0.05$)

Tabla 2: Contenido de humedad en equilibrio expresado en base seca y permeabilidad al vapor de agua (WVP, (g/Pa·s·m)x10⁷) de las películas acondicionadas a 54% de H.R. y 25°C. Valores medios y desviaciones estándar entre paréntesis.

	AM ₁ :SM ₀	AM _{0.75} :SM _{0.25}	AM _{0.50} :SM _{0.50}	AM _{0.40} :SM _{0.60}	AM _{0.75} :SM _{0.25} Q	AM _{0.50} :SM _{0.50} Q	AM _{0.40} :SM _{0.60} Q
X _w (b.s.)	8.7 (1.2) ^c	8.10 (0.05) ^{abc}	8.1 (0.8) ^{bc}	17.3 (0.3) ^d	7.79 (0.08) ^{ab}	8.4 (0.8) ^{bc}	7.2 (0.4) ^a
WVP	12.8 (1.2) ^a	12.4 (0.5) ^a	15.16 (1.11) ^{ab}	20 (4) ^c	17 (4) ^{bc}	15 (2) ^{ab}	16 (2) ^b

a, b, c, d Diferentes superíndices indican diferencias significativas entre las películas (p<0.05)

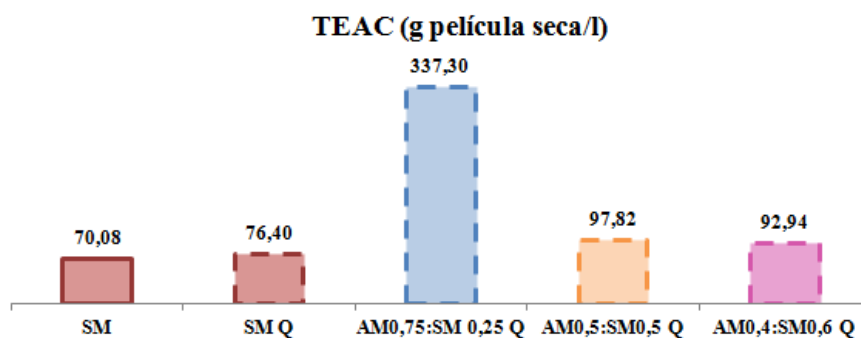


Figura 2: Equivalentes trolox (TEAC) correspondientes al suero de mantequilla (SM), suero de mantequilla calentado (SMQ) y películas de almidón y suero de mantequilla calentado en diferentes proporciones.

ANÁLISIS DE LA FRACCIÓN INDIGERIBLE DE UNA BARRA ENERGÉTICA CON ADICIÓN DE XOCONOSTLE (*Opuntia joconostle*)

E. Andrade-Lozano¹, M.E. Sánchez-Pardo², J.J. Islas-Hernández³, * P. Osorio-Díaz³

¹Universidad Tecnológica de Tecamachalco, Tecamachalco, Puebla, México.

²Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, México D.F.

³Centro de Desarrollo de Productos Bióticos, Instituto Politécnico Nacional, Calle Ceprobi No. 6, Colonia San Isidro, 62731 Yautepec, Morelos, México.

*posorio@ipn.mx

INTRODUCCIÓN

El género *Opuntia* abarca cerca de 1500 especies de cactus que producen frutas, en climas áridos y semiáridos. El Xoconostle es una baya que en la cocina mexicana es utilizada en la elaboración de salsas, dulces, jaleas, mermeladas, almíbar, licor. Es una fuente importante de fibra dietética, con propiedades antioxidantes. El impacto en la salud y nutrición humana del género *Opuntia* ha sido ampliamente estudiado. Para el xoconostle se ha reportado que tiene efecto antimicrobial sobre *Escherichia coli* O157:H7 (Hayek y Ibrahim, 2012); contenido alto de vitamina C y otros compuestos antioxidantes, como polifenoles y flavonoides, y fibra soluble (Morales et al., 2012; Osorio-Esquivel et al., 2011); así como efecto hipoglucémico tanto en ratas diabéticas, como sanas (Paiz et al., 2010); sin embargo, el efecto hipoglucemiante no se observó en individuos sano, pero si en pacientes diabéticos (Pimienta-Barrios et al., 2008). Debido a sus propiedades, se elaboró una harina de xoconostle para su uso en otro tipo de alimentos, como los productos de panificación; y evaluar su impacto como ingrediente en otro tipo de alimentos. La fracción indigerible surge como una alternativa para medir la fibra dietética (Saura-Calixto et al., 2000); al emular la digestión humana con esta técnica se puede predecir el comportamiento de un alimento en el aparato digestivo, y evaluar la fracción que llegará hasta el colon.

MATERIALES Y MÉTODOS

Harina de xoconostle

La harina de xoconostle (HMX) se obtuvo partir de los frutos, lavados, desinfectados y secados a 60°C, durante 16 hs.

Elaboración de las barras energéticas

Las barras energéticas se elaboraron a partir de una mezcla de harina de trigo y de harina de xoconostle. Se sustituyó 10%, de harina de trigo por harina de xoconostle (HMX). La formulación empleada para las barras se muestra en la Tabla 1.

La mantequilla se batió hasta que presentó una consistencia cremosa, se adicionaron los ingredientes en polvo (harinas y polvo para hornear) y se mezclaron. Posteriormente, se agregó el huevo, la vainilla y la leche, se continuó batiendo hasta que se formó una pasta homogénea. La pasta se extendió con un rodillo hasta alcanzar 0.5 cm de grosor. Las barras se cortaron con un molde rectangular (4 x 11 cm) y se colocaron en un molde de aluminio. Las barras se sometieron a cocción en un horno (horno de convección), a una temperatura aproximada de 180 °C, durante 25 minutos. Transcurrido este tiempo, las barras se sacaron del horno y se dejaron enfriar durante 30 minutos. Para las evaluaciones, las barras se molieron hasta que se pasaron en su totalidad por una malla No. 40.

Análisis químico proximal

Se determinó de acuerdo a los métodos oficiales de la AACCC (2000). Proteínas (46-13), lípidos (30-25), cenizas (08-01), humedad (44-19).

Fracción indigerible total, soluble e insoluble

Se empleó el método propuesto por Saura-Calixto y col. (2000). Se pesaron 300 mg de las muestras de las barras en tubos a peso constante, adicionándose 10 ml de regulador de KCl-HCl pH 1.5. Se adicionaron 0.2 ml de solución de pepsina (P7000, Sigma-aldrich, USA). Se incubaron a 40°C/1h, con agitación constante. Se ajustó el pH a 7.5 y se adicionó una mezcla enzimática de lipasa (L3126, Sigma-aldrich, USA), extracto biliar (B86316, Sigma, USA) y pancreatina (P1750, Sigma, USA). Se incubaron los tubos a 37°C. Después se adicionaron 9 ml de solución tampón de tris-Maleato (0.1 M, pH 6.9) y α -amilasa pancreática porcina (P1750, Sigma, USA), y se incubó a 37°C/16 h, con agitación constante. Después se centrifugó a 3000 g/15 min. Los residuos se lavaron con 10 ml de agua destilada. Los sobrenadantes se transfirieron a tubos de diálisis (D9652, Sigma-Aldrich). Los residuos se secaron a 105°C, durante 12 horas, y se cuantificó la fracción indigerible insoluble por diferencia de peso. Los tubos de diálisis se colocaron en un baño con agua a 25°C/48 h, con un flujo de agua de 30 ml/15 s. El contenido de los tubos de diálisis se transfirió a matraces aforados y se llevó a 100 ml con agua destilada. Se adicionó H_2SO_4 , y se llevó a un baño en ebullición durante 90 min. Los residuos del hidrolizado se midieron con DNS (ácido Dinitrosalicílico) para la cuantificación espectrofotométrica de la fracción indigerible soluble.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis químico proximal

El contenido de cenizas incrementó con la adición de la HMX, presentándose diferencias significativas ($\alpha=0.05$) entre las muestras. Mientras que el contenido de lípidos y

proteína disminuyó. Esto es debido a un efecto de dilución por la harina de xoconostle. Al incluir harina de frutos, como plátano y mango, en productos alimenticios derivados de cereales se ha observado un comportamiento similar. Esto es debido a que el contenido de minerales, fibra dietética suele ser mayor en las frutas, mientras que las proteínas y lípidos no son constituyentes mayoritarios en las harinas obtenidas de frutos (Agama-Acevedo et al., 2012; Romero-López et al. 2011; Utrilla-Coello et al., 2011; Hernández-Nava et al., 2009; Vergara et al., 2007;).

Fracción indigerible total, soluble e insoluble

Los porcentajes de fracción indigerible total (FIT), soluble (FIS) e insoluble (FII) obtenidos en barras energéticas control y sustituidas con HMX se muestran en Tabla 3. El contenido de FIT de las barras elaboradas con HMX resultó mayor en comparación al control. En ambas fracciones, soluble e insoluble. Presentándose diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0.05$). El incremento en la FIT en alimentos elaborados con adición de harina de frutas, ya ha sido observado en otros productos (Romero-López et al. 2011; Utrilla-Coello et al., 2011). Sin embargo, el porcentaje de la FIT, así como la relación entre las fracciones soluble e insoluble, parecen depender del fruto empleado. Romero- López et al. (2011) reportan valores similares a los observados en este trabajo (59%), cuando elaboraron mantecadas (*muffin*) con harina de bagazo de naranja, predominando la FII (39%). Mientras que Utrilla-Coello et al., (2011) midieron la FIT en barras elaboradas con cereal integral y harina de plátano, y los valores reportados son menores (36%) a los encontrados en barras con adición de harina de xoconostle pero con una relación entre la FIS y la FII más equilibrada (FIS, 17% y FII, 19%). El incremento de la FIT, es debido probablemente al contenido de fibra dietética del fruto empleado, ya que esta constituye parte de la FIT. La FIT representa un sustrato fermentable por las bacterias de la flora normal del colon, por lo que tendrá un impacto en la salud y prevención de enfermedades.

CONCLUSIONES

La harina xoconostle es una buena alternativa para adicionar a barras energéticas e incrementar la fracción indigerible. Sin embargo, sería conveniente evaluar la tasa de digestión *in vitro* para conocer la influencia de la harina de xoconostle sobre la respuesta glucémica.

Tabla 1. Formulación de las barras energéticas

Ingredientes	BMX	BXXMX
Harina de trigo* (100 g)	X	90 %
Harina de xoconostle*	0 %	10 %
Mantequilla (37 mg)	X	X
Polvo para hornear (9 g)	X	X
Leche (100 g)	X	X
Vainilla (5 mL)	X	X
Huevo (19 g)	X	X
Azúcar (28 g)	X	X

X= 100%. Se agregaran 19 g de mermelada por cada 100 g de barra.

Tabla 2. Análisis químico proximal de las barras energéticas

Muestra	Humedad (g/100 g)	Cenizas (g/100 g)	Lípidos (g/100 g)	Proteína (g/100 g)
BMX	2.1 ±0.16 ^a	0.91 ± 0.02 ^a	14.0 ± 0.27 ^a	7.0 ± 0.05 ^a
BXXMX	2.4 ±0.07 ^a	1.71 ± 0.05 ^c	6.2 ± 0.39 ^b	3.5 ± 0.04 ^b

Media de tres repeticiones ±error estándar, en base seca.

BMX= Barra con mermelada de xoconostle.

BXXMX= Barra con 10% de harina de xoconostle y mermelada de xoconostle.

Letras minúsculas diferentes indican diferencia significativa ($\alpha=0.05$).

Tabla 3. Fracción indigerible total, soluble e insoluble de barras energéticas

Muestra	FIT (g/100 g)	FIS (g/100 g)	FII (g/100 g)
BMX	40.62 ± 0.49 ^a	8.21 ± 0.37 ^a	32.41 ± 0.61 ^a
BXXMX	60.13 ± 1.17 ^b	10.35 ± 0.22 ^b	49.78 ± 2.13 ^b

Media de tres repeticiones ±error estándar, en base seca.

Letras diferentes en la misma columna indican diferencia significativa ($\alpha=0.05$).

BMX= Barra con mermelada de xoconostle.

BXXMX= Barra con 10% de harina de xoconostle y mermelada de xoconostle.

FIT= Fracción indigerible total, FIS= Fracción indigerible soluble, FII= Fracción indigerible insoluble.

BIBLIOGRAFIA

Agama-Acevedo, E., Islas-Hernández, J.J., Pacheco-Vargas, G., Osorio-Díaz, P., Bello-Pérez, L.A. (2012). Starch digestibility and glycemic index of cookies partially substituted with unripe banana flour. *LWT - Food Science and Technology* 46: 177-182.

Hayek, S.A., Ibrahim, S.A. (2012). Antimicrobial activity of xoconostle pears (*Opuntia matudae*) against *Escherichia coli* O157:H7 in laboratory medium. *International Journal of Microbiology*, ID 368472.

Hernández-Nava, R., Berrios, J. de J., Pan, J., Osorio-Díaz, P., Bello-Perez, L.A. 2009. Development and Characterization of Spaghetti with High Resistant Starch Content Supplemented with Banana Starch. *Food Science and Technology International*, 15:73-78.

Morales, P., Ramírez-Moreno, E., Sanchez-Mata, M.D.C., Carvalho, A.M., Ferreira, I.C.F.R. (2012). Nutritional and antioxidant properties of pulp and seeds of two xoconostle cultivars (*Opuntia joconostle* F.A.C. Weber ex Diguet and *Opuntia matudae* Scheinvar) of high consumption in Mexico. *Food Research International*, 46:1, 279-285.

Osorio-Esquivel, O., Alicia-Ortiz-Moreno, Álvarez, V.B., Dorantes-Álvarez, L., Giusti, M.M. (2011) Phenolics, betacyanins and antioxidant activity in *Opuntia joconostle* fruits. *Food Research International* 44 (7): 2160-2168.

Paiz, R.C., Juárez-Flores, B.I., Rivera, J.R.A., Ortega, N.C.C., Agüero, J.A.R., Chávez, E.G., Fuentes, G.A. (2010) Glucose-lowering effect of xoconostle (*Opuntia joconostle* A. Web., Cactaceae) in diabetic rats. *Journal of Medicinal Plants Research* 4: 22, 2326-2333.

Pímentea-Barríos, E., Méndez-Mor-acan, L., Ramírez-Hernández, B.C., García de Alba-García, J.E., Domínguez-Arias, R.M. (2008) Effect of xoconostle (*Opuntia joconostle* Web.) fruit consumption on glucose and seric lipids *Agrociencia*, 42: 6, 645-653.

Romero-Lopez, M.R., Osorio-Diaz, P., Bello-Perez, L.A., Tovar, J., Bernardino-Nicanor, A. (2011). Fiber Concentrate from Orange (*Citrus sinensis* L.) Bagase: Characterization and Application as Bakery Product Ingredient. *Int. J. Mol. Sci.* 12: 2174-2186.

Utrilla-Coello, R.G., Agama-Acevedo, E., Osorio-Díaz, P., Tovar, J., Bello-Pérez, L.A. (2011). Composition and starch digestibility of whole grain bars containing maize or unripe banana flours. *Starch/Starke*, 63:416-423.

Vergara, V.N., Agama-Acevedo, E., Bello-Pérez, L.A. (2007). Fibre concentrate from mango fruit: characterization, associated antioxidant capacity and application as a bakery product ingredient. *LWT Food Science Technology*.

EFFECTO DEL PROCESO EN LA CALIDAD Y TEXTURA DE ESPAGUETI SIN GLUTEN DE HARINA DE PLÁTANO

M.A. Hernández-Aguirre, J.J. Islas-Hernández, L.A. Bello-Pérez, P. Osorio-Díaz*

Instituto Politécnico Nacional, Centro de Desarrollo de Productos Bióticos, Desarrollo Tecnológico. Calle CEPROBI No. 8, Col. San Isidro, 62731, Yauatepec, Morelos, México
*posorio@ipn.mx

INTRODUCCIÓN

La sémola de trigo *durum* es el ingrediente para elaborar pasta. El gluten del trigo tiene un papel importante en las propiedades de calidad. Un reto tecnológico es la elaboración de productos sin gluten, destinado para pacientes con enfermedad celiaca. Se han adicionado hidrocoloides, gomas o proteínas para sustituir las propiedades del gluten en estos productos, y obtener pasta con calidad. La determinación de las pérdidas por cocción (PC) es ampliamente utilizada como un indicador de la calidad de las pastas (bajas cantidades de sólidos en el agua de cocción indica alta calidad de la pasta) (Carini *et al.*, 2009). Las PC de una pasta, para considerarla de buena calidad, deben ser inferiores al 12%. Una sustitución parcial o completa de trigo puede dar lugar a cambios negativos en este aspecto (Hoseney, 1999). Las propiedades de textura de las pastas cocidas son importantes para los consumidores ya que la dureza, masticabilidad, adhesividad, firmeza y cohesividad están relacionados con la aceptación de las pastas por los consumidores (Cubadda *et al.*, 2007).

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia prima

Para obtener la harina de plátano se utilizó plátano macho (*Musa paradisiaca* L.) en estado inmaduro, que se compró en la Central de abastos de la ciudad de Cuautla, Morelos, México. Los plátanos se lavaron, pelaron y cortaron, se sumergieron en una solución de ácido cítrico (3 gL⁻¹), posteriormente se secaron a 45°C por 48 horas, se molieron y tamizaron (Malla 50, 0.280 mm). La sémola de trigo durum se obtuvo de la Harinera San Blas, Puebla, México.

Tiempo óptimo de cocción

Se determinó el tiempo óptimo de cocción con el método 66-50 de la AACC (2000). El tiempo óptimo de cocción se estableció dispersando 3 g de pasta en 100 ml de agua hirviendo (98°C). Cada minuto se tomó una pieza de espagueti y se comprimió entre dos

placas de vidrio. El tiempo óptimo de cocción se estableció cuando desapareció la línea blanca del centro del espagueti.

Pérdidas por cocción

Se realizó siguiendo el método 66-50 de la AACC (2000). En el cual, el agua de cocción que queda en los vasos de precipitado, después del cocimiento de los espaguetis, a su respectivo tiempo óptimo de cocción, se colocó en una estufa a 105 ± 1 °C, hasta que se evaporó. El residuo se pesó y se reportó como el porcentaje de sólidos solubles totales.

Análisis de textura

Se realizó el análisis del perfil de textura (APT) en espaguetis cocidos mediante el uso de un texturómetro TA-XT2i (TextureTechnology Corp., Scarsdale, NY, US). En el cual se determinaron diferentes parámetros de textura: dureza, cohesividad, elasticidad, adhesividad y masticabilidad. Las muestras se prepararon siguiendo el método 66-50 de la AACC (2000).

Microscopia electrónica de barrido (MEB)

Las muestras crudas y cocidas, fueron fijadas sobre una base de aluminio con cinta de carbón doble cara. Se recubrieron con oro utilizando un (Sputter Coater EMS550, Inglaterra), las condiciones de deposición fueron 40 mA durante 3 min. Las muestras se examinaron con un microscopio electrónico de barrido (Scanning Electron Microscopy, JSM-6060LV, Inglaterra) a 20 kV de aceleración. Se observaron cortes perpendiculares, así como la superficie de los espaguetis.

Análisis Estadístico

Se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) de una vía con un nivel de significancia $\alpha=0.05$. Cuando se encontraron diferencias estadísticas significativas entre las muestras, se hizo una prueba de Tukey ($\alpha \leq 0.05$). Se utilizó una ANDEVA de dos vías, con un diseño factorial 2^2 en los resultados que lo requerían. Con la finalidad de conocer si existió una interacción entre los métodos de elaboración (laminado o extrusión) y las materias primas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tiempo óptimo de cocción y pérdidas por cocción

Se observó que los tiempos óptimos de cocción para los espaguetis extrudidos son mayores que para los laminados, tanto para los espaguetis elaborados con harina de plátano (PE) y los controles de sémola de trigo (EST) (Tabla 1). Siendo PE el que requiere mayor tiempo de cocción de todos los espaguetis. Puppín *et al.* (2012) reportaron un aumento en los tiempos de cocción en pastas laminadas de harina de plátano, en comparación con las pastas

control; señalan que esto se puede deber a que se requiere un mayor tiempo para la gelatinización completa del almidón del plátano. Las PC de los espaguetis se muestran en la Tabla 1. En los EST se observó un porcentaje menor al 12%, por lo que pueden ser considerados como de buena calidad ($SL=4.02\%$ y $SE=10.25\%$); Sin embargo, las PC son mayores para los espaguetis obtenidos por el método de extrusión.

Carini *et al.* (2010) reportaron en la comparación de diferentes métodos de elaboración de pasta de trigo, un incremento en pérdidas por cocción, en espaguetis elaborados por el método de extrusión en comparación con los hechos por el método laminado, y laminados al vacío (2.25 ± 0.09 , 1.62 ± 0.06 , 2.04 ± 0.14 respectivamente). Señalan que esto puede ser debido a que la presión, temperatura y fuerza de cizalla aplicada durante el proceso de extrusión pudo causar algunos daños a los gránulos de almidón, lo que facilitaría las PC. Las condiciones del proceso de laminado favorecieron la formación de una red tridimensional de almidón-gluten más estable, debido a que no se aplica presión, ni temperatura, ni fuerza de cizalla lo que resultó en una menor liberación de sólidos durante la cocción. También se observó que los PL presentaron PC de 11.66%, lo que hace que sea considerado como de buena calidad; los PE presentaron el mayor porcentaje de PC en comparación con todas las pastas ($14.99 \pm 0.80\%$) siendo aun mayor a lo reportado como máximo para considerarlos unos espaguetis de buena calidad, sin embargo este porcentaje es muy cercano al máximo permitido y esto se puede deber al uso de CMC; Chillo *et al.* (2007) reportaron que el uso de CMC ayuda a disminuir las PC en pastas extrudidas de harina de amaranto publicando porcentajes de PC similares a los controles. Los autores reportan que esto se pudo deber a que la CMC frena la difusión de las moléculas de amilosa de la parte interna del espagueti a la superficie de este.

Se sabe que la sustitución parcial de la ST puede resultar en cambios negativos en la calidad de la pasta, incluyendo el aumento de sólidos en el agua de cocción (Ovando-Martínez *et al.*, 2009). Las PC en los espaguetis fueron afectadas no solamente por el método de elaboración, sino también por el tipo de harina.

Análisis de textura

Las características de textura en pasta juegan un papel esencial en la aceptación final del consumidor (Tudorica *et al.*, 2002). Se ha desarrollado con éxito un gran número de métodos instrumentales con la finalidad de evaluar los parámetros de textura de la pasta cocida (Lucisano *et al.*, 2012) y estos parámetros pueden ser evaluados en términos de adhesividad y dureza, siendo estos los más importantes en la calidad de la pasta cocida (Baiano *et al.*, 2006; Sozer *et al.*, 2007). En la Tabla 2 se muestran los resultados del análisis

de perfil de textura (APT) de los espaguetis cocidos analizados en este trabajo. En los SE los valores de los parámetros evaluados (dureza, elasticidad, cohesividad, adhesividad y masticabilidad) fueron mayores a los reportados por diferentes autores, en espaguetis elaborados con la misma harina (ST) y por el mismo método (extrusión) (Tudorica *et al.*, 2002; Sozer *et al.*, 2007; Padalino *et al.*, 2013). En los EST no se encontraron diferencias significativas en los parámetros de elasticidad, cohesividad y masticabilidad; en los parámetros de dureza y adhesividad si se encontraron diferencias entre los procesos. Siendo similar a lo reportado por Zardetto *et al.*, (2009), en donde compararon los métodos de extrusión y laminado para la elaboración de pastas de trigo. Los autores encontraron diferencias en el parámetro de dureza, pero no entre los demás parámetros de textura. Cabe resaltar que no existen reportes sobre APT de pastas elaboradas completamente con harina de plátano, pero si sobre pastas elaboradas con mezclas de sémola de trigo y harina de plátano. Reportando que en el APT no se observa diferencia significativa entre las pastas control (trigo) y las pastas sustituidas con harina de plátano, en los parámetros de dureza y elasticidad, pero si observa que a mayor contenido de harina de plátano el valor de la adhesividad y masticabilidad aumenta (Agama-Acevedo *et al.*, 2009). Por lo que estos parámetros podrían estar influenciados por las características propias del almidón de la harina de plátano. También se observó que en los EHPV los métodos presentaron diferencias significativas en los parámetros de cohesividad y masticabilidad. Cabe resaltar que en los EHPV el parámetro de dureza es mayor en comparación con los EST. Brennan y Tudorica, (2007) observaron que en pastas extrudidas elaboradas con trigo y adicionadas con diferentes polisacáridos no amilaseos, se incrementó el valor de la dureza con la adición de gomas (xantana y de algarrobo). Marti *et al.*, (2013) reportan que el uso de hidrocoloides en pastas sin gluten proporcionan mayor dureza y una menor adhesividad en la superficie de estas pastas. Por lo que la dureza de los EHPV podría deberse a la presencia de la CMC. En el análisis estadístico de interacción entre métodos y harinas se observa que, en la elasticidad y cohesividad no hay interacción entre métodos y harinas. La adhesividad se vio influenciada por el tipo de método empleado para elaborar los espaguetis; además que como se sugirió, podrían ser las características propias del almidón quien determina la adhesividad de los espaguetis. Mientras que la dureza de los espaguetis se ve influenciada por el método de elaboración, en los EST, como lo sugieren Zardetto *et al.*, (2009); mientras que en los EHPV este parámetro puede estar influenciado por la adición de la CMC (Brennan y Tudorica, 2007). La masticabilidad se ve influenciada por el tipo de harina; en lo reportado por Agama-Acevedo *et al.*, (2009) se observa que a mayor concentración de harina de plátano el valor de

la masticabilidad aumenta por lo que este parámetro podría depender de las características propias del almidón de plátano.

Estructura de los espaguetis crudos

Se ha reportado el uso de MEB para observar la superficie y la topografía de las pastas para caracterizar la microestructura (Petitot *et al.*, 2009). Las micrografías de los espaguetis crudos obtenidos mediante MEB se muestran en la Figura 1. Se observó que los EST presentan la formación de una red tridimensional a partir del gluten, en el cual se logran ver gránulos de almidón inmersos en ésta (Figura 1 B, C, F y G). Esto coincide con lo reportado por Petitot *et al.*, (2009) quienes reportan una estructura compacta y la presencia de gránulos de almidón incrustados en una matriz de proteína y alineados a lo largo de la dirección del flujo de extrusión. Mientras que Tudorica *et al.*, (2002) reportan la formación de una matriz proteína-almidón distribuidos homogéneamente, donde las cadenas de proteínas atrapan a los gránulos de almidón. Así mismo observaron que los gránulos de almidón eran de diversas formas, tamaños y se observaban ligeramente hinchados, probablemente debido a que durante el proceso de extrusión se presentó una gelatinización parcial en estos. Los SE presentaron una superficie homogénea y lisa en comparación con el resto de los espaguetis (Figura 1 A). También se observó que los SL presentaron una red de gluten más desarrollada (Figura 1 G), esto podría explicar el valor menor en las PC de estos espaguetis (Tabla 1). Esto puede deberse a que en el método laminado se favorece una estrecha relación proteínas-almidón, con una distribución más uniforme de los gránulos y la formación de una red de proteínas más compacta y continua (Petitot *et al.*, 2009). En los PL se observa la presencia de una red que cubre a los gránulos de almidón (Figura 1 M), esta puede deberse a la presencia de la CMC. Se ha reportado que el uso de hidrocoloides en pastas proporciona una buena consistencia, mejora la firmeza y tiene la capacidad de formar geles (Marti *et al.*, 2013); sin embargo, la estructura formada en los PL, es diferente a la que se observa entre el gluten y el almidón. En los PE se observa una red diferente a presente en los PL, así como una superficie irregular (Figura 1 I y J); lo que se le podría atribuir el mayor porcentaje de pérdidas por cocción encontradas en estos espaguetis (Tabla 1). En los espaguetis elaborados con harina entrada del agua, favoreciendo la gelatinización de los gránulos, y facilitando la pérdida de sólidos al agua de cocción.

CONCLUSIONES

El proceso de elaboración influye en el tiempo de cocción y las pérdidas por cocción de los espaguetis sin gluten. Algunos parámetros de textura (dureza, adhesividad y masticabilidad) fueron afectados por el proceso utilizado en la elaboración de los espaguetis de harina de plátano. Se observó que, en los espaguetis de harina de plátano, el proceso de laminado facilitó la formación de una red de CMC, que ayudó a disminuir las pérdidas por cocción.

Tabla 1. Tiempo óptimo de cocción y % de Pérdidas por cocción de los espaguetis

Espaguetis	tiempo (min)	% de Pérdidas por cocción
SL	4.5 ± 0.55 ^c	4.02± 0.24 ^d
PL	5.0 ± 1.10 ^c	11.66±0.29 ^b
SE	7.5 ± 0.55 ^b	10.25±0.55 ^c
PE	12.0 ± 0.00 ^a	14.99±0.80 ^a

Los valores son la media ± desviación estándar, n=3, base seca. Diferentes letras en cada columna representan diferencia estadística entre las muestras ($\alpha=0.05$). ETL=espagueti elaborado con sémola de trigo por método laminado. EPL= espagueti elaborado con harina de plátano por método laminado. ETE= espagueti elaborado con sémola de trigo por método extrudido. EPE= espagueti elaborado con harina de plátano por método extrudido.

Tabla 2. Parámetros obtenidos por APT de espaguetis

Espaguetis	Dureza (N)	Elasticidad	Cohesividad	Adhesividad (N*s)	Masticabilidad (N)
ETL	87.56 ± 21.77 ^c	0.98 ± 0.02 ^a	0.58 ± 0.06 ^b	0.91 ± 0.47 ^b	49.06 ± 9.46 ^b
EPL	107.61 ± 9.69 ^b	1.00 ± 0.01 ^a	0.39 ± 0.05 ^c	4.42 ± 1.95 ^a	41.60 ± 7.14 ^c
ETE	72.42 ± 9.82 ^c	1.00 ± 0.02 ^a	0.54 ± 0.05 ^b	1.00 ± 0.35 ^b	39.20 ± 3.22 ^c
EPE	158.67 ± 6.46 ^a	1.00 ± 0.02 ^a	0.76 ± 0.02 ^a	2.74 ± 0.58 ^a	120.80 ± 7.00 ^a

Los valores son la media ± desviación estándar, n=14. Diferentes letras en cada columna representan diferencia estadística entre las muestras ($\alpha=0.05$). ETL=espagueti elaborado con sémola de trigo por método laminado. EPL= espagueti elaborado con harina de plátano por método laminado. ETE= espagueti elaborado con sémola de trigo por método extrudido.

EPE= espagueti elaborado con harina de plátano por método extrudido. N=Newtons. N*s=Newtons* segundo

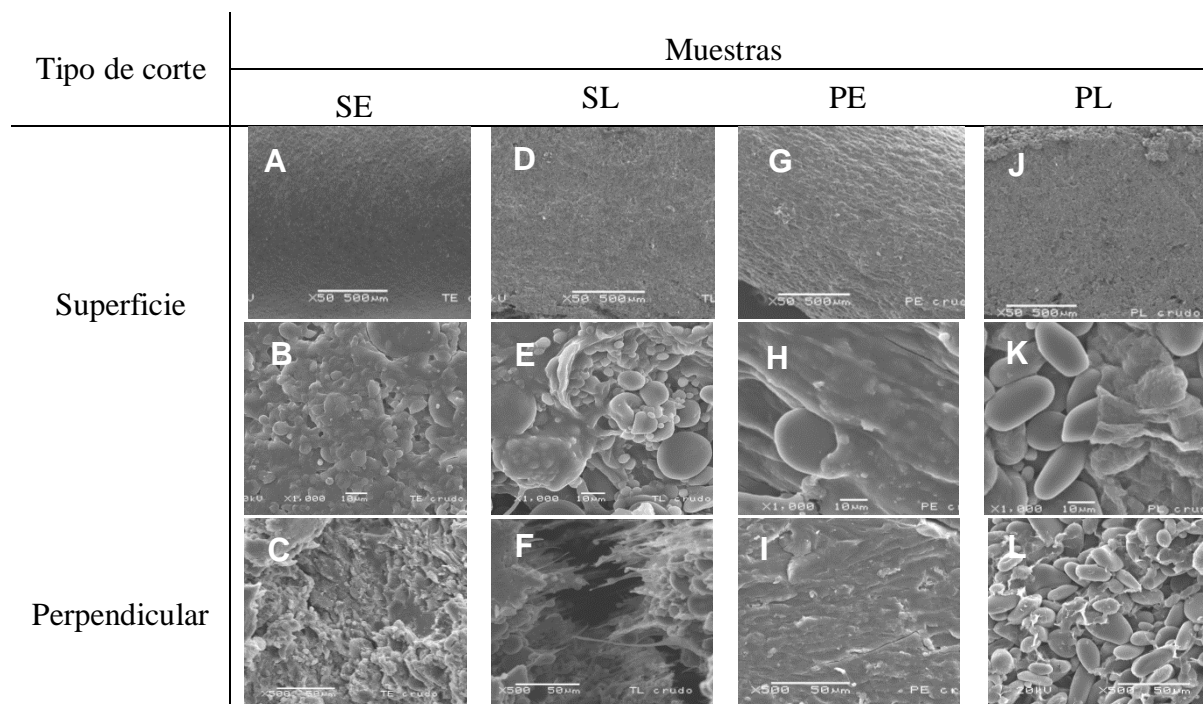


Figura 1. Micrografías obtenidas de espaguetis crudos. (A, B, D, E, G, H, J y K imagen de la superficie del espagueti. C, F, I y L imagen del corte perpendicular del espagueti).

BIBLIOGRAFÍA

- AACC 2000. Approved methods of the American association of cereal chemists. The Association: St. Paul, MN: 10th.
- Agama-Acevedo, E., Islas-Hernández, J. J., Osorio-Díaz, P., Rendón-Villalobos, R., Utrilla-Coello, R. G., Angulo, O. and Bello-Pérez L. A. 2009. Pasta with unripe banana flour: physical, texture, and preference. study. *Journal of Food Science* 74(6):263-267.
- Baiano, A., Conte, A. and Del Nobile, M. A. 2006. Influence of drying temperature on the spaghetti cooking quality, *Journal of food engineering* 76(2): 341-347.
- Brennan, C. S. and Tudorica, C. M. 2007. Fresh pasta quality as affected by enrichment of nonstarch Ppolysaccharides. *Journal of Food science* 72(9): S659-S665.
- Carini, E., Vittadini, E., Curti, E., Antoniazzi, F. and Viazzani, P. 2009. Effect of different mixers on physicochemical properties and water status of extruded and laminated fresh pasta. *Food Chemistry* 122:462-469.
- Carini, E., Vittadini, E., Curti, E. and Antoniazzi, F. 2010. Effects of different shaping modes on physic-chemical properties and water status of fresh pasta. *Journal of Food Engineering* 93:400-406.
- Chillo, S., Laverse, J., Falcone, P. M. and Del Nobile, M. A. 2007. Effect of carboxymethylcellulose and pregelatinized corn starch on the quality of amaranthus spaghetti. *Journal of Food Engineering* 83:492-500.
- Cubadda, R. R., Carcea, M., Marconi, E. and Trivisonno, M. C. 2007. Influence of gluten proteins and drying temperature on cooking quality of durum wheat pasta. *Cereal Chemistry*. 84(1):48-55.

Hoseney, C. 1999. Principles of cereal science and technology (pp.269-274). St. Paul, MN, USA: American Association Of Cereal Chemists.

Lucisano, M., Cappa, C., Fongaro, L. and Mariotti, M. 2012. Characterisation of gluten-free pasta through conventional and innovative methods: Evaluation of the cooking behavior. *Journal of Cereal Science* 56:667-675.

Marti, A. and Pagani, A. 2013. What can play the role of gluten in gluten free pasta?. *Trends in Food Science & Technology* (31) 63-71.

Ovando-Martinez, M., Sáyago-Ayerdi, S., Agama-Acevedo, E., Goñi, I. and Bello-Pérez, L. A. 2009. Unripe Banana Flour As An Ingredient To Increase The Undigestible Carbohydrates of Pasta. *Food Chemistry* 113:121–126.

Padalino, L., Mastromatteo, M., Lecce, L., Cozzolino, F. and Del Nobile, M. A. 2013. Manufacture and characterization of gluten-free spaghetti enriched whit vegetables flour. *Journal of cereal Science* 1-10.

Petitot, M., Abecassis, J. and Micard, V. 2009. Structuring of pasta components during processing: impact on starch and protein digestibility and allergenicity. *Trends in Food Science & Technology* 20:521-532.

Puppin, Z. R., Assunção, B. R.B., Gandolfi, L., Selva, G. J., Martins, M. F. and Pratesi, R. 2012. Green Banana Pasta: An Alternative for Gluten-Free Diets. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics* 112(7):1068-1072.

Sozer, N. Dalgiç, A. C. and Kaya, A. 2007. Thermal, textural and cooking propertie of spaghetti enriched whit resistant starch. *Journal of Food Engineering* 81:476-484.

Tudorica, M. C., Kuri, V. and Brennan, C. S. 2002. Nutritional an physicochemical Characteristics of Dietary fiber Enriched Pasta. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50:347-356.

Zardetto, S. and Dalla Rosa, M. 2009. Effect of extrusion process on propieperties of cooked, fresh egg pasta. *Journal of Food Engineering*. 92:70-77.

CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE HARINA MODIFICADA DE PLÁTANO MACHO (*Musa paradisiaca* L.)

F.Carlos-Amaya^{*}, L.A. Bello-Pérez, P. Osorio-Díaz

Instituto Politécnico Nacional, Centro de Desarrollo de Productos Bióticos, Desarrollo Tecnológico. Calle CEPROBI No. 8, Col. San Isidro, 62731, Yautepec, Morelos, México

**fcarlosa0800@ipn.mx*

INTRODUCCIÓN

El plátano es el segundo fruto de mayor producción después de los cítricos (FAO, 2009). Carson (1972) reportó que el plátano en estado verde o inmaduro podría ser una alternativa para obtener almidón, y obtener harina con propiedades y características funcionales similares al almidón. Por lo tanto, se ha venido proponiendo el uso de harina de plátano en estado inmaduro (HPI) como una alternativa de uso, debido a que esta contiene cantidades considerables de fibra dietética (FD) (Carson, 1972; da Mota et al., 2000; Bello et al., 2011). Además tiene como principal constituyente al almidón, el cual se ha reportado que alrededor del 60% es almidón resistente (AR) (Englyst y Cummings 1986). La HPI presenta una sabor astringente, dicha característica es debido a que contiene compuestos polifenólicos. Los plátanos son ricos en dopamina y vitamina C, a los cuales se les atribuyen actividad antioxidante alta (Aurore et al., 2009; Mohapatra et al., 2010), lo que indica que la HPI sea considerado ingrediente rico en FD, AR y antioxidantes. Estos antioxidantes (AO) son compuestos bioactivos los cuales se han asociado con la prevención de diversos problemas de salud, debido a que tienen la habilidad de atrapar radicales libres que causan daño a las moléculas y envejecimiento celular (Bello-Pérez et al., 2011).

Con HPI se han elaborado diferentes productos de como pan (Juárez-García et al., 2006), galletas (Utrilla-Coello et al., 2010; Agama-Acevedo et al., 2012) y espaguetis (Ovando-Martínez et al., 2008), pero el contenido de AR y parte de FD disminuye durante la elaboración y cocción de estos productos (Englyst y Cummings, 1986). En este sentido, la HPI ha sido modificada mediante tratamientos hidrotérmicos, para aumentar el contenido y la estabilidad térmica del AR (Carlos-Amaya et al., 2013; de la Rosa-Millán et al., 2014). La finalidad es obtener un ingrediente listo para el consumo, que se pueda añadir a fruta fresca, licuados o bebidas instantáneas. Los cambios en los AO en la HPI modificada aún no se han reportado. El objetivo de este trabajo fue determinar el contenido de polifenoles extraíbles (PE), taninos hidrolizables (TH), taninos condensados (TC) y actividad antioxidante (CA), en HPI antes y después de tratamientos hidrotérmicos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de la harina y modificación por *annealing*

Se utilizaron plátanos en estado inmaduro, variedad *Musa paradisiaca* L. Los cuales se pusieron en un baño de agua a 100°C, durante 5 minutos, posteriormente se pelaron, cortaron, se secaron a 40°C, se trituraron y se tamizaron a través de malla 50 US. Después, la harina de plátano se modificó por *annealing* (HPM) a 70% humedad, a 65 °C ± 1, 24 h (de la Rosa-Millán et al., 2014).

Extracción y cuantificación de polifenoles extraíbles

Los polifenoles extraíbles se determinaron por el método de Folin-Ciocalteu (Singleton y col., 1999). Se pesaron 500 mg de muestra, se adicionaron 10 mL de metanol acidificado y se agitó por 1 h a temperatura ambiente. Posteriormente, se centrifugó a 3000 g por 15 min y se recuperó el sobrenadante en un matraz aforado de 25 mL. Al residuo se le adicionaron 10 mL de una solución acetona-agua (70:30), se agitó por 1 h a temperatura ambiente y se centrifugó nuevamente. El sobrenadante obtenido se mezcló con el obtenido anteriormente y se aforó con una mezcla al 50 % de las soluciones utilizadas para la extracción. El residuo de la muestra se guardó a 4 °C para su posterior análisis. Se realizó una curva patrón con ácido gálico, los resultados se expresaron como equivalentes de ácido gálico.

Extracción y cuantificación de taninos hidrolizables

La extracción de los taninos hidrolizables se realizó siguiendo el método descrito por Hartzfeld y col. (2002). A partir del residuo de polifenoles extraíbles se pesaron 200 mg de muestra y se adicionaron 20 mL de metanol y 2 mL de ácido sulfúrico concentrado. Se incubaron a 85 °C durante 20 h. Posteriormente se centrifugaron a 3000 g por 15 min, recuperando el sobrenadante en un matraz aforado de 50 mL. El residuo se lavó con 10 mL de agua destilada dos veces consecutivas y se recuperó el sobrenadante en el mismo matraz. Finalmente, el extracto se aforó con agua destilada, y se determinaron con el método de Folin-Ciocalteu. Se realizó una curva patrón con ácido gálico, los resultados se expresaron como equivalentes de ácido gálico.

Extracción y cuantificación de taninos condensados

La extracción de taninos condensados se realizó siguiendo el método descrito por Reed y col. (1982). A partir del residuo de la extracción de polifenoles extraíbles se adicionaron 10 mL de una solución butanol/HCl/FeCl₃ y se incubaron por 3 h a 100 °C. Posteriormente, se centrifugaron a 3000g durante 15 min. El sobrenadante se recuperó en un

matraz aforado de 25 ml y se aforó con la solución antes mencionada. Finalmente, se leyó la absorbancia de la muestra a 555 nm.

Determinación de la actividad antioxidante por ABTS (Ácido 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico))

La capacidad antioxidante se determinó por el método de Re y col. (1999) modificado por Pulido y col. (2003). Se generó el radical ABTS•+ con persulfato potásico y se diluyó con metanol puro hasta obtener una absorbancia de 0.70 ± 0.02 a 658 nm. La capacidad antioxidante se midió, adicionando 3.9 mL de ABTS•+ con 100 μ L del extracto de la muestra. Se leyó la absorbancia a los 0 s y a los 7 min a 658 nm.

Determinación de la actividad antioxidante por DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidracil)

La capacidad antioxidante se determinó por el método de Brand-Williams (1995). Se preparó una solución metanólica de DPPH a una concentración de 0.025 g/L. La disminución de la absorbancia del tiempo 0 s hasta 60 min a 515 nm, después de adicionar 3.9 mL de DPPH con 100 μ L del extracto de la muestra fue considerada.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se determinó en contenido de los polifenoles extraíbles (PE) y los no extraíbles [Taninos hidrolizables (TH) y condensados (TC)], presentes en la harina de plátano inmaduro (HPI) y en harina de plátano que fue sometida a procesos hidrotérmicos (*annealing*). A menudo las fibras de frutas tienen una función específica debido a la presencia de cantidades significativas de compuestos de menor importancia con alta actividad biológica, como los polifenoles y carotenoides (Saura-Calixto y Jiménez-Escrig, 2001; Huang et al., 2005; Saura-Calixto, 2011; Vázquez-Flores et al., 2012), mejor conocidos como fitoquímicos (Andrés et al., 2010 en Vázquez-Flores et al., 2012). En la tabla 1, se muestran los resultados de PE, TH y TC. En cuanto al contenido de PE osciló entre 0.92-0.93 mg EAG/g, no encontrando diferencias significativas entre la harina modificada (HPM) y HPI. Se ha reportado que el plátano es rico en compuestos polifenólicos y flavonoides, los cuales han mostrado actividad antioxidante (Mohapatra et al., 2010). No obstante se ha reportado una variabilidad en cuanto al contenido de PE. Según la base de datos Phenol-explorer (2013) el plátano contiene $1.547 \text{ mg/g} \pm 0.78$ de polifenoles totales. De entre los cuales los mayoritariamente encontrados son (+)-catequina, (+)-epicatequina, (-)-epigallocatequina y ácido gálico. Según D'Archivio et al. (2010) la gran variación en cuanto al contenido de polifenoles se refiere, se relaciona principalmente con factores ambientales, como la

exposición al sol y el grado de madurez; a tratamientos térmicos como homogenización, liofilización, métodos de preparación, cocción, elaboración y el almacenamiento; así como también a la presencia de una matriz del alimento, que no permita su liberación, como enlaces entre proteínas y carbohidratos; y a la misma estructura química de los polifenoles.

En el contenido de TH presentaron un comportamiento similar al encontrado en los PE, no se encontraron diferencias significativas entre ambas muestras. En cuanto al contenido de TC, se encontraron cantidades significativas en ambas muestras. Sin embargo, en HPM se observó la disminución de los TC. El contenido de polifenoles no extraíbles fue alto, específicamente en el contenido de TC (49.05 mg/g), en la HPI; en la HPM dicho contenido disminuyó (29.72 mg/g), probablemente debido a la temperatura a la que se realizó el tratamiento hidrotérmico. Este contenido es comparable con el reportado en fuentes ricas en TC. Vázquez-Flores et al. (2010), señalan que los TC se encuentran principalmente en las frutas como bayas salvajes (2.55 mg/g) y arándanos (2.33 mg/g); cereales y leguminosas como el sorgo (29.27 mg/g) y cacao (15.68 mg/g) y la canela (25.08 mg/g) solo por mencionar algunas (USDA, 2004).

Los polifenoles no extraíbles (TH y TC) son constituyentes de materiales vegetales y alimentos de origen vegetal (Arranz et al., 2010). Estos tienen importancia nutricional, aunque por lo general se pasan por alto a pesar de que también son compuestos bioactivos con potencial para la salud. A los TH y TC se les ha atribuido actividades anticancerígena, antitumoral, anti diabético, antioxidante y antibacterial (Vázquez-Fuentes et al., 2010).

En las tablas 2 y 3 se muestran la capacidad antioxidante (CA) para PE, TH y TC, por 2 diferentes métodos: por reducción del radical ABTS (Ácido 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) y el radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracil). Los compuestos antioxidantes se encuentran dentro de la dieta, y resulta esencial conocer la cantidad y biodisponibilidad de éstos. En la determinación de la CA con el radical ABTS, se observó que, en HPI, los TC presentaron el mayor % de inhibición (60.65%), seguida de los PE (37.37%) y en menor % de inhibición los TH (19.13%). En la HPM el tratamiento por *annealing* ocasionó la disminución de la capacidad antioxidante de los TC (27.72%), lo que está relacionado con la disminución del contenido de estos (Tabla 1). En el caso de la CA de los PE, el porcentaje de inhibición también disminuyó por la modificación (HPM 28.48%; HPI 37.37%), aún cuando la concentración de PE no fue diferente en ambas harinas. Mientras que la CA de los TH no fue diferente entre ambas muestras; sin embargo, es menor que la CA de PE, a pesar de que la concentración de TH es mayor.

En la CA con el radical DPPH se observó que el % de inhibición para TH y TC éste fue mayor en comparación al % de inhibición por ABTS. Esto puede ser debido a la conformación química y estructural de los compuestos antioxidantes presentes en la harina de plátano, que pudieran ser más afines al radical DPPH, recién formado, ya que requiere la presencia de grupos hidroxilo para soportar la reacción (Jiménez et al., 2005). Se encontró mayor % de inhibición en el extracto de TC (84.89%) en la HPI en comparación al encontrado en la CA de ABTS para la misma muestra (60.65%). También la CA de los TC disminuyó por efecto del tratamiento hidrotérmico en HPM (67.76%). La CA para los TH se presentó un % de inhibición mayor al encontrado por ABTS (58.64 % para HPI y 57.14% para HPM). La CA de lo PE fueron los que presentaron menor % de inhibición, 27.89% para HPI y 22.31% para HPM. Esto es de importancia, debido a que tanto TH y TC presentaron % de inhibición, indicando que presentan actividad antioxidante, por lo que la HPM se podría recomendar como ingrediente listo para su consum, ya que a pesar de que el contenido de compuestos polifenólicos fue modificado por efecto de los tratamientos hidrotérmicos, se conservan compuestos polifenólicos con capacidad antioxidante. Pudiendo ayudar, al AR, en el efecto preventivo de cáncer (Vázquez-Flores et al., 2012).

CONCLUSIONES

La CA estuvo en relación a la concentración de TH, para ambos métodos. La CA fue similar por ambos métodos. La CA se vio disminuida por efecto de los tratamientos térmicos, tanto para ABTS como DPPH. La HPM después de los tratamientos conserva compuestos fenólicos con CA, pero afecta la concentración de TC.

Tabla 1. Contenido de polifenoles extraíbles (PE), taninos condensados (TC) y taninos hidrolizables (TH) de harina de plátano inmaduro (HPI) y modificada (HPM)

Muestra	Polifenoles no extraíbles		
	PE (mg EAG/g)	TH (mg EAG/g)	TC (mg/g)
HPI	0.93 ± 0.25 ^a	1.60 ± 0.32 ^a	49.05 ± 0.78 ^a
HPM	0.92 ± 0.21 ^a	1.66 ± 0.04 ^a	29.72 ± 0.33 ^b

Media de 3 repeticiones ± desviación estándar. Letras iguales en la misma columna indican que no hay diferencias significativas (p=0.05). mg EAG: miligramos equivalentes de ácido gálico.

Tabla 2. Capacidad antioxidante por el método con ABTS de harinas de plátano inmaduro (HPI) y modificada (HPM)

Muestra	PE (% inhibición)	TH (% inhibición)	TC (% inhibición)
HPI	37.37 ± 1.21 ^a	19.13 ± 0.99 ^a	60.65 ± 2.46 ^a
HPM	28.48 ± 0.45 ^b	18.57 ± 0.47 ^a	27.72 ± 1.41 ^b

Media de 3 repeticiones ± desviación estándar. Letras iguales en la misma columna indican que no hay diferencias significativas (p=0.05). Polifenoles extraíbles (PE), taninos hidrolizables (TH) y taninos condensados (TC).

Tabla 3. Capacidad antioxidante por el método con DPPH de harinas de plátano inmaduro (HPI) y modificada (HPM)

Muestra	PE (% inhibición)	TH (% inhibición)	TC (% inhibición)
HPI	27.89 ± 0.32 ^a	58.64 ± 0.71 ^a	84.89 ± 0.28 ^a
HPM	22.31 ± 1.86 ^b	57.14 ± 0.68 ^a	67.76 ± 1.44 ^b

Media de 3 repeticiones ± desviación estándar. Letras iguales en la misma columna indican que no hay diferencias significativas (p=0.05). Polifenoles extraíbles (PE), taninos hidrolizables (TH) y taninos condensados (TC).

BIBLIOGRAFÍA

- FAO (Food and Agricultural Organization, Geneva). 2009. En línea [www.fao.org/production/faostat]
- Carson E.M. 1972. Functional properties of banana starch. Tesis de maestría. Instituto Tecnológico de Massachusetts, USA.
- Da Mota, R. V.; Lajolo, F. M.; Ciacco, C. and Cordenusi, B. R. 2000. Composition and functional properties of banana flour from different varieties. *Starch/Starke*, 52, 63-68.
- Englyst, H. N. and Cummings, J. H. 1986. Digestion of the carbohydrates of banana (*Musa paradisiaca* sapientum) in the human small intestine. *American Journal of Clinical Nutrition*, 44: 42-50.
- Juárez-García E., Agama-Acevedo E., Sáyago-Ayerdi S. G., Rodríguez-Ambriz S. L. and Bello-Pérez L. A. 2006. Composition, digestibility and application in breadmaking of banana flour. *Plant Food for Human Nutrition*, 61, 131-137.
- Utrilla-Coello, R.G., Agama-Acevedo, E., Osorio-Díaz, P., Tovar, J and Bello-Pérez, L. A. 2010. Composition and starch digestibility of whole grain bars containing maize or unripe banana flours. *Starch/Stärke*, 63(7): 416-423.
- Agama-Acevedo, E., Islas-Hernández, J.J. Pacheco-Vargas, G., Osorio-Díaz, P. and Bello-Pérez, L.A. 2012. Starch digestibility and glycemic index of cookies partially substituted with unripe banana flour. *LWT-Food Science and Technology*, 46: 177-182.

Ovando-Martínez, M., Sayago-Ayerdi, S., Agama-Acevedo, E., Goñi, I. and Bello-Pérez, L. A. 2008. Unripe banana flour as a ingredient to increase the undigestible carbohydrates of pasta. *Food Chemistry*, 113:121-126.

Aurore, G., Parfait, B. and Fahrasmane, L. 2009. Bananas, raw materials for making processed food products. *Trends in Food Science & Technology*, 20: 78-91.

Mohapatra, D., Mishra, S. y Sutar, N. 2010. Banana and its by-product utilisation: an overview. *Journal of Scientific Industrial Research*, 69: 323-329.

Bello-Pérez LA, Agama-Acevedo E, Osorio-Díaz P, Utrilla-Coello RG, and García-Suárez FJ. 2011. Banana and mango flours. In VR Preedy RR Watson and VB Patel (Eds.), *Flour and breads and their fortification in health and disease prevention* (pp. 235-245). London, Burlington, San Diego.

Carlos-Amaya, F. Bello-Pérez-L.A. y Osorio-Díaz, P. 2013. Fracción indigerible de harina modificada de plátano. XV Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Colima, Colima. México.

de la Rosa-Millán, J., Agama-Acevedo, E., Osorio-Díaz, P. and Bello-Pérez, L.A. 2014. Effect of cooking, annealing and storage on starch digestibility and physicochemical characteristics of unripe banana flour. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. Artículo en prensa.

Singleton, V. L., Orthofer R. and Lamuela-Raventos R. M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299: 52-178.

Hartzfeld P. W., Forkner R., Hunter D. M. and Hagerman A. E. 2002. Determination of hydrolysable tannins (gallotannins and ellagitannins) after reaction with potassium iodate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 1785-1790.

Reed J., McDowell R. E., Van Soest P. J. and Horvarth P. J. 1982. Condensed tannins: a factor limiting the use of cassava forage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 33: 213-220.

Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M. and Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, 26: 1231-1237.

Pulido R., Hernández-García M. and Saura-Calixto F. 2003. Contribution of beverages to the intake of lipophilic and hydrophilic antioxidants in the Spanish diet. *European Journal of Clinical Nutrition*, 57, 1275-1282.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. y Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm Wiss Technology*, 28(1): 25-30.

Saura-Calixto, F. y Jiménez-Escrig, A. 2001. Compuestos bioactivos asociados a la fibra dietética. En: E.M. Lajolo, F. Saura-Calixto, E. Wattig de Penna y E. Wenzel de Menezes, (eds) *Fibra dietética en iberoamerica: Tecnología y salud*. Ed. Varela. Sao Pablo, pp. 103-126.

Huang, D., Ou, B. and Prior, R. 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 1841-1856.

Saura-Calixto, F. 2011. Dietary fiber as a carrier of dietary antioxidants: an essential physiological function. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59:43-49.

Vázquez-Flores, A., Álvarez-Parrilla, E., López-Díaz, J.A., Wall-Medrano, A. y De la Rosa, L.A. 2012. Taninos hidrolizables y condensados: naturaleza química, ventajas y desventajas de su consumo. *Tecnociencia onaerense*, 24(3): 337-342.

Andrés, C., Medina, A., Liorach, R., Urpi, M., Khan, N., Chiva, G., Zamora, R., Rotches, M., Lamuela, R. 2010. Phenolic compounds: chemistry and occurrence in fruits and vegetables. En: De la rosa, L.A., Alvarez-Parrilla, E. y Gonzalez-Aguilar, G.A.(eds). *Fruits and vegetable phytochemicals, chemistry, nutritional value and stability*. USA. Wiley-Blackwell. Pp: 53-88.

Phenol-Explorer, 2013. Data base on polyphenol content in foods. En línea [www.phenol-explorer.eu] Septiembre del 2013

D'Archivio, M., Filesi, C., Vari, R., Scazzocchio, B. y Masella, R. 2010. Bioavailability of the polyphenols: status and controversies. *International Journal of Molecular Science*, 11: 1321-1342.

United States Department of Agriculture. 2004. USDA database for the proanthocyanidins content of selected foods.

Arranz, S., Silván, J.M. y Saura-Calixto, F. 2010. Nonextractable polyphenols, usually ignored, are the major part of dietary polyphenols: A study on the Spanish diet. *Molecular Nutrition & Food Research*, 54: 1646-1658.

Jiménez, N., Londoño, J. y Arango, G. J. 2005. Actividad captadora de radicales libres y citotóxica de plantas colombianas de la familia Annonaceae. *Acta Farmacéutica Bonaerense*, 24(3): 337-342.

ANÁLISIS DE LA PRODUCCIÓN DE FIBRA A PARTIR DE SUBPRODUCTOS CÍTRICOS MEDIANTE PROPIEDADES DIELECTRICAS

Clara Talens^a, Marta Castro-Giráldez^b, Pedro J. Fito^b

^a AZTI-Tecnalia, Unidad de Investigación Alimentaria, Derio, Spain

^b Laboratorio de Propiedades Dieléctricas, Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo, IIAD, Universidad Politécnica de Valencia, Spain

*author for correspondence: pedfisu@tal.upv.es

INTRODUCCIÓN

La industria de zumos produce un gran cantidad de subproductos actualmente aún poco valorizados. Existe una creciente demanda para el desarrollo de estrategias innovadoras que permitan revalorizar estos subproductos cítricos, transformándolos en ingredientes alimentarios con propiedades beneficiosas para la salud, mediante el empleo de procesos económica y ambientalmente sostenibles.

Los subproductos cítricos son una fuente potencial de diferentes compuestos bioactivos tales como fibra dietética y antioxidantes naturales, entre otros; además de aromas y colorantes alimentarios (Garau et al, 2007).

Los costes de secado limitan la mayoría de las rutas propuestas para su valorización. En trabajos anteriores se ha observado que el secado por microondas de subproductos vegetales (pulpa de tomate, gajos de manzana, piel de naranja, etc) podía reducir potencialmente los costes de vaporización, resultando en un producto estable para su posterior conversión en fibra dietética, con una calidad microbiológica, sensorial y tecnológica adecuada (Al- Harahsheh et al, 2009; Huang et al, 2012). Una correcta cuantificación de las transformaciones microestructurales, producidas durante el proceso de secado por microondas, puede facilitar el diseño de estructuras que faciliten la extracción de aromas no deseados en etapas posteriores al secado.

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación de muestras

Naranjas de la variedad Navel se adquirieron en un supermercado local (Valencia). Se pelaron con un espesor de 5 mm y, posteriormente, las pieles se cortaron en cilindros de 20 mm con un descorazonador. El contenido medio en humedad de las muestras frescas se determinó mediante secado a vacío a 60°C hasta alcanzar peso constante (AOAC method

934.06, 2000). El contenido en humedad (xw) de las muestras frescas fue de $0,750 \pm 0,001$ g/g.

Operación de secado

Las muestras se sometieron a secado por aire forzado (AD) y secado por microondas combinado con aire caliente (AD+MW), utilizando un microondas domésticos modificado, donde la temperatura del aire, la velocidad del aire y la potencia de microondas pueden controlarse (Fig. 1).

La velocidad del aire se controló utilizando un anemómetro térmico TESTO 425 (precisión $\pm 0,03$ m/s). Considerando resultados previos, la temperatura de secado y la velocidad de secado óptima en el interior de la cavidad se mantuvieron a 55°C y $2,5$ m/s, respectivamente. La potencia de microondas utilizada se seleccionó de manera que las muestras no se quemaran durante el secado.

Las muestras de pieles de naranja se situaron en la rejilla con el flavedo orientado hacia arriba del secadero para facilitar el transporte de masa. Se llevaron a cabo cuatro experimentos de secado en triplicado (0 W/g, 2 W/g, 4 W/g y 6 W/g). Para cada experimento se obtuvieron muestras a los 5 min y a los 15 min en discontinuo (2 experimentos independientes). Para los tiempos 40 min, 60 min y 120 min, se llevó a cabo un único experimento secando las 9 muestras inicialmente y retirando la muestra correspondiente a cada tiempo. Las variaciones de masa y actividad de agua se analizaron a cada tiempo, tanto para las muestras frescas como para las secas. Las variaciones de masa se determinaron mediante un balanza Mettler Toledo Balance (± 0.0001 g) (Mettler-Toledo Inc., Schwarzenbach, Switzerland) y la actividad de agua se midió con un higrómetro de punto de rocío Aqualab series 3 TE (Decagon Devices Inc., Washington, USA).

Cada muestra se dejó reposar a 25°C durante 1 h en cápsulas de Decagon selladas con parafilm, con el objetivo de eliminar los perfiles de concentración de las muestras.

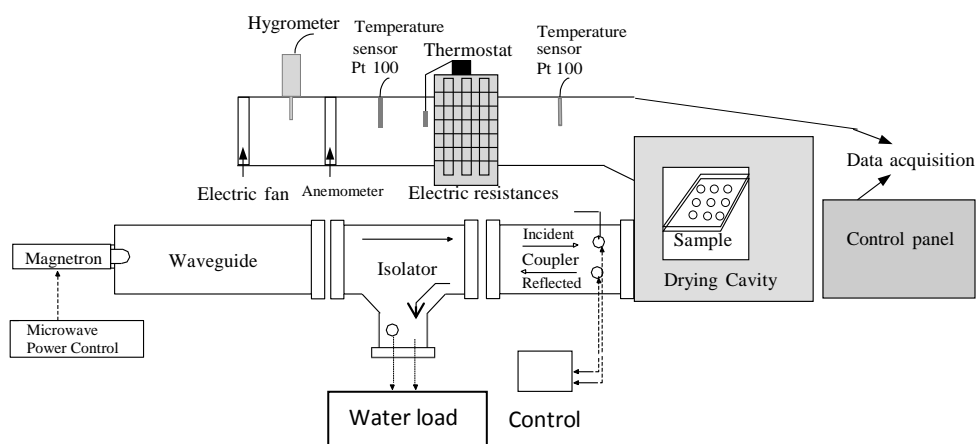


Figura 1 Descripción esquemática del equipo utilizado en el laboratorio para secar las muestras (adaptación de Contreras et al, 2008)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cinética de secado

La variación de masa y la a_w se determinaron para cada tiempo antes y después del tratamiento de secado (Tabla 1).

Tabla 1 Valores de a_w iniciales y finales obtenidos después del secado de piel de naranja a diferentes condiciones para los tiempos 5 min, 15 min, 40 min, 60 min y 120 min.

Condiciones de secado	a_{w0}	a_{w5}	a_{w15}	a_{w40}	a_{w60}	a_{w120}
AD + 0 W/g	0,981 ± 0,002	0,950 ± 0,007	0,930 ± 0,007	0,814 ± 0,030	0,314 ± 0,156	0,163 ± 0,023
AD + 2 W/g	0,972 ± 0,001	0,965 ± 0,081	0,905 ± 0,026	0,583 ± 0,045	0,210 ± 0,021	0,209 ± 0,023
AD + 4W/g	0,975 ± 0,003	0,965 ± 0,005	0,946 ± 0,006	0,409 ± 0,187	0,121 ± 0,011	0,083 ± 0,004
AD + 6 W/g	0,970 ± 0,001	0,946 ± 0,005	0,898 ± 0,007	0,203 ± 0,180	0,099 ± 0,000	0,130 ± 0,0125

La humedad de la piel de naranja (x_w , kg_w/kg_T) se calculó partir de las pérdidas de peso a lo largo del proceso de secado aplicando los diferentes balances de masas, y considerando un valor inicial de $0.754 \pm 0,0012 kg_w/kg_T$.

La Figura 2 muestra como la energía microondas, al tener mayor penetración, aumenta el efecto de secado del aire caliente. Después de 15 min de secado con aire caliente a $55^\circ C$, la humedad absoluta fue de $1,71 kg_w/kg_{dm}$ mientras que cuando el secado se realizó por aire caliente en combinación con 6 W/g de energía microondas, la humedad absoluta después de 15 min fue de $1,27 kg_w/kg_{dm}$. Igualmente, tras 120 min de secado con aire caliente, la

humedad absoluta fue de 0,38 kg_w/ kg_{dm}, pero cuando se combinó con 6 W/g de energía microondas la humedad absoluta descendió a 0,12 kg_w/ kg_{dm}.

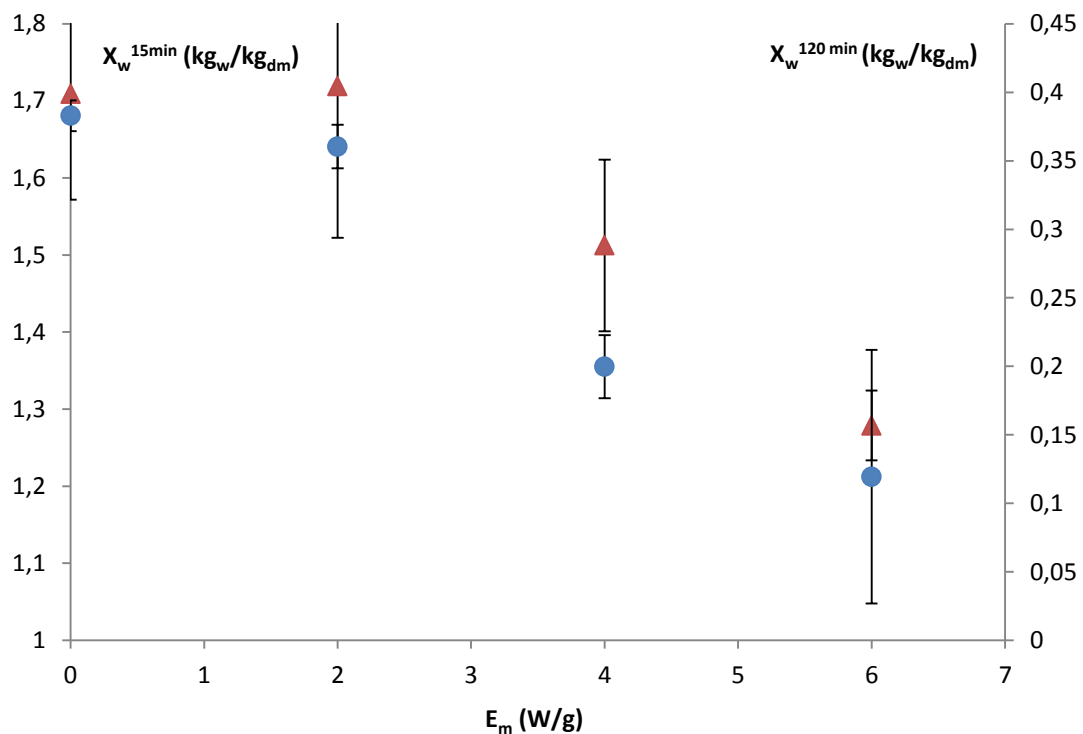


Figura 2 Efecto de la energía absorbida en la humedad absoluta (X_w) a los 15 min (\blacktriangle) y a los 120 min (\bullet) durante el secado de piel de naranja a diferentes densidades de potencia (E_m).

Además, la Figura 3 muestra como la velocidad de secado durante los primeros 5 min de secado con aire caliente fue de $0,124 \pm 0,005$ Kg_w/min, alcanzando una humedad absoluta de $2,69 \pm 0,01$ Kg_w/ Kg_{dm}. No obstante, cuando el secado se realizó utilizando aire caliente en combinación con 6 W/g de energía microondas, la velocidad de secado aumentó a $0,175 \pm 0,005$ Kg_w/min siendo la humedad absoluta después de los primeros 5 min de $2,56 \pm 0,01$ Kg_w/ Kg_{dm}.

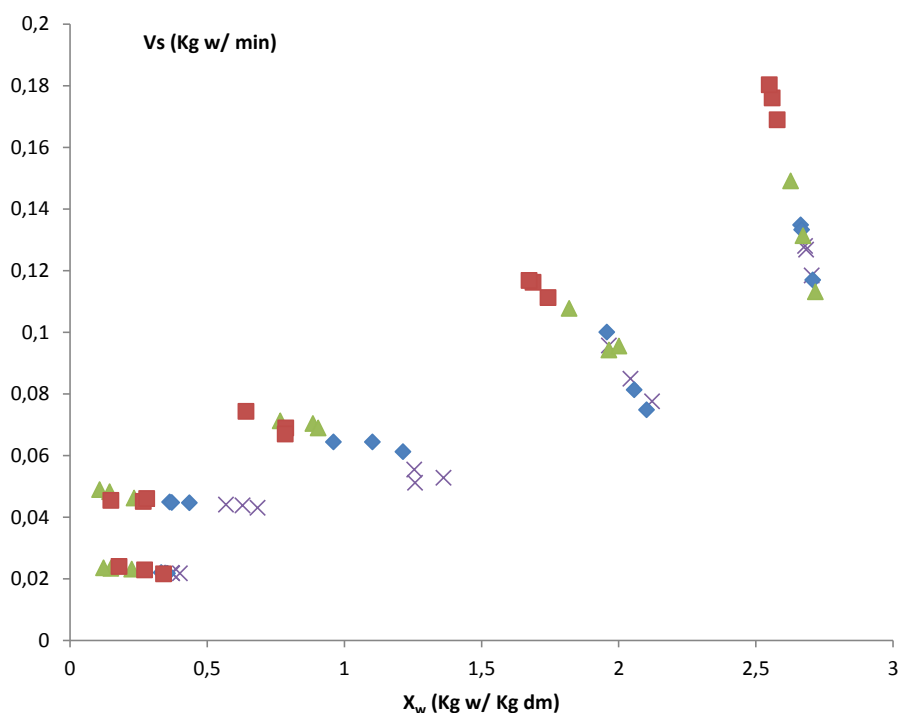


Figura 3 Curva de secado de la piel de naranja secada por aire caliente AD (×), AD + 2 W/g (◆), AD + 4 W/g (▲), AD + 6 W/g (■)

En la figura 3 se observa la curva de secado en el periodo de velocidad de secado decreciente, donde las muestras secadas con aporte de energía microondas adicional aumentan la velocidad de pérdida de agua. Este efecto se explica por la combinación de las fuerzas impulsoras en esta fase de la curva de secado: en la fase decreciente la fuerza impulsora es el transporte interno del agua, la energía microondas penetra en el tejido aumentando la movilidad del agua por su interior. Por tanto, la energía microondas no se emplea en calentar la muestra si no en movilizar el agua.

No obstante, las isotermas de desorción (Fig. 4) muestran como la relación entre la humedad absoluta y la actividad del agua no está afectada por los tratamientos de secado, a pesar de que las diferencias microestructurales demuestran una expansión de los poros del tejido de las pieles de naranja (Figura 5). Las isotermas respaldan la idea de que la energía microondas afecta solo al transporte interno del agua.

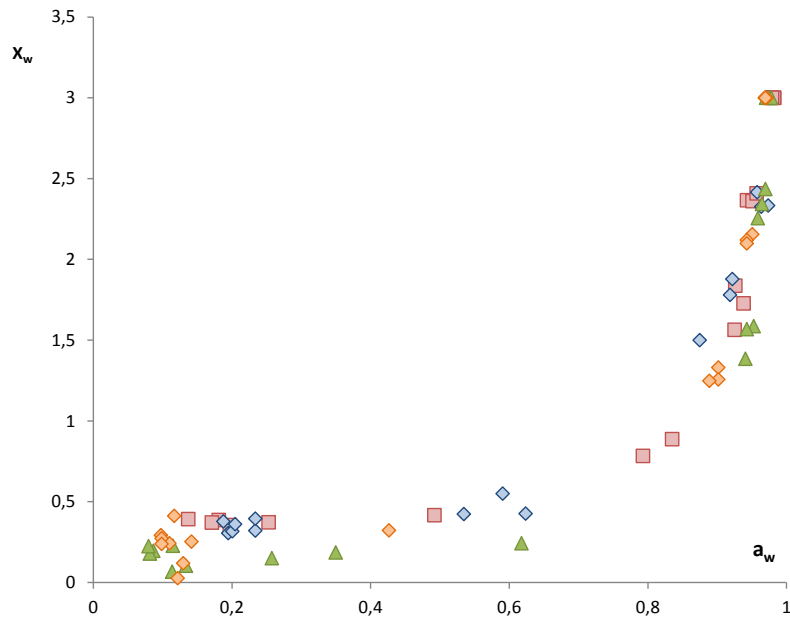


Figura 4 Isothermas de desorción de pieles de naranja secadas por aire caliente AD (■), AD + 2 W/g (◆), AD+ 4 W/g (▲), AD + 6 W/g (◇) .

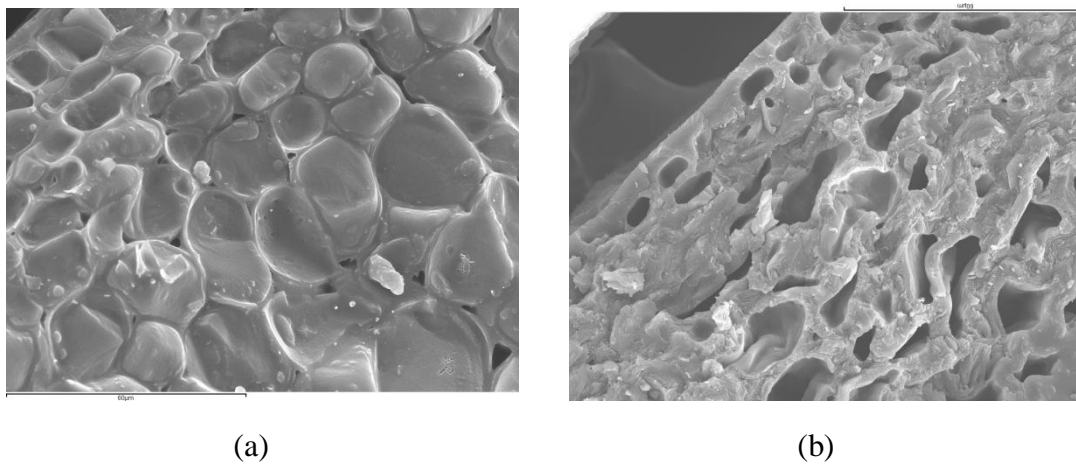


Figura 5 Imágenes capturadas por cryo-SEM (5.000 aumentos) mostrando la microestructura de piel de naranja fresca (a) y deshidratada (b) utilizando aire caliente (55°C) en combinación con 2 W/g de energía microondas.

CONCLUSIONES

Potencias altas de microondas aumentan la cantidad de agua que difunde a través del tejido de la piel para el mismo tiempo de secado.

La velocidad de secado fue más rápida cuando se combinó aire caliente y energía microondas que solo con aire caliente, mostrando que la energía microondas contribuye al transporte interno del agua.

BIBLIOGRAFÍA

Al-Harashsheh, M., Al-Muhtaseb, A. a. H., & Magee, T. R. A., 2009. Microwave drying kinetics of tomato pomace: Effect of osmotic dehydration. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 48(1), 524-531.

Contreras, C., Martín-Esparza, M.E., Chirat, A., Martínez-Navarrete, N., 2008. Influence of microwave application on convective drying: Effects on drying kinetics, and optical and mechanical properties of apple and strawberry. *Journal of Food Engineering* 88, 55-64.

Garau, M. C., Simal, S., Roselló, C., Femenia, A., 2007. Effect of air-drying temperature on physico-chemical properties of dietary fibre and antioxidant capacity of orange (*Citrus aurantium* v. *Canoneta*) by-products. *Food Chemistry* 104(3), 1014-1024.

Huang, L.-l., Zhang, M., Wang, L.-p., Mujumdar, A. S., & Sun, D., 2012. Influence of combination drying methods on composition, texture, aroma and microstructure of apple slices. *LWT - Food Science and Technology* 47, 183-188.

IMPACTO MICROESTRUCTURAL DE LOS PROCESOS DE CONGELACIÓN SOBRE CARNE DE CERDO MEDIANTE TÉCNICAS DE INFRARROJOS

N. Balaguer, M. Castro-Giráldez, P.J. Fito*

Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo, Universidad Politécnica de Valencia, Camino de Vera s/n, 46022 Valencia, España.*Email: pedfisu@tal.upv.es

RESUMEN

Dentro de los métodos de conservación empleados actualmente en la industria cárnica, la congelación ocupa un lugar destacado. El correcto desarrollo de dicha operación constituye un elemento clave para el mantenimiento del valor nutritivo y la calidad organoléptica de los productos cárnicos. De hecho, cualquier cambio fisicoquímico o estructural asociado a un inadecuado control de la cadena de frío, puede tener un impacto significativo en la calidad y seguridad de aquellos productos destinados a su ulterior venta y distribución. Ante la falta de métodos fiables que permitan determinar, in situ, si la carne ha estado expuesta a fluctuaciones de temperatura indeseadas o a reiterados ciclos de congelación, surge la necesidad de implementar nuevas técnicas de control, rápidas, eficaces y de fácil manejo. En este sentido, tanto la espectroscopia dieléctrica como la termografía infrarroja, se perfilan como tecnologías idóneas para satisfacer los requerimientos exigidos por las industrias cárnicas en materia de calidad y seguridad alimentaria.

El objetivo del presente trabajo de investigación fue determinar la utilidad de las técnicas anteriormente mencionadas, para desarrollar posibles modelos de detección de irregularidades en la operación de congelación o de rupturas en la cadena de frío. Para ello, se realizó una grabación del proceso de congelación de muestras de lomo de cerdo (*Longissimus Dorsi*) mediante una cámara térmica PI Optris®160 (OPTRIS GmbH, Berlín, Alemania) con un rango espectral de longitud de onda λ comprendido entre 7,5 y 13 μm . Asimismo, se simularon ciclos de congelación/descongelación en las muestras anteriormente estudiadas. El impacto que dichos ciclos ejercieron sobre el lomo de cerdo se analizó tanto, mediante microscopía electrónica (CRYOSEM), como mediante espectroscopia dieléctrica en el rango de microondas y radiofrecuencia. Los resultados obtenidos avalan la utilidad de dichas técnicas para detectar cambios a nivel estructural, asociados a un inadecuado control de la cadena de frío.

Palabras clave: Emisividad, propiedades dieléctricas, congelación, termografía infrarroja.

1. INTRODUCCIÓN

Actualmente, el mantenimiento de la cadena de frío durante las etapas de procesado y manipulación se ha convertido en uno de los elementos claves que permiten avalar una óptima calidad y seguridad en la industria cárnica. El hecho de que se produzcan fluctuaciones de temperatura no deseadas a lo largo del proceso productivo conlleva una aceleración de los procesos degradativos, con el consiguiente impacto negativo en la seguridad y en la calidad de los lotes de fabricación y distribución (Balaguer *et al.*, 2013).

La carne sometida a un inadecuado control en los procesos de refrigeración y congelación experimenta una marcada desestructuración del tejido muscular en comparación con la carne fresca. Dicha desestructuración lleva asociada una merma de la calidad del producto, tanto en lo que respecta a las propiedades sensoriales (textura, color, sabor), como al valor nutritivo del mismo (pérdida de vitaminas, valor biológico de las proteínas etc.) y, lo más importante, se aceleran los procesos de crecimiento microbiano, con el riesgo que ello conlleva para el consumidor.

No obstante, a pesar de las elevadas ventas que suponen este tipo de productos en el mercado agroalimentario, no existen métodos de control vigentes que permitan detectar de una manera efectiva, rápida y sencilla si la carne se ha visto expuesta a ciclos de congelación/descongelación, ya sea de manera fraudulenta (carne que se vende como fresca en el supermercado cuando realmente es carne congelada, por ejemplo) o bien a causa de fallos técnicos en el funcionamiento de las cámaras de frío.

Ante esta problemática, tanto la espectroscopia dieléctrica como la termografía infrarroja se perfilan como herramientas idóneas para cubrir las necesidades tecnológicas anteriormente mencionadas. De hecho, se espera que la implantación de dichas técnicas a tiempo real en un futuro próximo, incremente la productividad y mejore los ratios de liquidez las compañías. La finalidad no es otra que poder conformar un sistema de gestión y control inteligente con el que efectuar una detección temprana de carne no apta para consumo, detectando a su vez posibles fraudes.

El objetivo del presente trabajo de investigación es determinar el efecto que ejerce el flujo interno de agua en carne de cerdo durante la operación de congelación. A su vez, se pretende evaluar la utilidad de la termografía infrarroja y de la espectroscopia dieléctrica, en el rango de microondas y radiofrecuencia, para determinar la existencia de irregularidades en el mantenimiento de la cadena de frío.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Procedimiento experimental

Los experimentos se llevaron a cabo en 5 lomos de cerdo (*Longissimus dorsi*) recogidos transcurridas 6 horas postmortem. Previo a la congelación, se emplearon un total de 3 muestras de cada lomo para llevar a cabo la caracterización de la materia prima de acuerdo a los valores de $\text{pH}_{24\text{h}}$, coordenada $L_{24\text{h}}^*$ ($\text{CIEL}^*a^*b^*$) y drip loss obtenidos a las 24 horas post mortem (hpm), y conforme a los análisis de humedad, actividad de agua y propiedades dieléctricas en el rango de microondas y radiofrecuencia. A continuación, se realizó un estudio de calorimetría diferencial de barrido (DSC) con el fin de determinar el impacto del proceso de congelación en el estado de las proteínas del tejido muscular. Finalmente, se efectuó un estudio microestructural mediante microscopía electrónica de barrido a bajas temperaturas (Cryo-SEM) tanto en muestras frescas, como en muestras congeladas y expuestas a ciclos de congelación/descongelación. Una vez se llevó a cabo el muestreo, cada una de las muestras fue debidamente etiquetada, sellada con parafilm y almacenada a 4°C en una incubadora Hotcold-M (JP Selecta®) hasta que los correspondientes análisis fueron realizados.

El pH de las muestras se midió mediante un pHmetro de punzón S-20 SevenEasy™ (Mettler Toledo, Spain) a las 24 hpm. La determinación del drip loss se llevó a cabo según el método propuesto por Honikel (1998). El color de las muestras se analizó a partir de un espectro de reflectancia obtenido con un espectrocolorímetro Minolta CM-3600D (Minolta Co. Ltd., Japón) a las 24 hpm. Las coordenadas de color CIE $L^*a^*b^*$ (CIE, 1978) fueron suministradas por el equipo en base a un iluminante D65 y un observador 10°. La humedad de las muestras se determinó mediante un proceso de secado a 110°C a presión atmosférica de acuerdo a la normativa ISO 1442 (1997) para productos cárnicos. Finalmente, la actividad de agua superficial se obtuvo con un higrómetro de punto de rocío Decagon (Aqualab®, series 3 TE), con una precisión de $\pm 0,003$. Todos los análisis fueron realizados por triplicado.

2.2 Proceso de congelación

De cada lomo se extrajeron dos muestras cilíndricas de 6 cm de diámetro y 10 cm de altura en sentido perpendicular a la dirección de fibras musculares. Previamente al proceso de congelación, la masa de las muestras se registró con una balanza de precisión, modelo Mettler Toledo AB304-S (± 0.001). El proceso de congelación se llevó a cabo a una temperatura de -20°C en un congelador de aire forzado (Modelo. ACR-45/87, Dycometal, S.L, Barcelona,

España) a una velocidad de $0.1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ durante 245 min. Una cámara de infrarrojos Optris PI® 160 thermal imager (Optris GmbH, Berlin, Germany) se insertó en una lámina aislante de poliestireno extruido (68x52x4) (Chovafoam tipo 4I, Leroy Merlin, S.L, Valencia, España), empleada como tapadera del congelador. Dicho montaje se colocó aproximadamente a 20 cm de la superficie de la muestra. A su vez, se estableció una conexión directa entre la cámara y el ordenador, de manera que todo el proceso de congelación pudiese ser registrado en línea. Con el fin de calcular la energía reflejada recibida por la cámara de infrarrojos, se empleó una pegatina certificada de emisividad conocida ($\epsilon=0.95$) y 25 mm de diámetro como emisor de referencia. Dicha pegatina se colocó encima de una tira de aluminio adyacente a la superficie de la muestra. La evolución de la temperatura durante el proceso de congelación se controló mediante 4 termopares, conectados a un sistema de adquisición de datos Agilent 34972A (Agilent Technologies, Malaysia). Los termopares se colocaron respectivamente: encima de la pegatina certificada, el aluminio, la superficie de la carne y dentro del congelador, éste último empleado con el fin de controlar la evolución de la temperatura ambiente. Una vez el centro de las muestras alcanzó una temperatura interna de -18°C , se registró de nuevo la masa de las mismas. A continuación, las muestras cilíndricas se almacenaron durante una semana en un congelador convencional (Model SJ-P6M-WH, Sharp, Spain), a una temperatura de -18°C . Transcurrido dicho tiempo, las muestras congeladas se seccionaron con el fin de que tuvieran las dimensiones apropiadas para efectuar un estudio microestructural y de propiedades dieléctricas. La muestra sobrante de cada cilindro se descongeló en una incubadora Hotcold-M(JP Selecta®) a 4°C durante 48 h. A continuación, tanto la humedad como la actividad de agua se analizaron por triplicado.

2.3 Análisis de infrarrojos

El análisis en la región infrarroja del espectro electromagnético fue realizado mediante una cámara termográfica (Optris GmbH, Berlin, Alemania) caracterizada por disponer de un plano focal bidimensional de 160x120 píxeles, rango espectral de longitud de onda de 7.5 a 13 μm , resolución de 0.05°C y una precisión de $\pm 2\%$. El rango de temperaturas cubierto por la cámara se encuentra comprendido entre -20 y 100°C . Su campo de visión es de $23^{\circ}\times 17^{\circ}$, siendo la distancia focal mínima de 0.02m. A su vez, la cámara viene provista del software Optris PI Connect (Optris GmbH, Berlin, Alemania) que permite adquirir termografías en línea y convertirlas en un formato adecuado para el posterior procesado de imágenes.

2.4 Propiedades dieléctricas

2.4.1 Rango radiofrecuencia: platos paralelos

La medida de las propiedades dieléctricas a baja frecuencia se realizó mediante la técnica de platos paralelos Agilent 16451B conectados a un analizador de impedancias Agilent 4294A. Entre los dos posibles electrodos que se pueden conectar al equipo de platos paralelos Agilent 14651B, se escogió el electrodo A, cuyo diámetro interno y externo es de 38 y 56 mm, respectivamente. Por otro lado, se analizaron lonchas de carne cuyo diámetro fue de 46 mm mientras que el grosor oscilaba entre 2-4 mm debido a las limitaciones del sistema de loncheado. Además, como método de contacto entre los dos electrodos se empleó el conocido como metal rígido. Dicho sistema se suele utilizar para muestras finas y materiales ligeramente comprensibles. Éste, permite a su vez establecer un buen contacto entre la muestra y los electrodos con el fin de asegurar la ausencia de aire entre los mismos. El equipo se calibró de acuerdo a las especificaciones del proveedor mediante el sistema Open/short. Las medidas se realizaron en dirección de las fibras musculares en un rango de frecuencia comprendido entre 40Hz y 4MHz.

2.4.2 Rango microondas: sonda coaxial

Los análisis de las propiedades dieléctricas en la región microondas del espectro electromagnético, se llevaron a cabo mediante una sonda coaxial Agilent 85070E conectada a un analizador de redes Agilent E8362B. La sonda se calibra midiendo primero el aire, seguidamente se aplica un accesorio formado por un polímero conductor en la parte final de la sonda, que provoca un cortocircuito y finalmente se procede a la calibración con agua Mili®-Q a 4°C. Todas las determinaciones se realizaron entre 500MHz y 20GHz siguiendo la dirección de fibras musculares.

2.5 Análisis de las transiciones de fase: Calorimetría Diferencial de barrido

Las transiciones de fase que ocurren durante el proceso de congelación se analizaron mediante un calorímetro diferencial de barrido Mettler Toledo DSC 1 (Mettler Toledo, España) provisto con un sensor FRS5. La calibración del equipo se realizó de manera automática mediante la función FlexCal suministrada por el fabricante. Muestras de aproximadamente 15-20 mg se introdujeron en crisoles de aluminio herméticamente sellados modelo Mettler Toledo DSC 1 (Mettler Toledo, Spain) y posteriormente se colocaron en el interior del equipo a temperatura ambiente. Un crisol de aluminio vacío y herméticamente sellado se empleó como muestra de referencia.

En este trabajo de investigación se llevaron a cabo tres barridos de temperatura. Primeramente, las muestras frescas se calentaron desde 15°C a 115°C a una velocidad de calentamiento de 10°C/min con el fin de evaluar el estado inicial de las proteínas en el tejido muscular. Un segundo barrido se programó para reproducir 2 ciclos de congelación/descongelación consecutivos. Para ello, se definieron 4 etapas. En cada etapa, las muestras se enfriaban desde temperatura ambiente hasta -20°C a una velocidad de 5°C/min, calentándose a continuación hasta alcanzar la temperatura ambiente. Finalmente, un último barrido se aplicó a las muestras congeladas con el objetivo de evaluar los fenómenos de formación de hielo y la influencia del proceso de congelación en el estado y la estructura de las proteínas. Para ello, se calentaron las muestras desde -20°C hasta 20°C a una velocidad de 5°C/min y de 20°C hasta 115°C a una velocidad de 10°C/min. Cada uno de los barridos fue realizado por triplicado. Posteriormente, los análisis de los termogramas obtenidos se llevaron a cabo mediante el software STARe proporcionado con el equipo. Los picos de cristalización y fusión se caracterizaron mediante las medidas del Onset, endset, temperatura de transición y energía libre involucradas en cada una de las transiciones.

2.6 Análisis de los cambios microestructurales: Microscopía electrónica de barrido a bajas temperaturas (CryoSEM)

La microestructura de las muestras frescas y congeladas se realizó mediante microscopía electrónica de barrido a bajas temperaturas (CryoSEM). Para ello, se empleó una unidad Cryo-Trans CT-1500C (Oxford Instruments, Witney, UK) acoplada a un microscopio electrónico de barrido Jeol JSM-5410 (Jeol, Tokyo, Japón). Primeramente, las muestras se sumergen en N₂ nieve (-210°C) y se transfieren a la unidad Cryo-Trans a una presión de 1kPa, donde la fractura de las muestras tiene lugar. A continuación, las muestras se introducen en la cámara del microscopio para que tenga lugar un proceso de sublimación a -95°C, eliminándose así el posible exceso de escarcha superficial. Finalmente, antes de proceder a su estudio, las muestras se recubren con Au en la unidad Cryo-Trans (0.2 kPa y 2mA). La observación se produce a 15KV y a una distancia de trabajo de 15 mm para la obtención de micrografías.

3. RESULTADOS

3.1 Análisis del proceso de congelación

En la figura 1 se muestra la curva de enfriamiento del lomo de cerdo obtenida con un termopar conectado a un sistema de adquisición de datos.

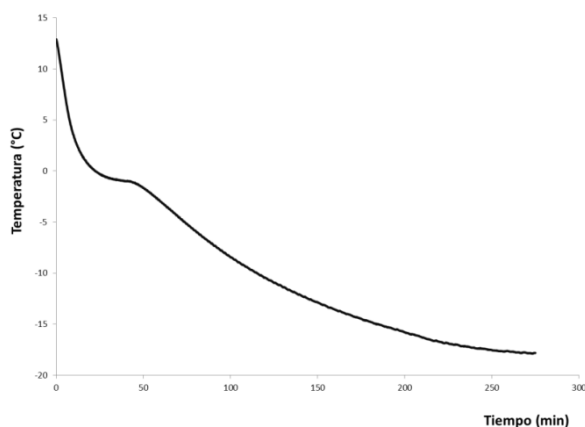


Figura 1. Curva de enfriamiento del lomo de cerdo.

Inicialmente, se produce un descenso progresivo de la temperatura hasta alcanzar el punto de congelación (-0.444°C). A partir de este momento comienzan a originarse los fenómenos de cristalización de la mayor parte del agua presente en el interior del sistema. A medida que la formación de hielo tiene lugar, el punto de congelación va disminuyendo como consecuencia de la crioconcentración de solutos presentes en la fase líquida residual, dando como resultado un incremento de la viscosidad. Una vez se llega a una temperatura de -1.122°C , se alcanza prácticamente el límite para la formación del hielo y el sistema recupera una mayor velocidad de enfriamiento, hasta alcanzar la temperatura final del proceso (-18°C).

3.1.1 Análisis del proceso de congelación mediante termografía infrarroja

Todos los cuerpos por encima del zero absoluto emiten radiación electromagnética de manera proporcional a su energía interna. Una parte de dicha radiación, es la radiación infrarroja que puede ser empleada para el registro de temperaturas de la superficie de un cuerpo determinado. En el presente trabajo de investigación, la cámara de infrarrojos permitió registrar la energía térmica emitida por los diferentes cuerpos presentes en el interior del congelador, elaborando lo que se conoce como un mapa de temperaturas. No obstante, dado que la cámara registra no sólo la energía emitida por la superficie del cuerpo, sino que también contabiliza la energía reflejada por los alrededores, fue necesario plantear un modelo basado en la ley de Stephan-Boltzmann, con el fin de calcular la energía real emitida por la carne. A partir de ésta, fue posible obtener la evolución de la emisividad real de la carne a lo largo del proceso de congelación. Una vez conocida, se pudo elaborar un perfil de temperaturas en función de la distancia al centro de la carne. Dicho perfil se muestra en la figura 2.

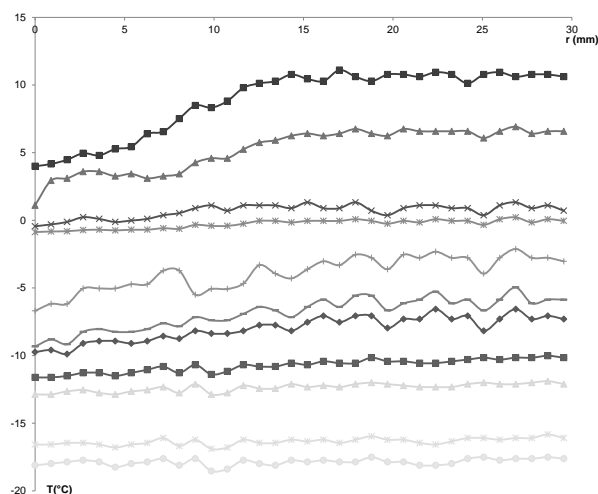


Figura 2. Perfil de temperaturas de lomo de cerdo a lo largo del proceso de congelación en función de la distancia (r), considerando 0 el lateral de la superficie. Siendo (■) 3min; (▲) 6 min; (×) 9 min; (✱) 24 min; (◐) 60 min; (—) 87 min; (◑) 93 min; (◒) 111 min; (◓) 144 min; (◔) 204 min y (◕) 246 min.

El perfil obtenido confirma la existencia inicial de un flujo de agua desde el centro de la carne hacia los laterales de la superficie, provocando un calentamiento de los mismos. Dicho flujo de agua es provocado por la progresiva formación de cristales de hielo y la correspondiente concentración de la fase líquida. Asimismo, se observa que el flujo de agua se va ralentizando a medida que transcurre el proceso de congelación. A la vista de los resultados obtenidos, se confirma el potencial de la termografía infrarroja como herramienta para modelizar el proceso de congelación en sistemas biológicos.

3.1.2 Análisis de los cambios estructurales como consecuencia del proceso de congelación/descongelación de lomo de cerdo

Aparte de considerar la información proporcionada por la termografía infrarroja, es necesario evaluar el impacto que ejerce el proceso de congelación en la disposición estructural de las fibras musculares. En la figura 3, se muestra una comparativa entre micrografías de carne fresca y carne descongelada.

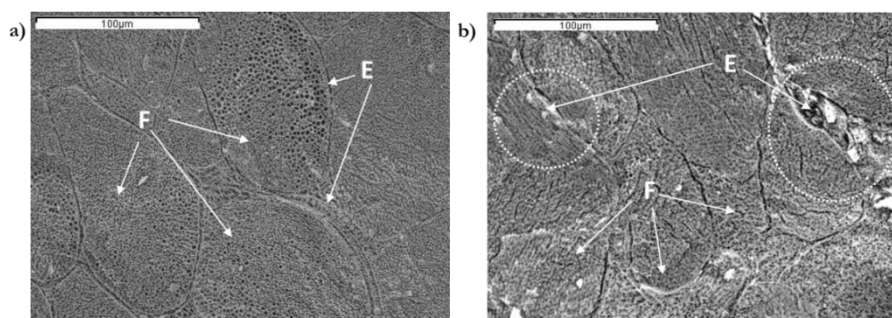


Figura 3. A) Carne fresca (500x). B) Carne sometida a un ciclo de congelación/descongelación (500x). Dónde: F: fibras musculares, E: endomisio.

Tal y como se puede observar, la carne descongelada muestra una marcada desestructuración del tejido muscular en comparación con la carne fresca. Se ha producido una marcada ruptura del tejido endomisial dando como resultado la aparición de espacios interfibrilares. A su vez, el daño mecánico ocasionado por la descongelación de los cristales de hielo, ha originado una pérdida de cohesión entre las miofibrillas que componen la fibra muscular. Todos estos cambios, suponen una merma de calidad tanto en lo que respecta a las características organolépticas, como a la seguridad del producto.

4. CONCLUSIONES

Se ha demostrado la utilidad de las técnicas espectroscópicas y microscópicas como herramientas para modelizar y monitorizar los fenómenos que suceden durante la congelación/descongelación de lomo de cerdo.

5. BIBLIOGRAFÍA

Balaguer, N., Velázquez Varela, J., Traffano-Schiffo, V., Castro-Giráldez, M., Fito, P.J. (2013). La utilización de sensores basados en espectroscopia dieléctrica como una buena herramienta para asegurar la calidad y seguridad alimentaria. *Alimentaria*, 442, 47-51.

Honikel, K.O. (1998). Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat. *Meat Science*, 49(4), 447-457.

RELACIÓN ENTRE EL MONITOREO INSTRUMENTAL Y ORGANOLÉPTICO DE LA FERMENTACIÓN LÁCTICA DE BEBIDAS DE SOYA

Marta Quicazán¹, Luis Caicedo², Martha Cuenca³

RESUMEN

La fermentación láctica es un bioproceso actualmente reconocido por los aportes nutricionales, sensoriales y funcionales que confiere al producto. La soya, leguminosa usada tradicionalmente en poblaciones de oriente y en alimentación animal, es una gran fuente de proteína que aún requiere adecuación en su transformación para mejorar su aceptación como alternativa en la manutención. En este trabajo se evaluaron bebidas de soya, obtenidas en procesos orientados para alcanzar diferentes grados de extracción de los componentes del grano, sometidos a fermentación láctica durante 9 horas, utilizando dos tipos de cultivos lácticos comerciales. Las bebidas fueron obtenidas a partir del grano entero previamente sometido a hidratación y posterior molienda y extracción con diferentes proporciones soya:agua (1:6;1:8; 1:10;1:12 y 1:14). La fermentación se llevó a cabo a 43°C y mediante Análisis de Componentes Principales (PCA), utilizando el programa Matlab R 2009b, se efectuó la evaluación simultánea del comportamiento, durante 9 horas, de las variables indicadoras del avance de la acidificación, la viscosidad, la capacidad de retención de agua y la población de bacterias lácticas. Las bebidas fermentadas seleccionadas, con los mejores indicadores fueron sometidas a análisis organoléptico para calificar apariencia general, aroma, acidez, sabor y viscosidad, además de evaluación con nariz electrónica. Se pudo concluir que el tipo de bebida tiene mayor impacto que el tipo de cultivo sobre las características de las bebidas y que las relaciones 1:8 y 1:10 son las que presentan mejores valores de aroma, apariencia y sabor. Las bebidas preparadas con las relaciones 1:12 y 1:14 presentan bajos índices de avance de la fermentación y no tienen buenas calificaciones en los atributos sensoriales. Las respuestas de la nariz electrónica, además de guardar relación las propiedades sensoriales evaluadas, indican la posibilidad del seguimiento cinético del proceso.

Palabras clave: nariz electrónica, bebida soya, bacterias lácticas, sensorial

¹ Ingeniera Química, MSc., PhD Ingeniería Química. Profesora Asociada, Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICTA), Universidad Nacional de Colombia. Sede Bogotá. mcquicazand@unal.edu.co

² Ingeniero Químico, MSc., PhD. Universidad Nacional de Colombia. Sede Bogotá. lacaicedom@unal.edu.co

³ Ingeniera Química. MSc. PhD (C) Ingeniería Química. Departamento de Ingeniería Química y Ambiental. Universidad Nacional de Colombia. Sede Bogotá. mmcuencaq@unal.edu.co

INTRODUCCIÓN

A pesar de que el aprovechamiento de los recursos vegetales en la alimentación humana implica el mejoramiento de la eficiencia energética y la disminución de la contaminación ambiental, aun se presentan dificultades culturales y tecnológicas en cuanto al desarrollo de opciones que sean fuente de proteína. Las semillas constituyen un importante recurso alimenticio y la soya se destaca entre ellas; es utilizada en occidente ampliamente en nutricional animal. A pesar de la urgencia de disponer de alimentos suficientes en cantidad y calidad para las poblaciones del mundo, esta semilla no ha logrado ubicarse como una alternativa alimenticia directa para el hombre debido principalmente a sus limitaciones de tipo sensorial (Knechtges et al., 2002).

La composición de esta semilla ha motivado el surgimiento de áreas de investigación en el desarrollo de alimentos funcionales, es decir productos que no sólo proporcionen una nutrición balanceada, sino que también prevengan, controlen la ocurrencia de ciertas patologías (Liu, 2004; Wansink, 2005). En esta búsqueda, algunos investigadores han propuesto fermentar la bebida de soya utilizando bacterias lácticas, algunas de ellas con características probióticas, con el fin de ofrecer un alimento similar al yogurt lácteo, teniendo además en cuenta las ventajas que otorga desde el punto de vista sensorial (Patel *et al.*, 1980; Champagne *et al.*, 2009). En el presente trabajo se aborda la producción de bebidas fermentadas de soya efectuando seguimiento mediante la valoración de sus características sensoriales y la aplicación metodologías instrumentales, entre las que se destaca el sistema de olfato artificial, para explorar relaciones existentes entre ellas, que permitan hacer predicciones y valorar integralmente el producto.

MATERIALES Y MÉTODOS

Bebidas de soya: para su preparación se empleó soya variedad colombiana Soyica P-33 (no transgénica), proveniente de cultivos del departamento del Valle del Cauca (Colombia). El grano se hidrató previamente a 20°C durante 5 horas y se escaldó durante dos minutos en agua a 80°C (Quicazán, 2012). Posteriormente se realizó molienda húmeda a 80°C, utilizando diferentes proporciones másicas entre la soya inicial y el agua (1:6; 1:8; 1:10; 1:12 y 1:14); se filtraron y se sometieron durante 20 min a tratamiento térmico en marmita a una temperatura de 80°C.

Fermentación: las bebidas preparadas se enfriaron hasta alcanzar una temperatura de 43°C, que se mantuvo constante durante 9 horas, inoculando directamente (en proporción

necesaria para iniciar con una población comprendida entre 2 y 3 log ufc/m) dos tipos de cultivos lácticos comerciales. Los ensayos se efectuaron por duplicado, con tres repeticiones.

Cultivo 1: Cultivo termófilo para yogurt (Marca Danisco Choozit®-MY 800) constituido por: *Streptococcus salivarius* ss *thermophilus*; *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis*.

Cultivo 2: Cultivo termófilo para yogurt probiótico (Marca Danisco Yomix® 205 LYO-250 DCU) constituido por: *Streptococcus salivarius* ss *thermophilus*; *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *acidophilus*, y *Bifidobacterium lactis*

Monitoreo de la fermentación: se efectuó un seguimiento, cada hora de las siguientes variables de respuesta. Acidez total (Método 950.15 AOAC, 1998); pH (Método 981.12 AOAC, 1998); Viscosidad a 4°C, con un Viscosímetro Haake Rotovisco RV 20, con sistema NV; Capacidad de retención de agua expresada como el porcentaje de líquido expulsado de la masa total (Parnell-Clunies, 1986; Cáceres, 2002; Serra, 2009); Producción de ácido láctico mediante HPLC (Marsili, 1981).

Adicionalmente las bebidas fermentadas (acondicionadas a 4°C, previa adición de 8% de sacarosa) fueron sometidas a análisis sensorial con 7 panelistas, utilizando una escala ordinal. Se evaluaron: apariencia general, aroma, acidez, sabor y viscosidad. Las bebidas mejor calificadas se evaluaron mediante una nariz electrónica portátil PEN3 (Airsense Analytics, Alemania), utilizando 1 g de muestra en un vial de 30 ml provisto de septa de silicona en la tapa. Este equipo consiste de una unidad de muestreo, una unidad de detección que contiene el arreglo de sensores y un software de reconocimiento de patrones (Winmuster v. 3.0) para la obtención de datos. El arreglo de sensores está compuesto de 10 semiconductores de óxido metálico (MOS): W1C (aromáticos), W5S (amplio rango), W3C (aromáticos), W6S (hidrógeno), W5C (aromáticos-alifáticos), W1S (metano), W1W (azufre-orgánicos), W2S (alcohol), W2W (azufre – cloro), W3S (alifáticos).

El procesamiento estadístico de los datos se efectuó utilizando el programa MATLAB v 7.9 (Mathworks, USA). Se llevó a cabo una análisis de varianza (ANOVA) ($\alpha = 0.05$) para determinar el efecto de las diluciones utilizadas en las variables de respuesta. Para el análisis sensorial, se efectuó análisis de varianza en una vía; la diferencia mínima significativa y la comparación de los resultados obtenidos para cada bebida, pruebas no paramétricas, de acuerdo con el modelo de Kruskal Wallis. El análisis simultáneo de las variables medidas durante el proceso fermentativo y de las características finales de las bebidas fermentadas, así

como para la valoración de los resultados obtenidos por nariz electrónica, se realizó Análisis de Componentes Principales (PCA).

RESULTADOS

En las figuras 1 y 2 aparecen el score plot y el loading plot de los dos primeros componentes principales de las variables evaluadas en las bebidas fermentadas con el Cultivo 1 y Cultivo 2, respectivamente. Puede observarse que se presenta un ordenamiento secuencial de las muestras de acuerdo con el tiempo de fermentación y que las diferencias se deben fundamentalmente al tipo de bebida. Puede notarse que existe una correlación directa entre la acidez, el contenido de ácido láctico y la viscosidad, mientras que estas variables se correlacionan indirectamente con la capacidad de retención de agua. La mayor varianza sucede para las bebidas que tienen una mayor concentración de nutrientes. Puede verse la similitud en el comportamiento de las bebidas más concentradas y el alejamiento que presentan las bebidas más diluidas, lo cual es explicable por la baja concentración de nutrientes, que no favorecen la fermentación.

En las figuras 3 y 4 aparecen los respectivos resultados del análisis sensorial para las bebidas fermentadas, con el Cultivo 1 y el Cultivo 2. Se puede ver que las bebidas preparadas con la relación 1:8 son las que exhiben las mejores características sensoriales, tanto en cuanto a la apariencia como la viscosidad, el sabor, la acidez y el aroma, al ser calificados respecto a atributos característicos de yogurt. Se puede notar que cuando la evaluación se efectúa sensorialmente, las bebidas fermentadas, preparadas con la proporción 1:6 (soya-agua) obtienen una calificación inferior en viscosidad a las bebidas preparadas con la proporción 1:8, a pesar de que el valor obtenido al medir objetivamente esta característica es superior. Esto se relaciona con el incremento de la viscosidad de las bebidas. Sin embargo los valores obtenidos para la bebida más diluida (relación 1:10) son comparables a las de la relación 1:8.

Al analizar mediante PCA los datos obtenidos con la nariz electrónica (figura 5), se observa que se alcanza una varianza acumulada de 91% entre los dos primeros componentes principales, centrada solamente en el PC1 considerando que la evolución de la fermentación cambia con respecto a lo encontrado con la leche. En la parte (B), las primeras horas (1 a 4) de fermentación están en la región negativa del PC1 que son influenciadas por los sensores W1C, W3C, W5C y W5S, mientras la etapa final es influenciada por los sensores W1W, W1S, W2S, W6S y W2W, siendo este último el de mayor respuesta en la hora 6 que a su vez muestra un pico de respuesta en el gráfico de PC1 en función del tiempo, parte (C) de la

figura 5. También es posible observar que la mayor tasa de cambio se alcanza entre las horas 4 y 5, utilizando este cultivo. Puede notarse además que al evaluar las muestras tomadas cada hora contra el primer componente principal, que explica el 80% de la varianza, el perfil obtenido muestra la cinética del proceso involucrando la combinación lineal de todas las variables. Con el Cultivo 1 se alcanza la máxima varianza a las 6 horas, tiempo que corresponde a unas buenas características en la fermentación desde el punto de vista sensorial.

En la figura 6, parte A, se observa que la evolución de la fermentación puede ser descrita mediante el análisis de los dos primeros componentes principales, los cuales alcanzan una varianza acumulada de 98%. El *score plot* muestra que los tiempos de fermentación pueden ser agrupados en tres clases. Según la figura 6, parte B, el inicio de la fermentación (horas 0 a 2) se describen por las respuestas de los sensores W1C, W3C, W5C y W3S, mientras que las horas 4 a 6 por el sensor W5S; la finalización (horas 7 y 8) por los sensores W1W, W1S, W2S y W2W. El gráfico de PC1 en función del tiempo, correspondiente a la figura 6, parte C, muestra que la mayor tasa de cambio del perfil aromático se alcanza entre las horas 2 y 3, observándose un crecimiento posterior entre las horas 6 y 8.

CONCLUSIONES

La evaluación de la fermentación mediante metodologías instrumentales presenta coherencia con los resultados de la evaluación sensorial, lo cual puede considerarse importante en el desarrollo de productos y en la evaluación de defectos de manera inmediata durante el proceso de elaboración de un producto.

BIBLIOGRAFÍA

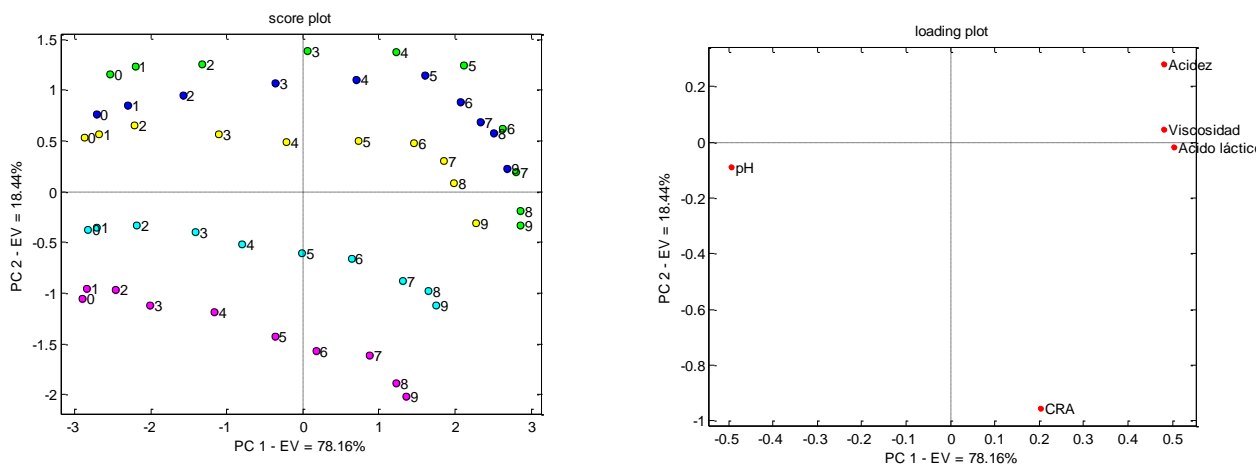
AOAC, 1998. Official Methods of Analysis, 16th Edition. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.

Cáceres, R. Castañeda, J., 2002. Evaluación de la producción de una bebida de soya tipo yogurt a nivel de planta piloto. Trabajo de Grado (Ingeniero Químico). Universidad Nacional de Colombia

Champagne CP, Tompkins TA, Buckley ND, Green-Johnson JM. 2010. Effect of fermentation by pure and mixed cultures of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus helveticus* on isoflavone and B-vitamin content of a fermented soy beverage. Food microbiology, 27(7): 968-72.

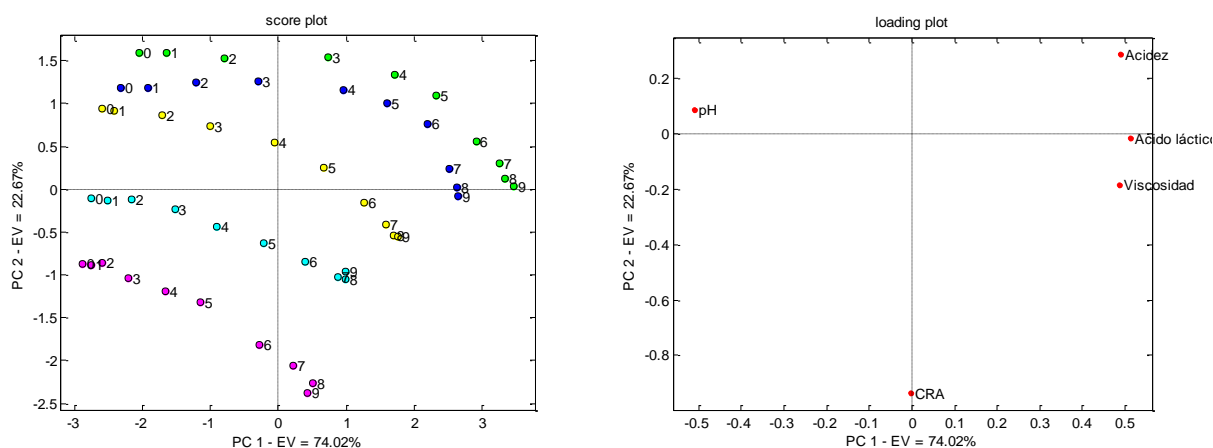
- Knechtges, D.R. & Huang, H.T., 2002. Chinese Food Science and Culinary History: A New Study. *Journal of the American Oriental Society*, 122(4):767-772
- Liu, K., 2004. Soybeans as functional foods and ingredients, Illinois, USA: AOCS Press, Champaign.
- Liu, K., 1999. Soybeans. *Chemistry, Technology and Utilization*, New York: Aspen Publishers Inc. Patel, A.A., Wahmare, W.M. & Gupta, S.K., 1980.
- Marsili R. T., Ostapenko H., Simmons R. E., Green D. E. 1981. High Performance Liquid Chromatographic Determination of Organic Acids in Dairy Products. *Journal of Food Science* 46(1): 52–57.
- Parnell-Clunies EM, Kakuda Y, Mullen K, Arnot DR, DeMan JM. 1986. Physical properties of yogurt: A comparison of vat versus continuous heating systems of milk, *Journal of Dairy Science*, 69(9): 2593 - 2603
- Patel A.A., Wahmare W.M., Gupta S.K., 1980. Lactic fermentation of soymilk. A review. *Process Biochemistry*, 15(7):9-13.
- Quicazán MC, Cuenca M, Caicedo LA. 2012. Applying Peleg's equation to modelling the kinetics of solid hydration and migration during soybean soaking. *Ingeniería e Investigación*. 32(3):53-57.
- Serra, M., A. J. Trujillo, B. Guamis and V. Ferragut. 2009. Evaluation of physical properties during storage of set and stirred yogurts made from ultra-high pressure homogenization-treated milk. *Food Hydrocoll.* 23:82-91.
- Wansink, B., 2005. *Marketing Nutrition – Soy, Functional Foods, Biotechnology, and Obesity*, Champaign, ILx: University of Illinois Press.

Figura 1: Score plot y Loading plot de los Componentes Principales 1 y 2 de las variables evaluadas en las bebidas preparadas con diferente proporción soya-agua, durante la fermentación con el Cultivo 1, obtenidos mediante PCA



Clases: Relación Soya-Agua: 1-6; 1-8; 1-10; 1-12; 1-14

Figura 2: Score plot y Loading plot de los Componentes Principales 1 y 2 de las variables evaluadas en las bebidas preparadas con diferente proporción soya-agua, durante la fermentación con el Cultivo 2, obtenidos mediante PCA



Clases: Relación Soya-Agua: 1-6; 1-8; 1-10; 1-12; 1-14

Figura 3: Resultados obtenidos para la evaluación sensorial de las bebidas de soya preparadas con diferente proporción soya-agua y fermentadas con el Cultivo 1

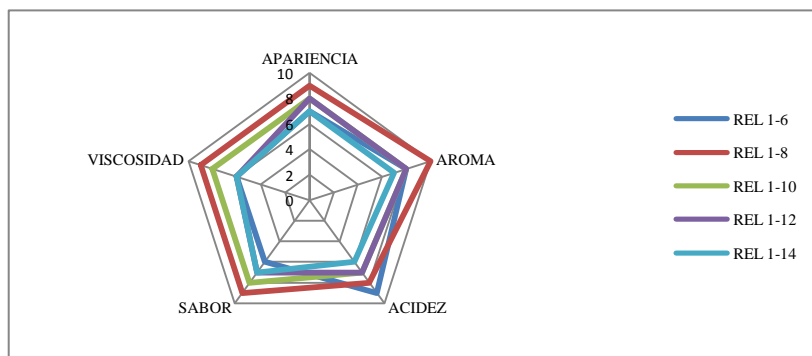


Figura 4: Resultados obtenidos para la evaluación sensorial de las bebidas de soya preparadas con diferente proporción soya-agua y fermentadas con el Cultivo 2

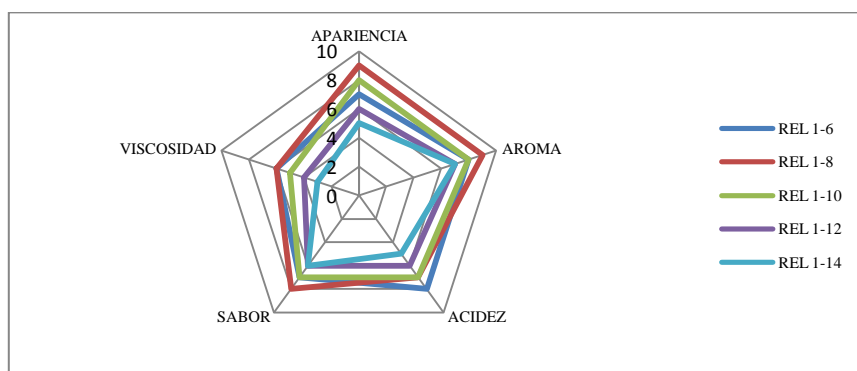


Figura 5: Score plot (A), Loading plot (B) de los Componentes Principales 1 y 2 y Score plot (C) de las muestras contra el Componente 1, obtenidos mediante PCA, para las señales de los sensores de la nariz electrónica en la valoración del aroma en la fermentación de bebida de soya, durante 8 horas con el Cultivo 1

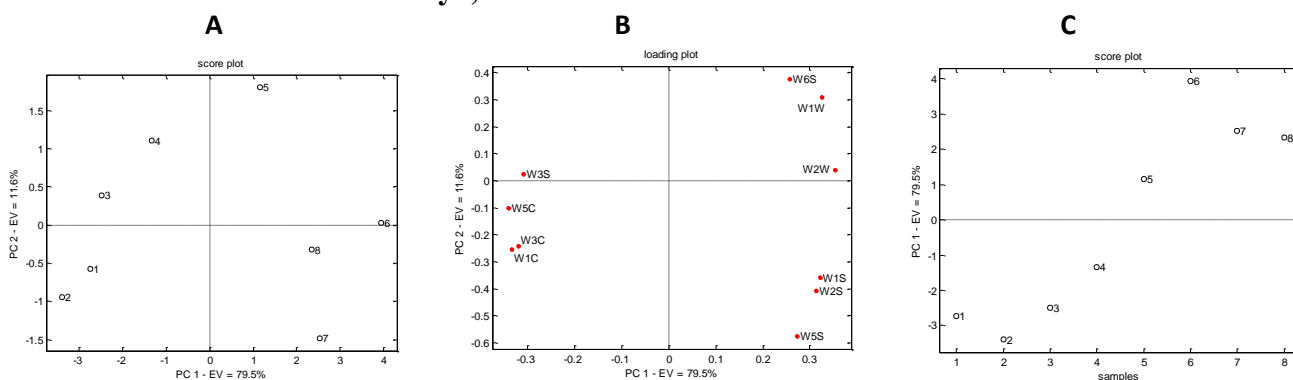
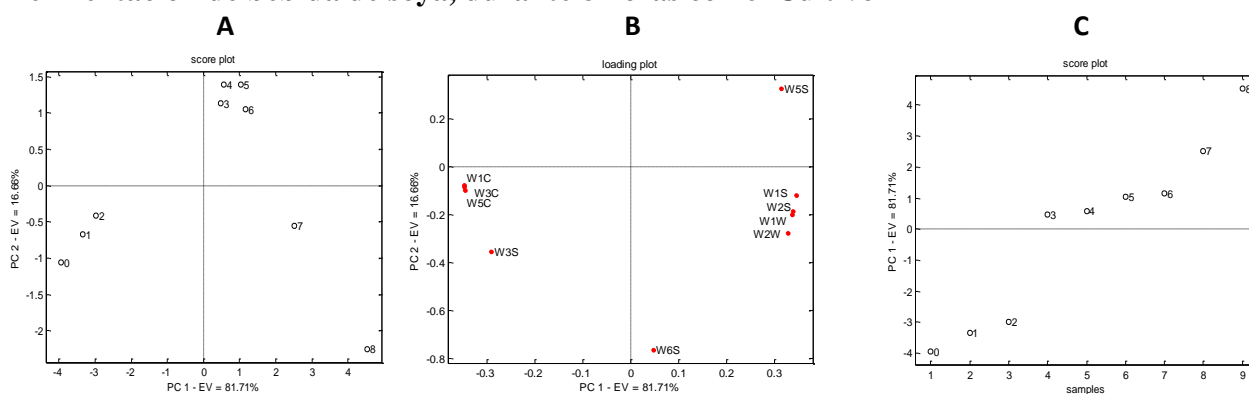


Figura 6: Score plot (A), Loading plot (B) de los Componentes Principales 1 y 2 y Score plot (C) de las muestras contra el Componente 1, obtenidos mediante PCA, para las señales de los sensores de la nariz electrónica en la valoración del aroma en la fermentación de bebida de soya, durante 8 horas con el Cultivo 2



USO DE TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS DE INFRARROJO CERCANO Y ANÁLISIS DE DATOS MULTIVARIANTES PARA LA CLASIFICACIÓN DE MERLUZA FRESCA Y DESCONGELADA

Angela Blanco^{a*}, Urtzi, de Juana^a, Raquel Rodríguez^a, Iñigo Martínez de Marañón^a

^a AZTI-Tecnalia, Unidad de Investigación Alimentaria, Derio, Spain

*author for correspondence: ablanco@azti.es

RESUMEN

La merluza es un pescado muy apreciado por los consumidores que se comercializa fresca y descongelada. Los productos descongelados en ocasiones no se etiquetan y podrían inducir fraude. Por ello, en este trabajo se propone el desarrollo de un método de clasificación atendiendo a su estado (fresco o descongelado). El sensor basado en infrarrojo cercano (NIR) fue seleccionado debido a su potencial para ser adaptado a un proceso en línea. Se han propuesto técnicas multivariantes de análisis de datos para hacer frente a la clasificación de esta especie de pescado. Hay muchos algoritmos para llevar a cabo la clasificación de los datos recogidos de NIR. Se ha considerado el algoritmo de k-vecinos más cercanos (k-NN) como técnica paramétrica y análisis discriminante lineal (LDA) como técnica no paramétrica.

Los datos fueron extraídos de merluza en fresco y descongelado. La recopilación de datos para cada toma de muestras se realizó en 10 piezas de merluza en tres posiciones diferentes del filete.

Se consideraron cinco problemas biclase: merluza fresca vs descongelado en 9 días, 3 meses, 6 meses, 9 meses y 12 meses de congelación. Con el fin de seleccionar las variables más relevantes, se ha aplicado un algoritmo de selección de características basado en un método wrapper que considera el Random forest como clasificador. Las variables no fueron estandarizadas para aumentar la diversidad entre los datos. En cada problema se ha validado el modelo con tres muestras de merluza. La estimación del error se ha realizado considerando un conjunto independiente de test.

Como conclusiones, se obtiene que es posible clasificar los filetes de merluza atendiendo a su estado (fresco y congelado) considerando la tecnología NIR y técnicas multivariantes. Dicha combinación es una tecnología prometedora para su uso y aplicación en línea para controlar la calidad del pescado sin cambios en las propiedades sensoriales al ser una técnica no destructiva.

INTRODUCCIÓN

La merluza es una especie pesquera muy apreciada por el consumidor debido a su precio y elevado valor nutricional. El consumidor, demanda cada vez más productos adaptados a sus necesidades, productos saludables y de alta calidad. Estas características de salud y calidad están normalmente asociadas al producto fresco, por lo que el consumidor prefiere el pescado fresco al congelado, con un 44,2% de consumo en fresco frente a un 11,2% de producto congelado (Martín, 2010).

La determinación de la calidad del pescado es un reto en todas las etapas de la cadena de valor de este producto, desde el procesado de pescado al supermercado siendo su determinación objetiva difícil. En la bibliografía se han evaluado diferentes métodos y sensores para la determinación objetiva de la calidad del pescado (Olafsdottir, 2004). Sin embargo, estos métodos son lentos, destructivos o requieren de personal entrenado, por lo que no son aplicables a una línea de proceso.

A diferencia de los métodos anteriores, la espectroscopia Visible / infrarrojo cercano (VIS / NIR) ha mostrado resultados prometedores para evaluar el estado congelado-descongelado y predecir la frescura del bacalao (días de almacenamiento en hielo) con una precisión de 1,6 días (Sivertsen., 2011). Además, varios estudios han demostrado el potencial de las técnicas espectroscópicas para la evaluación rápida y no destructiva de frescura en filetes de salmónes (Nilsen, 2002, Kimiya, 2013). Aunque estas tecnologías aportan ventajas en cuanto a velocidad de tratamiento, no se ha encontrado ninguna solución para clasificar filetes de merluza en función de si es fresco o descongelado.

En cuanto a las técnicas de análisis de datos multivariantes, se han propuesto en la literatura gran cantidad de clasificadores lineales y no lineales para clasificación de especies pesqueras (Ottavino, 2013) entre los que destacan k-NN (algoritmo de los k vecinos más cercanos, análisis discriminante lineal y máquinas de vectores soporte).

Teniendo en cuenta lo anteriormente citado, el objetivo de este trabajo fue el desarrollo de una metodología de medida y clasificación de merluza en base a su estado (fresco o congelado). Para ello, en este trabajo se recogieron espectros con un sensor que trabaja en el Infrarrojo Cercano (NIR) y el análisis de éstos se ha realizado comparando técnicas no paramétricas como LDA (análisis discriminante lineal) y paramétricas como el algoritmo de k-vecinos más cercanos. Asimismo, para determinar la importancia de las variables se han aplicado técnicas de selección de características

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño experimental

Los experimentos se realizaron con el mismo lote de merluza fresca. Las muestras se recogieron en el puerto de Ondarroa (País Vasco, España). El peso de los peces fue de aproximadamente 800 gramos. Esta relación peso-tamaño se seleccionó debido a su potencial para obtener filetes del mercado. Se extrajeron los dos filetes de cada merluza y se dividieron en 5 porciones de aproximadamente 35-40 gramos- Se utilizaron 30 merluzas para obtener una muestra representativa de la población. Cada porción de merluza se empaquetó y se congeló mediante un proceso de congelación tradicional (cámara a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$). Las porciones se almacenaron en una cámara a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Las mediciones de espectroscopía NIR se realizaron una vez que las muestras fueron descongeladas en una cámara a $5\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Equipo utilizado

El equipamiento utilizado para la adquisición de datos está compuesto por un espectrómetro (AvaSpec, Avantes, Netherland), una sonda de fibra óptica (FCR-7UV200-5-1.5x55 SR, Avantes, Netherland). Los espectros adquiridos se integraron a través del software Avasoft7USB2 (Avantes, Netherland) que incluye un software de procesamiento de datos (AvaSoft-FULL, AvaSoft-COL and AvaSoft-PROC, Avantes, Netherland). El rango de longitudes de onda donde se tomaron los datos es de 800 nm a 1100 nm.

Análisis de Datos Multivariantes

Existe gran variedad de algoritmos para llevar a cabo la clasificación de los datos recogidos por espectroscopía NIR. Hemos considerado dos tipos de algoritmos, k-vecinos más cercanos (k-NN) como una técnica paramétrica y análisis discriminante lineal (LDA) como no técnicas paramétricas (Ballabio,2009; Blanco, 2013).

El análisis discriminante lineal (LDA) maximiza la proporción de varianza entre clases respecto la varianza dentro de la clase para garantizar la máxima separabilidad. Este método maneja de manera sencilla el caso en el que las frecuencias dentro de la clase no sean iguales. El algoritmo asume además igualdad de covarianzas u homocedasticidad.

El algoritmo de k vecinos más cercanos busca u grupo de k objetos en el conjunto de entrenamiento que están más próximos al punto de test. La asignación de la etiqueta de clase se basa en el predominio de una clase en particular en el contorno de vecinos seleccionado.

Hay tres elementos clave en esta aproximación: el conjunto de datos etiquetados, la distancia o similaridad para calcular la distancia entre objetos y el valor de k o número de vecinos.

Para clasificar un objeto no etiquetado, se calcula la distancia de este objeto al objeto etiquetado, se identifican sus k vecinos más cercanos y la etiqueta de clase de sus vecinos se utiliza para determinar la clase a la que pertenece el objeto.

Para la implementación de los algoritmos se ha utilizado el lenguaje de programación R.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En esta sección, se presenta el procedimiento para obtener los datos así como los resultados obtenidos después de aplicar los modelos de clasificación para la diferenciación de merluza fresca y descongelada mediante NIR (Rodríguez, 2013).

Hemos considerado cinco problemas biclase: merluza fresca (F) vs descongelada (D), esta última tras haber estado 9 días, 3 meses, 6 meses, 9 meses y 12 meses congelada.

Para seleccionar las variables más importantes se ha utilizado un método wrapper basado en un clasificador Random Forest. Iterativamente elimina las características que son menos relevantes. Como salida obtenemos que todas las variables son relevantes para la clasificación de merluza fresca y descongelada (Rinnan, 2009).

En este caso, las variables no se han estandarizado para incrementar la diversidad entre ellas. Para determinar el número óptimo de vecinos del algoritmo kNN se ha realizado una malla de búsqueda.

En cada uno de los problemas hemos validado el modelo con 3 unidades de merluza y sus correspondientes muestreos de las 10 unidades disponibles.

Un paso importante en la evaluación de los resultados es la estimación del error (Molinero, 2005). En este caso, se ha aplicado un conjunto independiente de test como método de validación.

Los principales pasos del algoritmo son los siguientes:

- Entrenar el clasificador kNN
- Entrenar el clasificador LDA
- En el caso de kNN, determinar el número óptimo de vecinos por validación cruzada
- Validar los clasificadores con un conjunto independiente de test.

La Tabla1 muestra los resultados experimentales para los dos clasificadores considerados. El análisis de la tabla nos permite extraer las siguientes conclusiones:

- Es posible diferenciar entre merluza fresca y descongelada para todos los problemas planteados utilizando espectroscopia de infrarrojo cercano y técnicas multivariantes como el algoritmo de k vecinos más cercanos.
- kNN mejora los resultados obtenidos por una conocida técnica de clasificación como es LDA para todos los problemas considerados.

La capacidad de generalización de los clasificadores aumenta con el tiempo de congelación de la merluza. La capacidad de predicción del clasificador KNN tiende prácticamente al 100% de éxito en la clasificación a partir del noveno mes.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en el presente trabajo muestran que la tecnología NIR y el análisis multivariante de datos son técnicas no invasivas eficientes para la diferenciación entre merluza fresca y descongelada después de diferentes períodos de almacenamiento en congelación.

Aunque se requiere de mayor investigación la tecnología de espectroscopia NIR en combinación con el análisis de datos multivariados se presenta como una tecnología no invasiva prometedora para su uso y aplicación en una línea proceso con objeto de controlar la calidad del pescado.

Como tendencias futuras en cuanto a análisis de datos multivariantes, se intentará introducir disimilaridades no euclídeas en el algoritmo kNN para estudiar el impacto de la disimilaridad en el funcionamiento del clasificador. Además, se desarrollarán algoritmos de clasificación multiclase capaces de diferenciar merluza fresca y descongelada en diferentes periodos de congelación.

BIBLIOGRAFÍA

Ballabio, D., Todeschini, R., 2009. Multivariate Classification for Qualitative Analysis, Infrared Spectroscopy for Food Quality Analysis and Control, Infrared Spectroscopy for Food Quality Analysis and Control, 83-101.

Blanco, A., Rodriguez, R., De Juana, U., Martinez de Marañón, I., Classification of Fresh and Defrozen Hake Using Near Infrared Spectroscopy and Multivariate Data Analysis, ICNIRS 2013 NIR 2013 - 16th International Conference on Near Infrared Spectroscopy, 2-7 Junio, La Grande Motte, Francia. Proceedings.

Molinaro, A., Simon, R., and R. Pfeier, 2005. Prediction error estimation: a comparison of resampling methods, *Bioinformatics*, 21(15), 3301-3307.

Kimiya, T., Sivertsen, A. H., Heia, K. 2013. VIS/NIR spectroscopy for non-destructive freshness assessment of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fillets, *Journal of Food Engineering*, 116, 758–764.

Martín, V.J. 2010. Consumo de pescado en España, Diferencias en función de las características del consumidor, *Distribución y Consumo*, Septiembre-Octubre, 5-22.

Olafsdottir, G., Nesvadba, P., Di Natale, C., Careche, M., Oehlenschläger, J., Tryggvadóttir, S. V., Schubring, R., Kroeger, M., Heia, K., Esaiassen, M., Macagnano, A., Jørgensen, B. M. 2004. Multisensor for fish quality determination, *Trends in Food Science & Technology*, 15 (2), 86-93.

Ottavian, M., Fasolato, L., Facco, P., Barolo, M. 2013. Foodstuff authentication from spectral data: toward a species-independent discrimination between fresh and frozen-thawed fish samples, *Journal of Food Engineering*, 119, 765-775.

Rinnan, A., van den Berg, F., Engelsen, S.B. 2009. Review of the most common pre-processing techniques for near-infrared spectra, *Trends in Analytical Chemistry*, 28, 1201-1222.

Rodríguez, R., Blanco, A., De Juana, U., Olabarrieta, I., Pérez, I. y Martínez de Marañón, I.. 2013. Clasificación de filetes de merluza fresca y descongelada mediante sensores y análisis multivariante de datos. *Ruta pesquera*, 98, 54-55..

Sivertsen, A. H, Kimiya, T., Karsten Heia. 2011. Automatic freshness assessment of cod (*Gadus morhua*) fillets by Vis/Nir spectroscopy. *Journal of Food Engineering* 103, 317–323.

Tabla1. Resultados experimentales para los dos clasificadores considerados

Dataset	Modelo	min ac (%)	media acc (%)	max acc (%)
F vs D9 días	KNN	91,56	93,27	95,18
	LDA	81,90	85,67	88,23
F vs D3 meses	KNN	93,37	95,48	98,19
	LDA	85,06	88,08	90,04
F vs D6 meses	KNN	94,27	95,48	96,68
	LDA	88,28	90,26	92,30
F vs D9 meses	KNN	99,69	99,90	100
	LDA	91,85	92,15	92,30
F vs D12 mese	KNN	96,68	98,29	99,69
	LDA	89,14	92,31	94,57

SUPLEMENTAÇÃO DO SORO DE QUEIJO PARA PRODUÇÃO DE BIOMASSA CELULAR DE *KLUYVEROMYCES LACTIS*: METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA

Gabriel Ferreira Caran^a, Lucas Tadeu Silva de Souza^a, Janaína Teles de Faria^b, Tamara Lorena da Conceição^a e Fábio Coelho Sampaio^a

^aDepartamento de Farmácia, UFVJM, Diamantina, Minas Gerais, Brasil

^bDepartamento de Tecnologia de Alimentos, UFV, Viçosa, Minas Gerais, Brasil

RESUMO

O soro remanescente da fabricação de queijos (SQ) retém aproximadamente 55 % dos nutrientes do leite e pode ser utilizado na produção de biomassa microbiana. Assim, foi avaliada a suplementação do SQ como meio alternativo para a produção de biomassa de *K. lactis*. Para isso foi realizado um Delineamento Fatorial Completo (DFC) utilizando variáveis em três níveis, com 26 ensaios e três repetições no ponto central, em duplicata (58 experimentos). Os ensaios foram conduzidos utilizando SQ suplementado com extrato de levedura (0-10,0 %, p/v), sulfato de magnésio (0-0,8 %, p/v) e sulfato de amônia (0-4,0 %, p/v). Após 24 horas de cultivo, o acúmulo de biomassa celular seca (BCS, g/L) no meio de cultivo foi determinado e utilizado como variável resposta. Um modelo matemático foi ajustado aos dados obtidos, utilizando a Metodologia de Superfície de Resposta. A regressão obtida foi estatisticamente significativa pelo teste F ao nível de significância de 5 %. A falta de ajuste significativa foi desconsiderada em função de um coeficiente de determinação (r^2) de aproximadamente 0,84. Utilizando ainda o teste F, os coeficientes da regressão foram avaliados e as contribuições lineares e quadráticas das variáveis, bem como a interação das mesmas, foram significativas para descrever a resposta avaliada (BCS). Por fim, maior acúmulo de BCS (51,6 g/L) foi encontrado com 9,45-9,98 % (p/v) de extrato de levedura, 0,429-0,441 % (p/v) de sulfato de magnésio e 4,0 % de sulfato de amônia. Definiu-se assim a melhor suplementação para maior acúmulo de biomassa celular de *K. lactis*, demonstrando ainda a viabilidade do meio alternativo à base de soro de queijo.

Palavras-Chave: Proteína Microbiana. Delineamento Fatorial. Metodologia de Superfície de Resposta

INTRODUÇÃO

A utilização de material orgânico para obtenção de alimentos com elevado teor de proteínas de origem microbiana foi explorada inicialmente durante a Primeira Guerra Mundial, na Alemanha (Adedayo et al., 2011). Atualmente, o uso de substratos de baixo custo para o cultivo de micro-organismos, tais como resíduos de produtos industriais, é uma tendência nos estudos aplicados (Faria et al., 2012; Juszczuk et al., 2013).

O soro de queijo (SQ) é um subproduto da indústria de laticínios que retém aproximadamente 55 % dos nutrientes do leite (Abreu, 2005) e contém 93 % de água, 5 % de lactose, 0,9 % de proteínas, 0,3 % de lipídeos, 0,2 % de ácido láctico, vitaminas e sais minerais (Ghaly e Ben-Hassan, 1995). Devido a estes nutrientes, o SQ pode ser utilizado como substrato alternativo para produção de proteínas microbianas de uso alimentar (Bekatorou et al., 2006; Revillion et al., 2000).

As leveduras pertencentes ao gênero *Kluyveromyces* são capazes de utilizar o SQ como meio de cultivo (Mansour et al., 1993; Grba et al., 2002; Ornelas et al., 2008; Genari et al., 2003). Dentre as espécies, a *Kluyveromyces lactis* tem a capacidade de utilizar a lactose como única fonte de carbono e energia, de forma predominantemente oxidativa, o que favorece altos rendimentos de biomassa (Dickson; Sheetz, 1981). Além disso, trata-se um micro-organismo de status GRAS (*Generally Recognized as Safe*) segundo o FDA (Food and Drug Administration), o que permite sua utilização e de seus produtos na indústria alimentícia ou farmacêutica (Bonekamp e Oostreom, 1994).

A suplementação do SQ com macronutrientes, micronutrientes e fatores de crescimento pode beneficiar o acúmulo de biomassa celular. Para defini-la, a utilização do método clássico, no qual o nível de um parâmetro (suplemento) é variado individualmente enquanto as outras variáveis são mantidas constantes, dispense muito tempo de análise e requer um número maior de experimentos (Sen e Swaminathan, 1997). Já a Metodologia de Superfície de Resposta (MSR), uma técnica matemática e estatística, pode ser utilizada para determinar a influência de diversas variáveis sobre um processo, incluindo a interação entre as mesmas, com um número reduzido de experimentos (Panesar, 2008).

Assim, a suplementação do SQ como meio alternativo para a produção de biomassa de *K. lactis* foi avaliada. Para isso, foi realizado delineamento fatorial e aplicada a MSR com o objetivo de definir a melhor suplementação que resultasse em maior acúmulo de biomassa celular seca sob as condições experimentais avaliadas.

MATERIAIS E MÉTODOS

Micro-organismo e preparo do inóculo

A levedura *Kluyveromyces lactis* CBS2359, pertencente à coleção da Universidade Federal de Viçosa (UFV), foi mantida a -20 °C em caldo “Yeast Protein Dextrose” (10 g/L de extrato de levedura, 20 g/L peptona e 20 g/L D-glucose) com 40 % de glicerol. As células estocadas foram transferidas e cultivadas por 48 horas a 30 °C em placas de Petri contendo ágar Sabouraud (5 g/L de peptona de caseína, 5 g /L de peptona de carne, 20 g/L de D-glicose e 15 g/L de ágar-ágar). Para o preparo do inóculo, alçadas das colônias foram transferidas para salina estéril (5,0 mL) e a turbidez comparada à escala 0,5 de MacFarland.

Preparo do soro de queijo

Para simular a concentração de lactose do soro *in natura*, 5,75 g de soro de queijo liofilizado (p/p: 70 % de lactose, 12 % de proteínas, 2 % de gordura e 6 % de sais) fornecido pela indústria Conaprole (Montevideu, Uruguai) foram dissolvidos em 100 mL de água destilada. Após homogeneização, o soro foi aquecido a 100 °C por 10 minutos para dissolver a lactose cristalizada e centrifugado por 5 minutos a 2.000 rpm (Centrifuga série 600, Beckman, Fullerton, CA, EUA) para remover o precipitado proteico. O soro reconstituído foi esterilizado em autoclave a 121°C por 15 min e novamente centrifugado sob condições estéreis para remover o novo precipitado proteico.

Suplementação do soro de queijo e produção de biomassa celular

O sobrenadante obtido após preparo do soro de queijo foi suplementado, quando necessário, segundo o delineamento fatorial (Tabela 1). Foram utilizados frascos Erlenmeyers de 50 mL contendo 20 mL do meio à base de SQ para os diferentes ensaios. Cada Erlenmeyer foi inoculado com 500 µL da suspensão de inóculo e incubado a 30 °C e 150 rpm em incubadora orbital. Após 24 horas de cultivo, quando o crescimento atingiu a fase estacionária, determinou-se o peso seco a 100 °C a partir de alíquotas de 1,0 mL do meio de cultivo (Biomassa celular seca – BCS).

Delineamento experimental e análises estatísticas

A suplementação do soro de queijo foi avaliada utilizando-se um Delineamento Fatorial Completo com 3 variáveis independentes, em 3 níveis (Tabela 1), codificadas pela equação:

$$x_i = \frac{(X_i - X_0)}{\Delta X_i} \quad i = 1,2,3 \quad (1)$$

onde x_i e X_i são os valores adimensionais (codificados) e reais da variável independente i , respectivamente; x_o , o valor real da variável independente i no ponto central; e ΔX_i , a variação de x_i correspondente à uma unidade adimensional.

Para estimar o erro experimental, bem como para verificar a adequação do modelo proposto, os pontos centrais (nível 0) foram repetidos três vezes e todos os ensaios realizados em duplicata, totalizando 58 experimentos.

Com base no delineamento fatorial, a dependência do acúmulo de BCS de *K. lactis* (Y) das três variáveis independentes foi descrita pelo modelo:

$$Y = \beta_0 + \sum \beta_i x_i + \sum \beta_{ii} x_i^2 + \sum \beta_{ij} x_i x_j + \sum \beta_{iij} x_i^2 x_j + \sum \beta_{iijj} x_i^2 x_j^2 \quad (2)$$

onde Y é a resposta (BCS); x_i e x_j são os níveis codificados das variáveis independentes e β_0 , β_i , ..., β_{iij} representam as estimativas dos coeficientes. O primeiro termo da equação é o intercepto e os demais representam o efeito individual, quadrático e de interação das variáveis.

O teste de Fisher (teste F) foi utilizado na análise de variância (ANOVA) para avaliar a significância estatística do modelo e dos coeficientes da regressão. A Metodologia de Superfície de Resposta foi aplicada aos dados experimentais, utilizando o *software* “Design Expert” (versão de teste 7.0.0, Stat-Ease, Minneapolis, MN, EUA).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados para a produção de biomassa celular seca (BCS) de *K. lactis* cultivada em soro de queijo (SQ) suplementando segundo o Delineamento Fatorial Completo (DFC) são apresentados na Tabela 2. Os maiores valores para biomassa celular seca de *Kluyveromyces lactis* (BCS =54,8 e 54,9 g/L) foram obtidos com 10,0 % (p/v) de extrato de levedura, 0,4 % (p/v) sulfato de magnésio e 4,0 % (p/v) sulfato de amônia. Já o menor acúmulo, aproximadamente 17 g/L de BCS, foi obtido em vários ensaios (10, 11, 13, 16 e 17) como observado na Tabela 2. Apesar das condições experimentais diferentes, o acúmulo de BCS obtido foi maior que os valores apresentados por Moeini et al. (2004), que para outras linhagens de *K. lactis* observaram BCS variando de 11,09 a 11,79 g/L e de 15,0 a 15,75 g/L utilizando SQ não suplementado e suplementado apenas com sulfato de amônia (0,8 g/L), respectivamente.

A partir da análise de regressão aplicada aos resultados obtidos no DFC e após eliminação dos coeficientes estatisticamente não significativos (p -valor $> 0,05$), foi obtido o seguinte modelo para o acúmulo de BCS de *K. lactis* (Y):

$$Y = 24 - 0,7x_1 + 5,63x_2 + 18,4x_3 - 0,0583x_1x_2 + 5,35x_1x_3 + 2,62x_2x_3 + 8,54x_1^2 - 5,61x_2^2 + 6,29x_3^2 - 5,0x_1^2x_2 - 10,5x_1^2x_3 - 7,40x_2^2x_1 - 8,82x_2^2x_3 \quad (3)$$

onde x_1 , x_2 e x_3 são os valores das variáveis codificadas como mostrado na Tabela 1.

O modelo apresentado (Equação 3) foi significativo ao nível de confiança de 99 %, com um F-valor de 18,0 e um p -valor $< 0,0001$ (Tabela 3), segundo a ANOVA. A falta de ajuste significativa foi desconsiderada em função de um coeficiente de determinação (r^2) de aproximadamente 0,84.

Os valores dos coeficientes (linear, quadrático e de interação) do modelo polinomial ajustado ao acúmulo de BCS de *K. lactis* (Equação 3) são apresentados na Tabela 4. Embora não sejam estatisticamente significantes (p -valor $> 0,05$), os termos x_1 e x_1x_2 foram mantidos por hierarquia, uma vez que a contribuição quadrática de x_1 e a contribuição da interação entre o quadrado de x_1 com x_2 foram significativas.

As contribuições negativa e positiva dos coeficientes significam que qualquer aumento da suplementação leva a uma diminuição ou aumento estatisticamente significativo no acúmulo de biomassa. Assim, a partir da Tabela 4 é possível observar que a suplementação com extrato de levedura (x_1) exerceu um efeito individual negativo no acúmulo de BCS, enquanto as suplementações com sulfato de magnésio (x_2) e sulfato de amônia (x_3) exerceram efeitos individuais positivos. A contribuição da interação extrato de levedura-sulfato de magnésio (x_1x_2) para o acúmulo de BCS foi negativa, enquanto as interações extrato de levedura-sulfato de amônia (x_1x_3) e sulfato de magnésio-sulfato de amônia (x_2x_3) contribuíram positivamente para a resposta. As contribuições quadráticas de x_1 e x_3 apresentaram efeito positivo, enquanto a contribuição quadrática de x_2 foi negativa. Já as demais interações resultaram em contribuições negativas para o acúmulo de BCS de *K. Lactis*.

Para visualizar graficamente os efeitos combinados das variáveis independentes sobre a resposta, a variável x_3 (sulfato de amônia) foi mantida em três níveis (-1, 0 e +1) e a tendência para o acúmulo de biomassa segundo o modelo proposto é apresentada na Figura 1. Para o experimento realizado sem suplementação de sulfato de amônia (Figura 1 - A),

observa-se que o aumento da concentração de extrato de levedura levou à redução do acúmulo de biomassa, não sendo observada influência da crescente concentração do sulfato de magnésio. Na presença de 2,0 % (p/v) de sulfato de amônia (Figura 1 - B) não houve influência da concentração crescente de sulfato de magnésio em baixas concentrações de extrato de levedura, ao passo que para altas concentrações há um aumento nos valores de BCS acumulada na presença de concentrações baixas e moderadas de sulfato de magnésio. Por fim, na presença de 4,0 % (p/v) de sulfato de amônia (Figura 1 - C), a alta concentração de extrato de levedura associada às concentrações intermediárias de sulfato de magnésio tiveram os melhores resultados experimentais. O aumento da concentração de sulfato de amônia (de A para C, ou seja, de 0 para 4,0 %, p/v), refletiu em um maior acúmulo de BCS no meio de cultivo. Somente na presença de alta concentração de sulfato de amônia, a alta concentração de extrato de levedura e a presença de sulfato de magnésio beneficiaram o acúmulo de BCS.

Sob as condições experimentais avaliadas, a melhor suplementação do soro de queijo predita pelo software “Design Expert” foi encontrada para 9,45-9,98 % (p/v) de extrato de levedura, 0,429-0,441 % (p/v) de sulfato de magnésio e 4,0 % (p/v) de sulfato de amônia, resultando em maior acúmulo de BCS (51,6 g/L) no meio de cultivo.

CONCLUSÃO

A alta concentração de sulfato de amônia e de extrato de levedura associadas à presença de sulfato de magnésio, no soro de queijo, beneficiam o acúmulo de biomassa celular de *K. lactis*. Na melhor suplementação, sob as condições experimentais avaliadas, o valor de biomassa acumulada predito pelo modelo matemático foi de 51,6 g/L. Assim, a utilização do soro de queijo suplementado para a produção da biomassa de *K. lactis* é uma alternativa para o aproveitamento desse subproduto da indústria de laticínios.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq e à FAPEMIG pelo apoio financeiro ao desenvolvimento deste projeto.

BIBLIOGRAFIA

Abreu LR (2005). *Textos acadêmicos*. Universidade Federal de Lavras. Ed. Centro de editoração/FAEPE. 2005. 151p.

- Adedayo MR, Ajiboye EA, Akintunde JK, Odaibo A (2011). *Advances in Applied Science Research*, 2(5), 396-409
- Bekatorou A, Psarianos C, Koutinas AA (2006). *Food Technology Biotechnology*, 44(3), 407-415.
- Bonekamp FJ, Oosterom J (1994). *Applied Microbiology and Biotechnology*, 41(1-3).
- Dickson RC, Sheetz RM, LacyLR (1981). *Molecular and Cellular Biology*, 1(11), 1048-56.
- Faria JT, Morais ML, Del Borghi A, Converti A, Passos FML, Minim LA, Vanzela APFC, Sampaio FC (2012). *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*, 26, 119-125, 2012.
- Gangadharan D, Sivaramakrishnan SK, Nampoothiri M, Sukumaran RK, Pandey A (2008). *Bioresource Technology*, 99(11), 4597-4602.
- Genari AN, Passos FV, Passos FML (2003). *Journal of Dairy Science*, 86(9), 2783-2789.
- Ghaly AE, Ben Hassan RM (1995). *Applied Biochemistry & Biotechnology*. 50(1), 79-92.
- Grba S, Stehlik-Tomas V, Stanzer D, Vahěič N, Škrilin A (2002). *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*, 16(1), 13-16.
- Juszczyk P, Tomaszewska L, Kita A, Rymowicz W (2013). *Bioresource and Technology*, 137, 124-31.
- Mansour MH, Ghaly AE, Ben-Hassan RM, Nassar MA (1993). *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 43(1), 1-14.
- Moeini H, Nahvi I, Tavassoli M (2004). *Electronic Journal of Biotechnology*, 7(3), 252-258.
- Ornelas AP, Silveira WB, Sampaio FC, Passos FML (2008). *Journal of Applied Microbiology*, 104, 1008-1013.
- Panesar SP (2008). *Biochemical Engineering Journal*, 39(1), 91-96.
- Revillion JP, Brandelli A, Ayub MAZ (2000). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 20(2), 246-249.
- Santos SFM, Macedo GR, Silva FLH, Souza RLA, Pinto GAS (2008). *Química Nova*, 31(8), 1973-1978.
- Sen R, Swaminathan T (1997). *Applied Microbiology and Biotechnology*, 47(4), 358-363.

Tabela 1 - Fatores e níveis do DFC para a suplementação do SQ para produção de BCS de *K. Lactis*

Variáveis	Fatores	Codificação de Níveis		
		-1	0	+1
Extrato de levedura (% , p/v)	x_1	0	5,0	10,0
Sulfato de magnésio (% , p/v)	x_2	0	0,4	0,8
Sulfato de amônio (% , p/v)	x_3	0	2,0	4,0

Tabela 2 – BCS de *K. lactis* acumulada no SQ suplementado segundo DFC

Ensaio	Variáveis Codificadas			Resposta	
	x_1	x_2	x_3	Biomassa Celular Seca (g/L)	
1	-1	-1	-1	41,5	43,9
2	-1	-1	0	36,3	36,1
3	-1	-1	+1	34,9	36,1
4	-1	0	-1	42,1	40,9
5	-1	0	0	37,3	35,9
6	-1	0	+1	37,3	36,4
7	-1	+1	-1	44,8	45,7
8	-1	+1	0	36,1	35,3
9	-1	+1	+1	38,0	37,2
10	0	-1	-1	17,1	16,6
11	0	-1	0	17,2	16,9
12	0	-1	+1	19,4	19,9
13	0	0	-1	16,0	17,4
14	0	0	0	19,1	18,2
15	0	0	+1	54,0	54,0
16	0	+1	-1	17,2	17,9
17	0	+1	0	16,7	17,2
18	0	+1	+1	52,0	53,7
19	+1	-1	-1	20,9	19,1
20	+1	-1	0	21,0	22,2
21	+1	-1	+1	25,0	24,1
22	+1	0	-1	19,4	18,0
23	+1	0	0	36,2	38,3
24	+1	0	+1	54,9	54,8
25	+1	+1	-1	20,8	21,2
26	+1	+1	0	23,3	24,1
27	+1	+1	+1	25,5	24,3
28	0	0	0	19,3	19,1
29	0	0	0	19,4	18,7

Tabela 3 - Resultados da análise da variância (ANOVA) aplicados ao DFC

Fonte	SQ	GL	F-Valor	<i>p</i> -Valor
Modelo	7,31 x 10 ³	13	18	< 0,0001
Resíduo	1,37 x 10 ³	44		
Falta de ajuste	1,35 x 10 ³	13	179	< 0,0001
Erro puro	18	31		
Total	8,68 x 10 ³	57		

SQ = soma de quadrados; GL = graus de liberdade.

Tabela 4 - Análise estatística dos coeficientes estimados para o modelo proposto

Termos	Coeficientes	Erro padrão	F-valor	<i>p</i> -valor
x_1	-0,7	1,61	0,188	0,666
x_2	5,63	1,61	12,2	0,0011
x_3	18,4	2,08	78,5	<0,0001
$x_1 x_2$	-0,0583	1,14	0,00262	0,959
$x_1 x_3$	5,35	1,14	22	<0,0001
$x_2 x_3$	2,62	1,14	5,27	0,0266
x_1^2	8,54	1,53	31,1	<0,0001
x_2^2	-5,61	1,53	13,4	0,000662
x_3^2	6,29	1,53	16,9	0,00017
$x_1^2 x_2$	-5	1,97	6,41	0,015
$x_1^2 x_3$	-10,5	1,97	28,2	<0,0001
$x_2^2 x_1$	-7,4	1,97	14	0,000517
$x_2^2 x_3$	-8,82	1,97	19,9	<0,0001

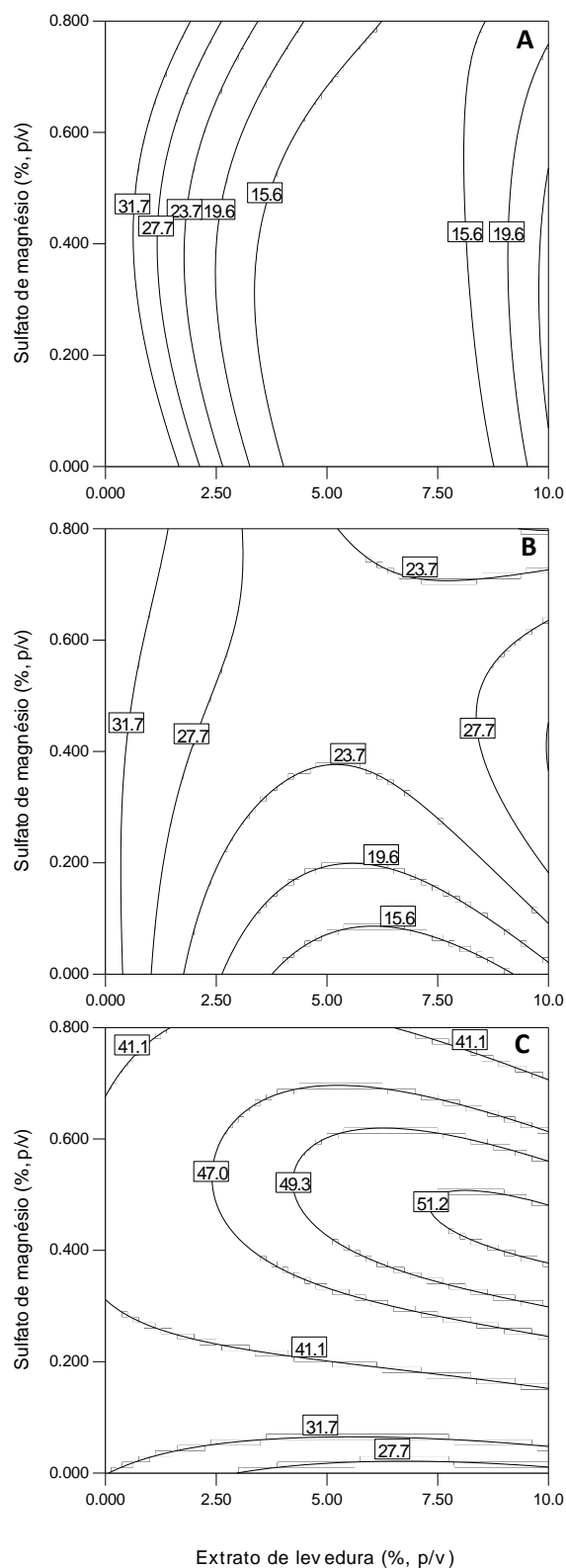


Figura 1 - Gráficos de contorno segundo a predição do acúmulo de BCS de *K. lactis* em soro de queijo suplementado com diferentes concentrações de sulfato de amônia (p/v): 0 % (A), 2,0 % (B) e 4,0 % (C).

DETERMINACION DE LAS PROPIEDADES FISICAS, QUIMICAS Y TERMOFISICAS DE DIFERENTES GRANOS DE CACAO DEL PERÚ

Chire G(a); Orosco P(b); Valdivia R(a); Ureña M(a)

- a. Departamento de Ingeniería de Alimentos. Facultad de Industrias Alimentarias, Universidad Nacional Agraria La Molina-UNALM. Lima, Perú.
- b. Estudiante, Facultad de Industrias Alimentarias, Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima, Perú.

Correspondiente autor: gchire@lamolina.edu.pe

INTRODUCCION

En el cacao, la calidad en el producto en grano es definida esencialmente por las propiedades físicas y químicas que lo caracterizan según el lugar de origen y la calidad del manejo pos-cosecha. Sus propiedades termofísicas son la fuente de información útil para el diseño y dimensionamiento de equipos, así como para la optimización de los procesos a los que se someterá el producto. Las propiedades evaluadas en el presente trabajo de investigación fueron: las dimensiones, las densidades aparente y real, la porosidad, la humedad, la grasa, los sólidos no grasos, el pH y el calor específico. Los granos de cacao estudiados fueron procedentes de siete lugares del Perú: del Norte, Tumbes, Piura, San Ignacio, Amazonas y Moyobamba; del Centro, Satipo; y del Sur, Cusco.

MATERIALES Y METODOS

Materias Primas: Cacao en grano procedente de las ciudades de: Tumbes, Piura, San Ignacio, Amazonas, Moyobamba, Satipo y Cusco.

Equipos: Vernier electrónico, Equipo para medir densidad real (originario de Day modificado por Ureña 1990), Balanza analítica, Balanza de precisión, Potenciómetro, Estufa, Equipo Soxhlet, Microondas, Cronómetro, Calorímetro.

Reactivos: Éter de petróleo, agua destilada.

Materiales: Probeta 100 mL, Vaso de precipitado 150 mL, Matraz 150 mL, Placa de metal, Caja con aislamiento térmico y otros materiales.

Metodología:

1. **Muestreo.-** Las muestras fueron adquiridas en los mercados y de los cacoateros de las ciudades estudiadas, se tomaron muestras representativas de los granos (INDECOPI, 2001b).

2. **Determinación de las dimensiones del grano de cacao.-** Por medio de un vernier electrónico se determinó las mediciones del grano en el orden de: largo, ancho y espesor del cacao en grano (Figura 1). Se registraron dimensiones de 20 granos de cacao, los mismos que se utilizaron en la de terminación de densidades con sus respectivas repeticiones.
3. **Determinación de la densidad real del grano de cacao.-** Con el método de Day modificado por Ureña (1990).
4. **Determinación de la densidad aparente del grano de cacao.-** Se pesó 50 g de los granos de cacao y se registró el peso exacto. Se colocó esta masa en una Probeta 100 mL, se dio lectura al volumen que ocupa la masa de granos de cacao. Se determinó la densidad aparente según la siguiente relación: ρ aparente = masa/volumen.
5. **Determinación de la porosidad del grano de cacao.-** Con los resultados de densidades aparente y real obtenidos anteriormente se calculó la porosidad: $\varepsilon = 1 - (\rho$ aparente / ρ real).
6. **Determinación de la humedad, grasa, sólidos no grasos, pH y acidez del grano de cacao.-** Con los métodos: INDECOPI 2011a, INDECOPI 2009, diferencia de 100%, AOAC 970.21 (2005) y AOAC 942.15 (2005), respectivamente.
7. **Determinación de calor específico.-** Se trabajó con dos métodos. El primero con la predicción del calor específico del alimento a partir de su composición, mediante la propuesta por Miles *et al.* (1983), citado por Lewis (1993), quienes distinguen entre grasas y sólidos. La ecuación está dada por: $C_p = (0.5 m_g + 0.3 m_{sng} + m_a) \times 4,18$ (kJ/kg-K).

Dónde: C_p = calor específico; m_g , m_{sng} m_a = Fracción en peso de la grasa del alimento, sólidos no grasos del alimento, agua del alimento.

El segundo método aplicado, el de la mezcla, es el sistema más ampliamente utilizado para medir el calor específico de materiales alimentarios y agrícolas debido a su simplicidad (Carrasquero, 2001). En él, una masa conocida (m_s) de un producto a una temperatura (T_s) entra en contacto con un fluido de temperatura (T_c) con calor específico (C_{pc}) y masa (m_c) conocida en un calorímetro de masa (m_k) y calor específico (C_{pk}) también conocidos. Finalmente se mide la temperatura de equilibrio de la mezcla (T_m). En la determinación del calor específico de la muestra se asume que el calor ganado por la muestra más el calor

ganado por el calorímetro es igual al calor perdido por el fluido (principio de la igualdad de los intercambios caloríficos), entonces se tiene:

$$m_s C_{ps} (T_m - T_s) + m_k C_{pk} (T_m - T_k) = m_c C_{pc} (T_c - T_m)$$

Dónde: m_s , m_k , m_c = masa de la muestra, del calorímetro, del fluido caliente. C_{ps} , C_{pk} , C_{pc} = calor específico de la muestra, del calorímetro y del fluido. T_s , T_c , T_m , T_k = temperatura inicial de la muestra, inicial del fluido, de equilibrio de la mezcla e inicial del calorímetro.

Las determinaciones se realizaron utilizando agua a temperatura ambiente y agua caliente a 80°C con una repetición. La precisión de este método se basa en la suposición de intercambio de calor despreciable entre el calorímetro y la atmósfera que le rodea. En este método se obtiene un valor medio de C_p para el correspondiente intervalo de temperaturas.

Procesamiento estadístico de datos.- Se aplicó un DCA ($p < 0,05$) para determinar la diferencia entre los granos de cacao de las diferentes zonas. El programa Statgraphics® fue utilizado para realizar el análisis estadístico.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados muestran que los granos de cacao secos procedentes de las zonas norte, centro y sur del país son diferentes en cuanto a sus valores físicos (Tabla 01 y 02) y químicos (Tabla 03). Las dimensiones de los granos de cacao muestran que en el país se tiene una variedad amplia de granos, por lo que se consideró necesario realizar las medidas a los granos trabajados en dimensiones de largo, ancho y espesor (mm), así se tiene granos grandes, medianos y pequeños. El grano pequeño es el conocido como grano de cacao del Cusco (20,83 x 11,60 x 7,51 mm) considerado por los chocolateros peruanos como el de mayor contenido graso (53,03%) y uno de los granos grandes fue el grano de cacao de Satipo (24,28 x 13,37 x 8,59 mm).

La densidad real fue evaluada considerando en la regresión lineal el mayor coeficiente R^2 más cercano a la unidad; dando como resultado la no existencia de diferencias significativas entre los valores encontrados ($p < 0,05$).

La porosidad se encuentra por la relación de las densidades expuestas en la Tabla 02, donde la mayor porosidad corresponde al grano de cacao de Piura, probablemente fermentado. La porosidad pareciera que está relacionada directamente con el índice de fermentación de cacao, es decir a mayor porosidad mayor índice de fermentación,

cumpléndose solo esta relación para todos los granos excepto para el grano de Tumbes; sin embargo, esta materia debe ser estudiada con mayor profundidad posteriormente.

Para definir la calidad del grano de cacao la humedad es el nivel de referencia, siendo el grano de cacao de Moyobamba el que tiene mayor contenido de humedad (6,8%), comparado con el valor ideal que es de 6,0% (Minifie, 1999), exigido para la exportación; en la normalización peruana se acepta hasta un 8% de humedad como máximo para ser comercializado en el país (INDECOPI, 2011c). Según los resultados estadísticos el grano de Piura se distingue por tener el menor contenido de humedad (5,0%) seguido del grano de cacao de Satipo (5,2%).

El contenido de grasa depende de la variedad del cacao y del lugar de procedencia. En este estudio, no existe diferencias significativas entre los valores de contenido graso de los granos ($p < 0,05$), siendo el grano de Tumbes (cacao criollo y cercano a la línea ecuatorial) el que presentó relativamente el valor mayor de contenido de graso (54,42%) y el de Satipo (cacao mezcla) el menor (52,47%).

Los valores de pH obtenidos nos dice la variedad, la calidad de la práctica de fermentación y del secado del grano de cacao. Este control analítico es poco usado por los compradores de cacao, lo más común es evaluar sensorialmente los granos (por su practicidad); sin embargo, el determinar el pH da valores puntuales de calidad, encontrando que el grano de cacao de Piura a pesar de ser más seco es más ácido ($\text{pH} = 4,96$) en comparación al grano de Satipo que tiene un nivel balanceado de humedad y de pH (5,2% y 5,25). También se puede afirmar que los granos de cacao de Tumbes y Piura son de variedad Criollo, porque tienen valor menor de pH y los de San Ignacio y Moyobamba son los que tienen un alto valor pH perteneciendo a la variedad Forastero según Saltini (2013)

En la Tabla 4, se muestran los valores de calor específico por los dos métodos y Valores teóricos (Villamizar, 1989). Los valores de calor específico, obtenidos con el método propuesto por Miles *et al.* (1983) determinan que, a comparación con los otros granos de cacao estudiados, para el de Piura se requiere menor calor para elevar un grado de su temperatura (1,84 kJ/kg K) y el de Moyobamba mayor calor (1,90 kJ/kg K). El valor promedio de las variedades estudiadas está en 1,87 kJ/kg K y la desviación estándar entre ellos es no significativa. Se sabe que esta propiedad afecta directamente al torrefactado siendo de importancia su determinación para el diseño de equipos.

El calor específico obtenido a partir del método de mezcla, con el uso del calorímetro, reporta una gran diferencia en los valores. En este caso el grano de cacao de Satipo es el que

requiere menor calor para elevar en un grado su temperatura (2,29 kJ/kg K) y el grano de cacao de Cusco mayor calor (3,65 kJ/kg K).

Considerando lo reportado por Villamizar (1989) para la variación del calor específico con respecto a la humedad y para los granos de cacao estudiados se observa una correlación con los valores obtenidos con el método propuesto por Miles *et al.*

CONCLUSIONES

Se determinaron las propiedades físicas, químicas y termofísicas de los granos de cacao procedentes de diferentes lugares de cosecha del Perú.

Para el cálculo del calor específico del grano de cacao se reporta mejor utilizar el método de Miles *et al.* (1983).

BIBLIOGRAFIA

AOAC, 2005. Official Methods of Analysis of AOAC International. 18th Edition, Volumen II. Editors: William Horwith and George W. Latimer, Jr. Maryland, USA.

Carrasquero D Armando, 2001. Determinación del calor específico para la papa y zanahoria: un ejemplo de investigación guiada en química. Investigación y Postgrado, Vol 16, Num 2. Caracas.

Lewis, 1993. Propiedades físicas de los Alimentos y de los Sistemas de procesado. Editorial Acribia. Zaragoza.

INDECOPI, 2011a. NTP-ISO 2291. Granos de Cacao. Determinación del Contenido de Humedad (Método de Rutina). 2da Edición. Lima.

INDECOPI, 2001b. NTP-ISO 2292. Granos de Cacao. Muestreo. 3era Edición. Lima.

INDECOPI, 2011c. NTP-ISO 2451. Granos de Cacao. Especificaciones. 3era Edición. Lima.

INDECOPI, 2009. NTP 208.016. Productos de Cacao. Grasa en Productos de Cacao. Método Extracción por Soxhlet. 2da Edición. Lima.

Minifie B. 1999. Chocolate Cocoa and Confectionery. Science and Technology. Third Edition. Aspen Publishers Inc. Gaithersburg, Maryland.

Saltini, R., Akkerman R., Frosh S., 2013. Optimizing chocolate production through traceability: A review of the influence of farming practices on cocoa bean quality. Food Control 29: 167-187.

Villamizar de Borrero, F., Hernández H. José E. 1989. Determinación de Parámetros y Simulación Matemática del Proceso de Secado de Cacao (*Theobroma cacao*). Revista Ingeniería e Investigación, N 18: 6 -12.

Ureña Peralta, Milber, 1990. Obtención de alimentos modelo a partir de mezclas Bentonita : Glicerol : Agua para estudios de tratamientos térmicos. Tesis doctoral. Departamento de Tecnología de Alimentos, Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Universidad Politécnica de Valencia.

Figura 01: Dimensiones el Grano de Cacao; a (largo), b (ancho) y c (espesor)

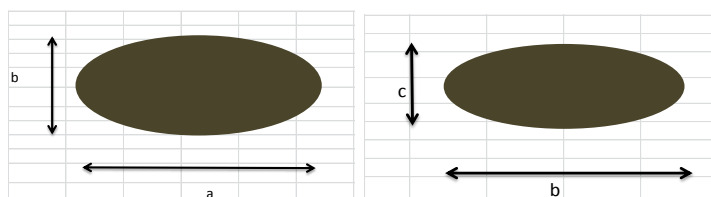


Tabla 01: Valores Físicos del Grano de Cacao Peruano

Zona	Grano de Cacao	Procedencia		Dimensiones (mm)		
		Departamento	Ciudad	Largo	Ancho	Espesor
Norte	Criollo	Tumbes	Tumbes	23.97	13.59	8.21
Norte	Criollo	Piura	Piura	21.35	13.24	9.29
Norte	Forastero	Cajamarca	Sn. Ignacio	23.66	13.52	8.67
Norte	Mezcla	Amazonas	Amazonas	22.16	13.47	7.49
Norte	Forastero	San Martin	Moyobamba	23.72	12.84	8.29
Centro	Mezcla	Junin	Satipo	24.28	13.37	8.59
Sur	Chuncho	Cuzco	Cuzco	20.83	11.60	7.51

Tabla 02: Valores Físicos del Grano de Cacao Peruano

Zona	Grano de Cacao	Procedencia		Densidad Real (Kg/m ³)	Densidad Aparente (Kg/m ³)	Porosidad
		Departamento	Ciudad			
Norte	Criollo	Tumbes	Tumbes	806.00	527.56	0.35
Norte	Criollo	Piura	Piura	1064.38	586.39	0.45
Norte	Forastero	Cajamarca	Sn. Ignacio	934.88	550.83	0.41
Norte	Mezcla	Amazonas	Amazonas	933.57	566.61	0.39
Norte	Forastero	San Martin	Moyobamba	893.20	546.83	0.39
Centro	Mezcla	Junin	Satipo	904.08	552.56	0.39
Sur	Chuncho	Cuzco	Cuzco	935.52	588.39	0.37

Tabla 03: Valores Químicos del Grano de Cacao Peruano

Zona	Procedencia		Humedad %	Grasa %	Solidos No Grasos %	Acidez, %	
	Departamento	Ciudad				Ac. Acético	pH
Norte	Tumbes	Tumbes	5.9	54.42	39.7	0.571	5.12
Norte	Piura	Piura	5.0	53.00	42.0	0.669	4.96
Norte	Cajamarca	Sn. Ignacio	6.2	52.89	40.9	0.116	6.39
Norte	Amazonas	Amazonas	5.8	53.02	41.2	0.203	5.83
Norte	San Martin	Moyobamba	6.8	52.92	40.3	0.178	6.04
Centro	Junin	Satipo	5.2	52.47	42.4	0.465	5.25
Sur	Cuzco	Cuzco	5.9	53.03	41.1	0.417	5.47

Tabla 04: Valores Termofísicos del Grano de Cacao Peruano

Zona	Grano de Cacao	Procedencia		Calor Especifico (kJ/kgK)*	Calor Especifico (kJ/kgK)**	Cp teórico (kJ/kgK)***
		Departamento	Ciudad			
Norte	Criollo	Tumbes	Tumbes	1.88	3.09	1.67
Norte	Criollo	Piura	Piura	1.84	3.44	1.66
Norte	Forastero	Cajamarca	Sn. Ignacio	1.88	2.76	1.67
Norte	Mezcla	Amazonas	Amazonas	1.87	2.94	1.67
Norte	Forastero	San Martin	Moyobamba	1.90	3.33	1.68
Centro	Mezcla	Junin	Satipo	1.84	2.29	1.66
Sur	Chuncho	Cuzco	Cuzco	1.87	3.65	1.67

(*) Método de Miles et al (1983) citado por Lewis (1993).

(**) Método de Mezclas, Carrasquero (2001).

(***) Villamizar (1989)

PREDICCIÓN DE PARÁMETROS DE COAGULACIÓN Y SINÉRESIS EN GELES LÁCTEOS CON INULINA MEDIANTE UN SENSOR DE DISPERSIÓN DE LUZ INFRARROJA

O. Arango^{1,2}, A. J., Trujillo¹, M. Castillo^{1*}

¹Centre Especial de Recerca Planta de Tecnologia dels Aliments (CERPTA), XaRTA, TECNIO, Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193-Bellaterra, Spain.

²Universidad de Nariño, Facultad de Ingeniería Agroindustrial, Ciudad Universitaria Torobajo, Pasto, Nariño, Colombia.

Autor para correspondencia: oscar769@hotmail.com

RESUMEN

La producción de quesos bajos en grasa frecuentemente requiere la modificación de los procesos de producción utilizando sustitutos de grasa tales como la inulina, con el fin de conseguir propiedades sensoriales aceptables. Actualmente el uso de sensores ópticos en la fabricación de queso justifica el desarrollo de algoritmos de predicción de parámetros de coagulación y sinéresis en geles lácteos con inulina, con el fin de mejorar el rendimiento, la calidad y la homogeneidad del queso. Se utilizó un diseño factorial aleatorio para evaluar el efecto de la concentración de inulina (I : 0, 3 y 6%), temperatura (T : 27, 32 y 37°C) y grasa (G : <0,2 y 1,5%) sobre los parámetros de dispersión de luz normalmente utilizados para la predicción de indicadores de coagulación y sinéresis. La coagulación se monitorizó usando simultáneamente espectrometría de infrarrojo cercano y reología oscilatoria de pequeña amplitud. El grado y la cinética de la sinéresis se evaluaron por métodos volumétricos. Utilizando el procedimiento de máximo R^2 de SAS se obtuvieron los mejores modelos de una, dos y tres variables para la predicción de la constante cinética de desuerado, el rendimiento de la cuajada, así como los tiempos de gelificación y de corte reológicos de la cuajada. El mejor modelo de una variable encontrado para la predicción del tiempo de gelificación reológico fue $t_{G\ 1} = \beta_0 + \beta_1 t_{2min}$, con $R^2 = 0.97$ y $SEP = 0.46$ min, que sólo usó como predictor el parámetro óptico, t_{min} . Para el tiempo de corte reológico se obtuvo el modelo $t_{G\ 30} = \beta_0 + \beta_1 t_{2min} + \beta_2 T + \beta_3 t_{2min} T$ con $R^2 = 0.96$ y $SEP = 4.3$ min. Los resultados demuestran que es posible obtener modelos de predicción de indicadores de coagulación y sinéresis en geles lácteos con inulina utilizando un sensor óptico de dispersión de luz.

Palabras clave: coagulación, tiempo de coagulación, tiempo de corte, geles lácteos, dispersión de luz, modelos, inulina.

1. INTRODUCCIÓN

Muchos tipos de queso constituyen una fuente significativa de grasa dietética, pero reducir su contenido representa un reto tecnológico debido a la afectación de las propiedades sensoriales. La inulina es un fructooligosacárido cuyas características tecnológicas han permitido su utilización como sustituto de grasa en productos lácteos (Meyer et al., 2010), además es fuente de fibra dietética y se han demostrado sus efectos benéficos en la salud humana (Roberfroid, 2007; Kalyani et al., 2010). La determinación del momento óptimo para el corte de la cuajada es un punto crítico en el proceso de fabricación del queso, con importantes repercusiones sobre el rendimiento y la calidad, razón por la cual se han desarrollado muchos instrumentos para tratar de identificar en tiempo real dicho momento de forma objetiva, pero la mayoría de ellos han resultado poco prácticos para su implementación industrial (Castillo 2006a, Klandar et al., 2007). En años recientes la tecnología de sensores de fibra óptica usada para medir la dispersión de luz de infrarrojo cercano ha probado ser una buena alternativa para la monitorización del proceso de coagulación y la determinación del tiempo de corte (Payne y Castillo 2007). Este tipo de sensores poseen características deseables para su uso industrial tales como su adaptabilidad a las cubas queseras, higiene y facilidad de operación, además de ser un método en línea no destructivo y preciso. Se han realizado varias investigaciones tendentes a desarrollar modelos de predicción de los tiempos de coagulación y de corte utilizando sensores ópticos de dispersión de luz (Payne et al. 1993, Castillo et al. 2003a, Castillo et al. 2006b), pero la creciente demanda de productos lácteos bajos en grasa plantean la necesidad de estudiar la predicción de parámetros de coagulación y sinéresis en geles lácteos en los cuales se adiciona inulina como sustituto de grasa.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Los datos analizados en este estudio corresponden a los presentados por Arango et al. (2013), donde se explican detalladamente los materiales y métodos utilizados, razón por la cual aquí sólo se presenta una breve descripción de los aspectos más importantes. Se utilizó un diseño factorial con tres factores, inulina (Frutafit[®] TEX! Brenntag Química S.A., Barcelona, España) a concentración de 0, 3 y 6% *p/p*, temperatura de coagulación (27, 32 y 37°C) y concentración de grasa (<0,2 y 1,5% *p/p*). Las concentraciones de calcio (0.156 g kg⁻¹) y de coagulante (quimosina 100 µL kg⁻¹) se mantuvieron constantes. Todos los ensayos se realizaron por triplicado. Las muestras se prepararon reconstituyendo leche desnatada en polvo (Chr. Hansen, Barcelona, España) al 12% *p/p* en agua destilada y adicionando las cantidades de grasa (obtenida de leche fresca) e inulina de acuerdo con el diseño

experimental. El proceso de coagulación se monitorizó simultáneamente utilizando un sensor óptico de dispersión de luz de infrarrojo cercano y reología oscilatoria de baja amplitud. La cuajada se cortó una vez el gel alcanzó una dureza de 30 Pa y la sinéresis se evaluó por métodos volumétricos. Según se describe en el trabajo de Castillo et al. (2006c), se utilizó un algoritmo para calcular la primera (R') y la segunda (R'') derivadas del perfil de dispersión de luz (R) y se definieron varios parámetros ópticos a partir de los puntos máximos y mínimos de dichas derivadas. Los parámetros t_{max} y t_{2max} corresponden al tiempo transcurrido desde la adición de la enzima hasta el primer máximo de la primera y la segunda derivadas respectivamente, mientras que t_{2min} corresponde al tiempo hasta el mínimo de la segunda derivada. Otros dos parámetros ópticos se definieron como R'_{max} y R'_{2min} , que corresponden al valor de R' a t_{max} y t_{2min} , respectivamente. Los parámetros reológicos que se evaluaron fueron el módulo elástico o de almacenamiento (G') y el módulo viscoso o módulo de pérdida (G''). El tiempo de gelificación (t_{G1}) y el tiempo de corte (t_{G30}) reológicos se definieron como aquellos a los cuales el gel alcanza valores de $G'=1$ y $G'=30$ Pa respectivamente. Se utilizó el procedimiento de máximo R^2 de SAS para obtener los mejores modelos de una, dos y tres variables para la predicción de la constante cinética de expulsión del suero (k), el rendimiento de la cuajada (Rc), el tiempo de gelificación reológico (t_{G1}) y el tiempo de corte reológico (t_{G30}).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la figura 1 se muestra un perfil de dispersión de luz típico de una muestra, su primera y segunda derivadas y los parámetros ópticos relacionados con los máximos y mínimos de tales derivadas. La tabla 1 presenta algunos de los modelos obtenidos para la predicción de parámetros de coagulación y sinéresis en geles lácteos bajos en grasa coagulados enzimáticamente y con adición de inulina.

3.1 Predicción de parámetros de sinéresis y del rendimiento quesero

El mejor modelo obtenido para la predicción de la constante cinética de expulsión del suero (modelo 1 de la tabla 1) incluyó un intercepto (β_0) y los parámetros R'_{max} , porcentaje de inulina (I) y el cuadrado de la temperatura (T^2). El intercepto y todos los predictores fueron altamente significativos y el modelo explicó la variabilidad de k en 86,3% con un error estándar de predicción (EEP) de $0,00207 \text{ min}^{-1}$. La presencia en el modelo de la variable inulina con un coeficiente de regresión negativo se explica por la capacidad que tiene este fructooligosacarido de formar una red de microcristales que retienen agua en su interior. La

inclusión del cuadrado de la temperatura se debe probablemente a que las velocidades de reacción incrementan exponencialmente con la temperatura. El modelo también contiene el parámetro R'_{max} que representa la máxima velocidad de coagulación y se relaciona con el inicio del proceso de agregación de las micelas de caseína (Castillo et al. 2003b). Un modelo más simple obtenido para la predicción de k fue $k = \beta_1 T - \beta_2 I$, con $R^2 = 0.798$ y $EEP = 0.00228 \text{ min}^{-1}$, el cual muestra que los factores experimentales que afectaron la cinética de coagulación también influyeron significativamente en la tasa de expulsión del suero del gel, efecto que también ha sido demostrado en trabajos previos (Fagan *et al.*, 2007, Castillo et al., 2006d). Para la predicción del rendimiento de la cuajada (Rc) se obtuvo un modelo (modelo 3 tabla 1) con R^2 de 0,722 y con un EEP de 1,51% en el cual de nuevo se observó la importancia del efecto de la temperatura y la inulina en la cinética de coagulación y en el drenado del suero y, por tanto, en el rendimiento de la cuajada.

3.2 Predicción de los tiempos de gelificación y de corte

Para la predicción del tiempo de gelificación, definido como aquel en el cual la dureza del gel es de 1 Pa, se obtuvo un modelo altamente significativo con muy buenos valores de R^2 y EEP (0,977 y 0,706 min respectivamente). Dicho modelo contiene parámetros ópticos relacionados con la fase de agregación y el inicio del proceso de endurecimiento del gel, sin embargo su aplicación podría resultar poco práctica dado el alto número de parámetros incluidos. Debido a que se observó una fuerte correlación lineal entre el parámetro óptico t_{2min} y t_{G1} ($r = 0.97$, $P < 0.0001$), se evaluó el modelo $t_{G1} = \beta_0 + \beta_1 t_{2min}$, el cual fue muy significativo, con $R^2 = 0.971$ y $EEP = 0.780 \text{ min}$, resultando mucho más apropiado para su implementación industrial por su simplicidad. Para la predicción del tiempo de corte reológico a 30 Pa (t_{G30}) se obtuvo un modelo altamente significativo (modelo 6) que incluyó las variables t_{2max} , t_{2min} y la interacción entre temperatura e inulina, pero a pesar de que los valores de R^2 y EEP fueron muy buenos, este modelo no se consideró práctico para la predicción en línea del tiempo de corte debido al alto número de coeficientes necesarios para su implementación. Por lo anterior se buscó una simplificación obteniéndose el modelo $t_{G30} = \beta_0 + \beta_1 t_{2min}$, pero con una disminución en los valores de R^2 y EEP (0,893 y 6,61 min respectivamente). En la figura 2 se presenta la relación entre los valores medidos experimentalmente y los obtenidos con los modelos de predicción para los parámetros k , Rc , t_{G1} y t_{G30} .

4. CONCLUSIONES

Usando parámetros derivados del perfil de dispersión de luz de infrarrojo cercano y los factores experimentales evaluados, fue posible obtener modelos de predicción de parámetros que caracterizan el proceso de coagulación enzimática y la sinéresis de geles lácteos en los cuales se adicionó inulina como sustituto de grasa. Los modelos de predicción de la constante cinética de expulsión del suero y del rendimiento de la cuajada, se vieron fuertemente influidos por la temperatura de coagulación y la concentración de inulina, no pudiéndose encontrar modelos simples con buenos valores de R^2 utilizando únicamente parámetros ópticos, sin embargo para la predicción del tiempo de gelificación y del tiempo de corte reológico se obtuvieron modelos de una sola variable donde el mejor predictor fue el parámetro óptico t_{2min} , con valores de R^2 de 0,97 y 0,89 respectivamente, aunque se requeriría reducir el error estándar de predicción del modelo para tiempo de corte con fines de uso industrial.

5. REFERENCIAS

- Arango, O., Castillo, M., Trujillo, A.J. (2013). Influence of fat replacement by inulin on rheological properties, kinetics of rennet milk coagulation and syneresis of milk gels. *Journal of Dairy Science*, 96, 1984-1996.
- Castillo, M., Payne, F.A., Hicks, C.L., Laencina, J., López, M.B. (2003a). Effect of protein and temperature on cutting time prediction in goats' milk using an optical reflectance sensor. *Journal of Dairy Research*, 70, 205-215.
- Castillo, M., Payne, F. A., Hicks, C. L., Laencina, J., López, M. B. (2003b). Modelling casein aggregation and curd firming in goats' milk from backscatter of infrared light. *Journal of Dairy Research*, 70, 335–348.
- Castillo, M. (2006a). Cutting time prediction methods in cheese making. In: *Encyclopedia of Agricultural, Food, and Biological Engineering*. Volume 1, Edition 1, Pp. 1-7. Heldman, D., Ed. Taylor & Francis Group, Boca Raton.
- Castillo, M., Payne, F.A., Wang, T., Lucey, J.A. (2006b). Effect of temperature and inoculum concentration on prediction of both gelation time and cutting time. *Cottage cheese-type gel*. *International Dairy Journal*, 16, 147-152.
- Castillo, M., J. A. Lucey, and F. A. Payne. (2006c). The effect of temperature and inoculum concentration on rheological and light scatter properties of milk coagulated by a combination of bacterial fermentation and chymosin. *Cottage cheese-type gels*. *Int. Dairy J.* 16:131–146.
- Castillo, M., Lucey, J.A., Wang, T., Payne, F.A. (2006d). The effect of temperature and inoculum concentration on gel microstructure, permeability and syneresis kinetics. *Cottage cheese-type gels*. *International Dairy Journal*, 16, 153-163.
- Fagan, C. C., Leedy, M., Castillo, M., Payne, F. A., O'Donnell, C. P., O'Callaghan, D. J. (2007). Development of a light scatter sensor technology for on-line monitoring of milk coagulation and whey separation. *Journal of Food Engineering*, 83, 61-67.

Kalyani Nair, K., Kharb, S., & Thompkinson, D. K. (2010). Inulin dietary fiber with functional and health attributes. A review. *Food Reviews International*, 26, 189-203.

Klandar, A.H., Lagaude, A., Chevalier-Lucia D. (2007). 'Assessment of the rennet coagulation of skim milk: A comparison of methods'. *International Dairy Journal*, 17, 1151–1160.

Meyer, D., Bayarri, A., Tárrega, A., Costell, E. (2010). Inulin as texture modifier in dairy products. *Food Hydrocolloids*, 30, 1-10.

Payne, F. A., Castillo M. (2007). Light backscatter sensor applications in milk coagulation. In: *Encyclopedia of Agricultural, Food, and Biological Engineering*. Volume 1, Edition 1, Pp. 1-5. Heldman, D., Ed. Taylor & Francis Group, Boca Raton. ISBN: 978-0-8247-0938-9 (hardback); 978-0-8247-0937-2 (electronic).

Payne, F.A., Hicks, C.L., Shen, P.S. (1993). Predicting optimal cutting time of coagulating milk using diffuse reflectance. *Journal of Dairy Science*, 76, 48–61.

Roberfroid, M.B. (2007). Inulin-type fructans: functional food ingredients. *Journal of Nutrition*, 137 (Suppl. 11), 2493S–2502S.

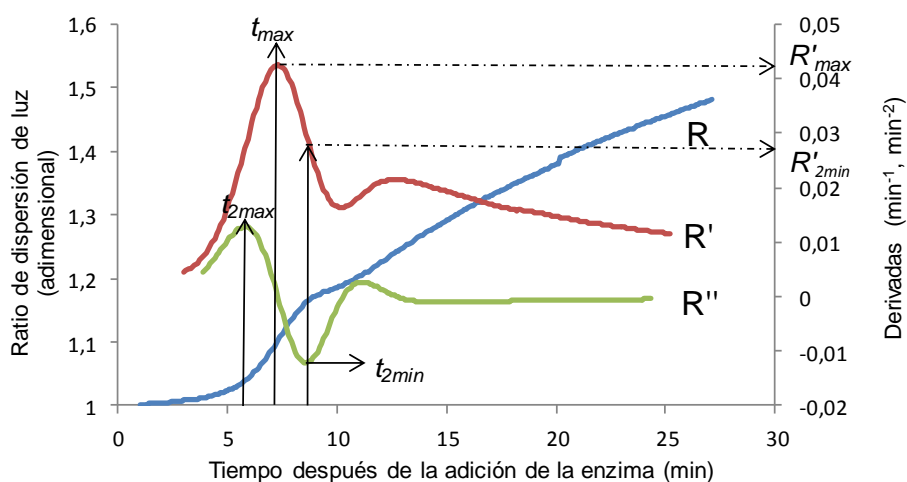


Figura 1. Perfil del ratio de dispersión de luz (R) y su primera (R') y segunda (R'') derivadas obtenido promediando los resultados de los ensayos realizados a 32°C, 6% inulina y 0,2% grasa. Ver la sección de materiales y métodos para la definición de los parámetros ópticos.

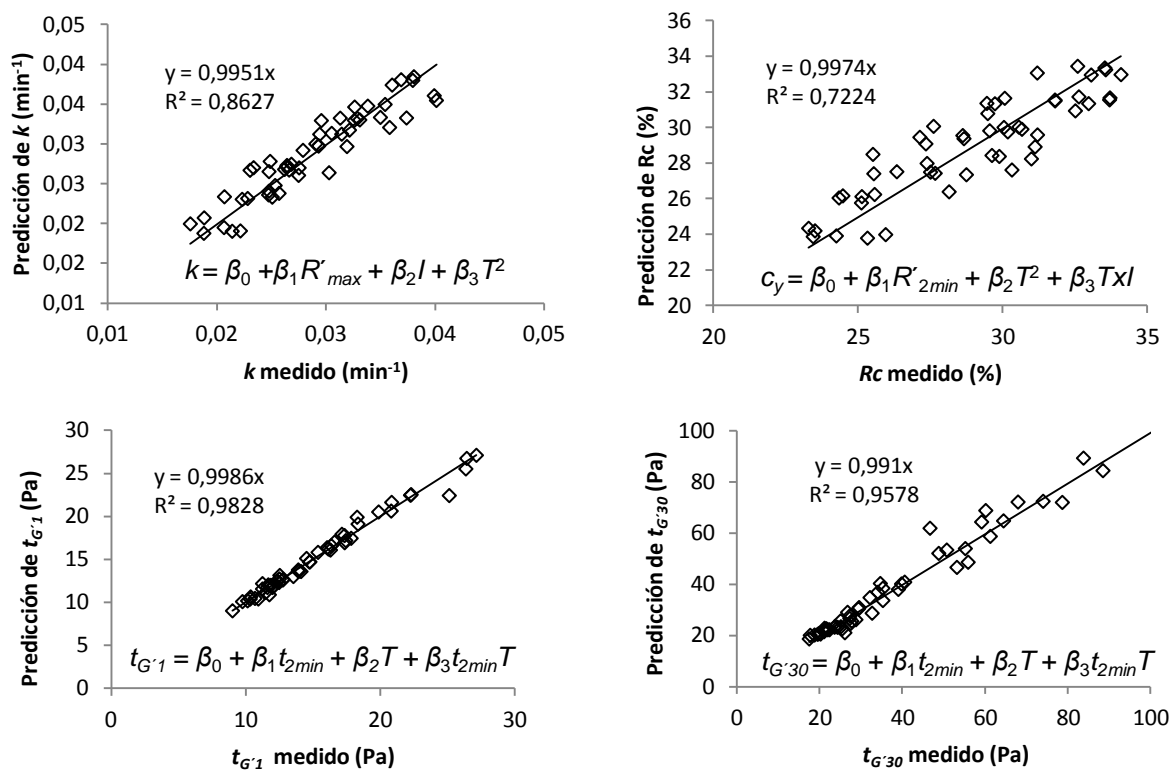


Figura 2. Predicciones de k , Rc , $t_{G:1}$ y $t_{G:30}$ obtenidas con los mejores modelos de tres variables encontrados. N=52. R^2 , coeficiente de determinación (corregido para las medias).

Tabla 1. Modelos de predicción de parámetros de coagulación y sinéresis usando dispersión de luz en geles lácteos con inulina^a

	Model	β_0	β_1	β_2	β_3	R^2	EEP
1	$k^{***} = \beta_0 + \beta_1 R'_{max} + \beta_2 I + \beta_3 T^2$	0.00642	-0.245	-0.000941	-0.0000363	0.863	0.00207 min ⁻¹
2	$k^{***} = \beta_1 T - \beta_2 I$		0.00103	-0.00124		0.798	0.00228 min ⁻¹
3	$Rc^{***} = \beta_0 + \beta_1 T^2 + \beta_2 T \times I$	36.9	-0.00936	0.0196		0.713	1.51%
4	$t_{G'1}^{***} = \beta_0 + \beta_1 t_{2max} + \beta_2 t_{max} + \beta_3 t_{2min}$	-4.97	-0.933	1.17	1.49	0.977	0.706 min
5	$t_{G'1}^{***} = \beta_0 + \beta_1 t_{2min}$	-5.78	1.91			0,971	0.780 min
6	$t_{G'30}^{***} = \beta_0 + \beta_1 t_{2max} + \beta_2 t_{2min} + \beta_3 T \times I$	-63.7	-7.07	13.8	0.0580	0.930	5.54 min
7	$t_{G'30}^{***} = \beta_0 + \beta_1 t_{2min}$	-53.2	8.35			0.893	6.61 min

N = 52. $\beta_0, \beta_1, \beta_2, \beta_3$, coeficientes de regresión. R^2 , coeficiente de determinación (corregido para las medias). EEP, error estándar de predicción. ^{***}P < 0.0001.

EFFECTO DE LA ADICIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE TOMILLO EN LAS PROPIEDADES FÍSICAS, ANIOXIDANTES Y ANTIMICROBIANAS DE PELÍCULAS BIODEGRADABLES. APLICACIÓN EN SALMÓN

Iris van Beest, Lorena Atarés, Amparo Chiralt, Maria Vargas

Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo, Universitat Politècnica de València, Valencia, Spain

INTRODUCCIÓN

Los productos de la pesca son altamente perecederos debido principalmente al crecimiento microbiano y la oxidación, que provocan cambios negativos en las propiedades organolépticas, textura y pérdida de valor nutritivo (Pereira de Abreu *et al.*, 2010).

Los antioxidantes se aplican a los alimentos con la finalidad de disminuir la velocidad de reacción de oxidación (Tironi, 2010). La aplicación de películas biodegradables como vehículo de agentes antioxidantes y antimicrobianos se presenta como una posible alternativa para la conservación de pescado.

El presente trabajo tiene como objetivo obtener y caracterizar películas comestibles de quitosano (CH) o metilcelulosa (M) y aceite esencial de tomillo. Se evaluó el efecto de las películas en muestras de salmón picado durante el almacenamiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se prepararon formulaciones a base de CH o M (Sigma-Aldrich, España) combinados o no con aceite esencial de tomillo (T), suministrado por Herbes del Molí (Alicante, España). Estas formulaciones se denominaron: CH, CHT, M y MT. Se dispersó CH o M, al 1% p/p en agua destilada. En el caso de CH se añadió ácido acético glacial al 1% (v/p). La dispersión de CH y de M se prepararon según lo descrito Vargas *et al.* (2011). Se incorporó Tween 85 (Sigma Aldrich Fluka, Alemania) al 0.05% (v/p) y, para las formulaciones CHT y MT, aceite esencial de tomillo al 0.25% (p/p). Seguidamente se homogenizó en rotor-estator (Ika® T-25, Alemania) durante 4 minutos a 13500rpm y se desgasificó mediante bomba de vacío (Vacuubrand ME4, Alemania). Las formulaciones se vertieron en placas de teflón o placas petri (56.59 sólidos/m²) y se secaron a 22°C y 45% de humedad relativa (HR) durante 48-72h. Las películas se almacenaron en un desecador a 10°C y 85% HR utilizando una disolución saturada de KCl (Panreac química, S.A., Castellar del Vallés, Barcelona).

Se obtuvieron imágenes de crio-fracturas transversales de las películas mediante el microscopio electrónico de barrido JEOL® (modelo JSM-5410, Tokio, Japón). El comportamiento mecánico de las películas, propiedades ópticas y permeabilidad al vapor de agua (PVA) se determinaron mediante el procedimiento descrito por Vargas et al. (2009). Se determinó la capacidad de transmisión de oxígeno de los recubrimientos y a actividad antioxidante de las películas según la metodología descrita por Bonilla et al. (2013a).

Se prepararon muestras de salmón fresco picado y se recubrió la superficie de las mismas con las películas. Como control se utilizaron muestras sin recubrir. Las muestras de salmón se almacenaron a 10°C una semana y a -20°C durante 13 semanas. Se cuantificó el índice de peróxidos (IP), en grasa extraída con éter de petróleo (Panreac química, S.A., Castellar del Vallés, Barcelona), y las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) durante el almacenamiento en congelación. Se realizaron recuentos de microorganismos aerobios mesófilos, coliformes y *Listeria* en muestras sin inocular. Adicionalmente, se evaluó el deterioro en muestras inoculadas con 1 mL de una suspensión de *Listeria innocua* (10^5 ufc/mL) que fueron almacenadas durante 1 semana a 10°C.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización de las películas

Las películas CH presentan un aspecto homogéneo y continuo, tal y como ha sido observado en estudios previos (Vargas et al., 2011). En el caso de la sección de la película M, se observa una morfología más fibrosa, coherente con lo observado por Pinotti et al. (2007). La incorporación de aceite esencial, se refleja en la presencia de gotas de aceite que se integran en la película (Figura 1). Las partículas de aceite se integran de diferente manera según el tipo de matriz. En las películas de M se observan gotas de aceite más grandes que en el caso de la matriz de CH.

Los parámetros mecánicos se recogen en la Tabla 1. Las películas CH fueron menos rígidas y significativamente menos deformables y resistentes que M. Tendencias similares fueron obtenidas por García et al. (2004). La adición de tomillo en las películas de CH, se reflejó en un aumento significativo de todos los parámetros mecánicos. Un aumento de TS con la adición aceites esenciales en matrices polimérica ha sido observado por Atarés et al. (2010) y Ojagh et al. (2010).

La transmitancia interna (T_i) de las películas a dos longitudes de onda se muestra en la Tabla 1. Las películas M y MT son menos opacas que CH y CHT. Las películas CHT presentan una mayor opacidad (menor T_i) que las CH, lo que puede ser debido a un aumento

de la reflexión difusa por la pérdida de homogeneidad que genera la incorporación de la fase aceite. Un efecto similar fue obtenido por Sánchez-González et al. (2011a) en películas a base de CH o de hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) con diferentes proporciones de aceite esencial de bergamota o de limón.

En la Tabla 2, se recogen los parámetros cromáticos, el brillo medido a 60° y la permeabilidad al oxígeno y al vapor de agua de las películas. M y MT mostraron una mayor luminosidad y tono que CH y CHT. En el caso del croma, se observó una tendencia opuesta. Al añadir aceite esencial, generalmente se produjo una disminución del tono. Todas las formulaciones presentaron valores de tono próximas a 90, lo que es coherente con el tono amarillento de las películas. El mayor brillo se observó para las películas M. La incorporación de T en la matriz de M redujo significativamente los valores de brillo. Resultados similares se obtuvieron para películas de HPMC (Sánchez-González et al., 2011a). Por el contrario, el brillo de las películas a base de CH no se vio significativamente afectado por la adición de T. Las películas M presentaron una alta PO_2 , significativamente mayor que las de CH. La incorporación de aceites esenciales en las películas de CH no dieron lugar a un cambio en las propiedades barrera al oxígeno. Sin embargo, las películas de M experimentaron un aumento en su PO_2 significativo cuando se incorporó T. La permeabilidad al vapor de agua de las películas CH fue mayor que las películas de M, aunque las diferencias no fueron significativas. Resultados similares fueron obtenidos por Vargas et al. (2011). En general, los aceites esenciales no mejoraron las propiedades barrera al vapor de agua de las películas.

La actividad antioxidante de las películas (AA) se cuantificó a través del parámetro TEAC (trolox equivalent antioxidant capacity) que equivale a la concentración de película (mg de película seca/mL) que presenta la misma AA que una disolución 1 mM de trolox. Las películas CH (TEAC = 0.017 mg/mL) presentaron una AA mayor que las M (TEAC = 0.146 mg/mL). La incorporación de T a las películas de M no supuso cambios significativos en su AA mientras que en las CH dio lugar a un ligero incremento (TEAC = 0.010 mg/mL). Estas películas fueron las que mostraron una mayor AA.

Aplicación de las películas sobre muestras de salmón

La cuantificación de la oxidación lipídica de las muestras de salmón, no recubiertas (C) y recubiertas con las películas, durante el almacenamiento en congelación se presenta en la Figura 2. El valor inicial de índice de peróxidos (IP) es de 1.45 meq O_2 /kg y durante las primeras 11 semanas, se observó un aumento en el nivel de oxidación de las muestras control, mientras que las recubiertas en general mostraron valores de IP significativamente inferiores.

Así, a tiempos cortos de almacenamiento en congelación, las películas protegieron frente a la oxidación lipídica. Para tiempos más largos, las muestras sin recubrir continuaron mostrando valores relativamente elevados de IP. Las muestras recubiertas por películas de CH seguían ejerciendo una importante acción protectora, probablemente debido a su baja permeabilidad al oxígeno y a su marcado carácter antioxidante, tal y como se ha comentado anteriormente. Por el contrario, las películas M, de mayor permeabilidad al oxígeno, no ejercieron tal efecto a tiempos prolongados. Las muestras presentaron un valor medio inicial de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) de 0.05 mg de malonaldehído/kg. Se mantuvo la tendencia de los análisis de IP. Al cabo de 13 semanas de conservación, las películas de CH mostraron el mayor efecto protector frente la oxidación lipídica.

Los recuentos iniciales de aerobios mesófilos y coliformes fueron 3 ufc/g y 2.8 ufc/g, respectivamente. La Tabla 3 muestra la evolución de dichos recuentos en muestras recubiertas con las películas así como en las no recubiertas (control) en diferentes condiciones de almacenamiento. En refrigeración, se obtuvo un aumento significativo de ambos recuentos y las películas aplicadas no presentaron ningún efecto significativo. Los recuentos de *Listeria*, revelaron la existencia de este microorganismo en la flora natural del salmón ($\approx 1.5 \log$ ufc/g). En las muestras inoculadas con *Listeria innocua*, las películas CH provocaron un descenso significativo en el recuento ($p < 0.05$), que se vio limitado por la incorporación de T. Esto puede ser debido a un efecto de dilución del CH, tal y como ha sido observado por otros autores (Sánchez-González et al., 2011b). El almacenamiento en congelación tuvo un efecto bacterioestático, puesto que los recuentos de microorganismos en las muestras control se mantuvieron similares a los valores iniciales. En el caso de las muestras recubiertas, se observó un ligero descenso en el recuento de coliformes, ligeramente más marcado cuando se aplicaron películas de CH. Resultados similares se obtuvieron con muestras de carne picada de cerdo recubiertas con películas de CH (Bonilla et al., 2013b). Las muestras recubiertas con CHT mostraron unos recuentos de aerobios mesófilos más elevados, lo que podría ser debido al efecto de dilución del CH comentado anteriormente.

CONCLUSIONES

La incorporación de aceite esencial de tomillo en películas de metilcelulosa o quitosano dio lugar a una estructura emulsionada en la que se pudieron distinguir gotas de aceite embebidas en la matriz polimérica. El impacto de la incorporación en las propiedades fisicoquímicas de las películas dependió de la matriz. En las películas quitosano, la adición de aceite esencial supuso un aumento de la rigidez, dureza y elasticidad sin cambios en el brillo.

En ningún caso la adición de aceite esencial supuso una mejora en las propiedades barrera al vapor de agua. La adición de aceite esencial supuso un aumento de la permeabilidad al oxígeno de las películas de metilcelulosa. Las películas de quitosano mostraron un mayor carácter antioxidante que las de metilcelulosa lo que se manifestó en una mejor protección frente al deterioro oxidativo de muestras de salmón picado. Las películas de quitosano dieron lugar a un descenso en los recuentos de microorganismos en muestras almacenadas en congelación. La adición de aceite esencial no supuso una mejora en la calidad microbiológica de las muestras de salmón durante el almacenamiento.

REFERENCIAS

- Atarés L., De Jesús C., Talens P., Chiralt A. 2010. Characterization of SPI-based edible films incorporated with cinnamon or ginger essential oils. *Journal of Food Engineering*, 99(3), 384–391.
- Bonilla J., Atares L., Vargas M., Chiralt A. 2012. Edible films and coatings to prevent the detrimental effect of oxygen on food quality: Possibilities and limitations. *Journal of Food Engineering*, 110, 208–213.
- Bonilla J., Talón E., Atarés L., Vargas M., Chiralt A. 2013a. 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., Atarés, L., Vargas, M., Chiralt, A. 2013b. Properties of wheat starch film-forming dispersions and films as affected by chitosan addition. *Journal of Food Engineering*, 114 (3), 303–312.
- García M.A., Pinotti A., Martino M.N., Zaritzky N.E. 2004. Characterization of composite hydrocolloids films. *Carbohydrate Polymers*, 56, 339–345.
- Ojagh S.M., Rezaei M., Razavi S.H., Hashem Hosseini S.M. 2010. Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosan and cinnamon essential oil with low affinity toward water. *Food Chemistry*, 122, 161–166.
- Pereira de Abreu D., Paseiro P., Maroto J., Cruz J.M. 2010. Evaluation of the effectiveness of a new active packaging film containing natural antioxidants (from barley husks) that retard lipid damage in frozen Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) *Food Research Internacional*, 43, 277–282.
- Pinotti A., García M.A., Martino M.N., Zaritzky N.E. 2007. Study on microstructure and physical properties of composite films based on chitosan and methylcellulose. *Food Hydrocolloids*, 21, 66–72.
- Sánchez-González L., Pastor C., Vargas M., Chiralt A., González-Martínez C., Cháfer M. 2011a. Effect of hydroxypropylmethylcellulose and chitosan coatings with and without bergamot essential oil on quality and safety of cold-stored grapes. *Postharvest Biology and Technology*, 60(1), 57–63.
- Sánchez-González L., Cháfer M., Hernández M., Chiralt A., & González-Martínez C. 2011b. Antimicrobial activity of polysaccharide films containing essential oils. *Food Control*, 22, 1302–1310

Sathivel S., Quan B., Jiaqi A., Witoon C. 2007. The influence of chitosan glazing on the quality of skinless pink salmon (*Oncorhynchus gorboscha*) fillets during frozen storage. *Journal of Food Engineering*, 83, 366–373.

Tironi V., Tomás M., Añón M. 2010. Quality loss during the frozen storage of sea salmon (*Pseudoperca semifasciata*). Effect of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L. extract. *Food Science and Technology*, 43, 263–272.

Vargas M., Albors A., Chiralt A., González-Martínez C. 2009. Characterization of chitosan-oleic acid composite films. *Food Hydrocolloids*, 23(2), 536–54.

Vargas M., Albors A., Chiralt A., González-Martínez C. 2011. Water interactions and microstructure of chitosan-methylcellulose composite films as affected by ionic concentration. *Food Science and Technology*, 44, 2290-2295

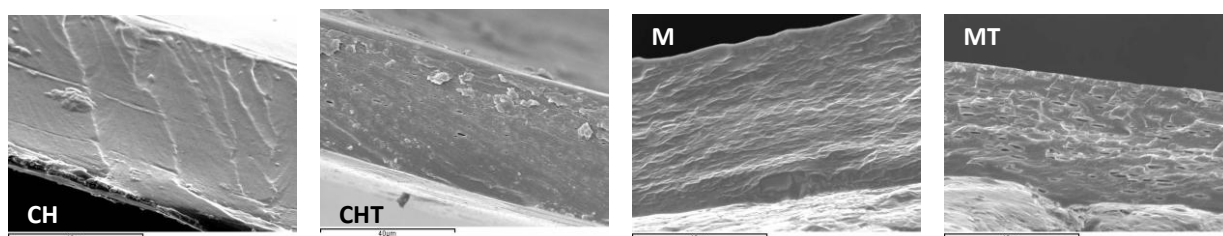


Figura 1. Micrografías SEM de la sección transversal de las películas. CH: quitosano; CHT: quitosano- aceite esencial de tomillo; M: metilcelulosa; MT: metilcelulosa-aceite esencial de tomillo.

Tabla 1. Módulo de elasticidad (EM), esfuerzo de fractura (TS), porcentaje de deformación en la fractura (E%) y humedad de equilibrio (g agua/ g película seca). Medias (desviación estándar entre paréntesis). CH: quitosano; CHT: quitosano- aceite esencial de tomillo; M: metilcelulosa; MT: metilcelulosa-aceite esencial de tomillo.

Película	EM (MPa)	TS (MPa)	E (%)	Ti (400 nm)	Ti (700 nm)
CH	668 (314) ^a	21 (5) ^a	6.3 (1.7) ^a	0.763 (0.002) _b	0.8582 (0.0009) _a
CHT	1045 (349) ^c	29 (5) ^{cd}	8 (3) ^{bc}	0.711 (0.005) _a	0.8590 (0.0017) _a
M	726 (309) ^{ab}	26 (9) ^{bcd}	8 (3) ^b	0.841 (0.003) _c	0.861 (0.002) _a
MT	872 (277) ^{bc}	24 (8) ^{abc}	7 (2) ^{ab}	0.8452 (0.0004) _c	0.8675 (0.0009) _b

Superíndices distintos (^{a, b, c, d}) indican diferencias significativas (p<0.05)

Tabla 2. Parámetros cromáticos, brillo a 60°, permeabilidad al oxígeno (PO₂, cm³ mm⁻¹ atm⁻¹ día⁻¹) a 85%HR-10°C y permeabilidad al vapor de agua (PVA, g Pa⁻¹ s⁻¹ m⁻¹ x10⁷) a 85%/100% HR y 10°C. Medias (desviación estándar entre paréntesis). CH: quitosano; CHT: quitosano- aceite esencial de tomillo; M: metilcelulosa; MT: metilcelulosa-aceite esencial de tomillo.

Película	L*	C* _{ab}	h* _{ab}	BRILLO 60°	PO ₂	PVA
CH	78.12 (0.13) ^c	16.3 (0.3) ^c	89.8(0.2) ^b	35 (2) ^b	1.05 (0.08) ^a	12 (2) ^{ab}
CHT	75.7 (0.5) ^b	22 (0.7) ^d	88.9 (0.6) ^b	39 (5) ^b	1.09 (0.12) ^a	12 (3) ^{ab}
M	83.6 (0.6) ^e	3.2 (0.3) ^a	99 (3) ^d	73 (3) ^d	8.1 (0.2) ^b	8.9 (0.8) ^a
MT	84.07 (0.42) ^e	2.8(0.3) ^a	95.9 (1.6) ^c	26 (4) ^a	11.66 (1.15) ^{bc}	8.3 (1.3) ^a

Superíndices distintos (^{a, b, c, d, e}) indican diferencias significativas (p<0.05)

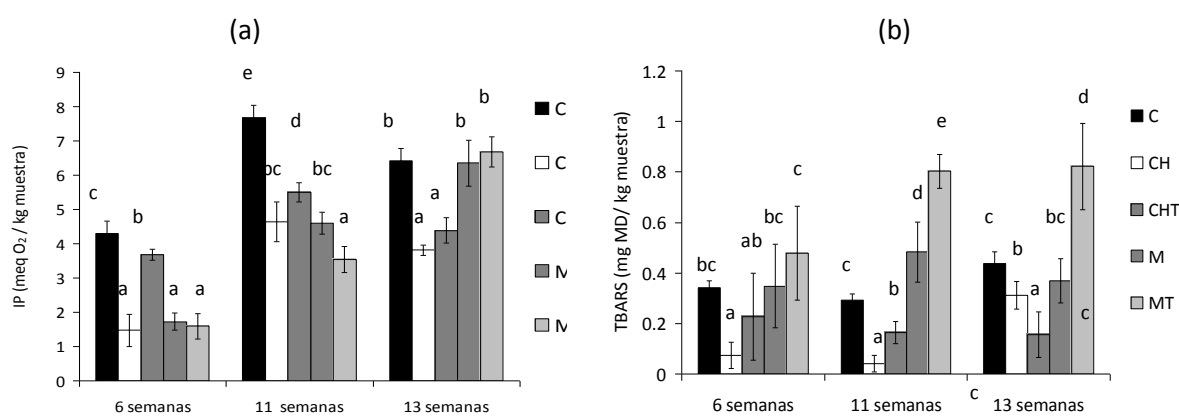


Figura 2. (a) Índice de peróxidos (IP) y (b) sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) de muestras de salmón picado no recubiertas (C) y recubiertas con las diferentes películas durante el almacenamiento a -20°C. Valores medios y desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas por efecto de cada película a cada tiempo de almacenamiento (p < 0.05). CH: quitosano; CHT: quitosano- aceite esencial de tomillo; M: metilcelulosa; MT: metilcelulosa-aceite esencial de tomillo.

Tabla 3. Recuentos microbiológicos de muestras de salmón no inoculadas e inoculadas con *Listeria innocua* después de 1 semana en refrigeración y 11 semanas en congelación. CH: quitosano; CHT: quitosano- aceite esencial de tomillo; M: metilcelulosa; MT: metilcelulosa-aceite esencial de tomillo.

Muestras	Recuentos (log ufc/g)					
	1 semana / 10°C				11 semanas / -20°C	
	A. mesófilos	Coliformes	<i>Listeria</i>	<i>L. innocua</i>	A. mesófilos	Coliformes
Control	3.6 (0.9) ^{ab}	3.98 (0.12) ^d	1.5 (0.3) ^{ab}	5.4 (0.5) ^c	2.54 (0.09) ^b	2.23 (0.04) ^c
CH	3.9 (0.5) ^b	3.36 (0.09) ^a	1.1 (0.4) ^a	nd ^a	1.5 (0.7) ^a	1.33 (0.02) ^{ab}
CHT	3.57 (0.05) ^{ab}	3.61 (0.15) ^{bc}	1.23 (0.07) ^a	2.0 (0.2) ^b	2.52 (0.04) ^b	1.4 (0.3) ^{abc}
M	4.96 (0.09) ^d	4.77 (0.09) ^e	2.4 (0.3) ^c	4.23 (0.14) ^c	1.54 (0.08) ^a	1.5 (0.2) ^{ab}
MT	4.93 (0.19) ^{cd}	4.86 (0.16) ^e	2.1 (0.6) ^{bc}	4.92 (0.16) ^c	1.6 (0.3) ^a	2.32 (0.15) ^{bc}

Superíndices distintos (^{a, b, c, d, e}) indican diferencias significativas en una misma columna (p<0.05). nd: no detectado crecimiento

OPTIMIZACIÓN DE UNA FORMULACIÓN DE QUEQUE INGLES ENRIQUECIDO CON HARINA DE PAJURO (*ERYTRINA EDULIS*) Y SU ACEPTABILIDAD

Elena Victoria Torres Mamani¹

Escuela Académico Profesional de Ingeniería Agroindustrial – Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas

¹Ingeniera en Industrias Alimentarias.

Profesora Asociada TC, UNTRM

E-Mail: helenviki4@hotmail.com

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo optimizar una formulación de queque ingles enriquecido con harina de pajuro (*Erythrina edulis*) con características organolépticas de mayor aceptabilidad y con aporte nutricional; para la cual se recolectaron pajuros del distrito de Lamud, región Amazonas. Para la producción de harina de pajuro se emplearon pajuros frescos y se cortaron a un espesor de 2 mm, se sumergieron en ácido cítrico al 0,1 % y escaldado a 92°C por 2 minutos para inactivar las enzimas; luego fueron secados en un secador de bandejas con flujo de aire caliente a una temperatura de 50°C, velocidad de 3,5 m/s en seguida fueron molidas y tamizadas; la harina de pajuro presentaron valores de proteínas 22,0 %; humedad 11,5 %; cenizas 1,7 %; carbohidratos 60,4 % y grasa 4,4 %. Posteriormente se evaluaron diferentes proporciones de sustitución de harina de trigo por harina de pajuro (10 %, 20 % y 30 %) en la elaboración de queque ingles y para la evaluación sensorial se empleó un DBCA con tres tratamiento y 26 panelistas para evaluar los atributos de color, aroma, sabor y textura de mayor aceptación; los resultados mostraron que el queque ingles de mayor aceptación por los panelistas fue aquella en la que se empleó 10 % de harina de pajuro. La caracterización fisicoquímica del queque ingles enriquecido con 10 % de harina de pajuro fueron: proteínas 11,50 %; humedad 27,0 %; cenizas 2,54 %; carbohidratos 49,56 % y grasa 9,40 %.

Palabras clave: queque, pajuro, formulación, aceptabilidad

INTRODUCCIÓN

El pajuro (*Erythrina edulis*) es un árbol de tamaño mediano, excepcionalmente hasta los 10 m de alto, tallo principal y secundario con aguijones cortos y de base ancha. Este árbol florece en racimos de color rojo oscuro y rojo anaranjado; que, posteriormente generan como

frutos, vainas o legumbres lampiñas nudosas más o menos cilíndricas de 20 a 25 cm de largo. Estas vainas poseen de 2 a 6 semillas arriñonadas de color café, cuyas dimensiones son de 2 a 3,5 cm de largo y 2 cm de ancho (Roa, 2002). Asimismo Cárdenas (2010) menciona que el pajuro puede ser usado para superar la desnutrición campesina, promoviendo la autoproducción y reduciendo la importación de alimentos, además se puede implementar el uso de la planta en su totalidad pues las ramas se usarían como forraje para el ganado, la corteza como medicina tradicional, este cultivo trae beneficios al suelo pues fija el nitrógeno necesario para cultivar otros productos.

El presente trabajo pretende aprovechar la composición nutritiva del pajuro, obteniendo en forma de harina y elaborando un queque ingles con características organolépticas y nutritivas adecuadas, para de esta manera dar un valor agregado al pajuro y asimismo incentivar a la producción de dicha leguminosa en la región de Amazonas, con la finalidad de elevar el ingreso económico de los pobladores.

Los objetivos de la presente investigación fueron realizar las características fisicoquímicas de la harina de pajuro, determinar la formulación de mayor aceptabilidad del queque ingles enriquecido con harina de pajuro y realizar la caracterización fisicoquímica del mejor producto.

MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se realizó en el Laboratorio de Tecnología Agroindustrial de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas. La materia prima en estudio fueron las leguminosas de pajuro (*Erytrina edulis*), provenientes del distrito de Lamud, región Amazonas; obteniéndose harina de pajuro (Figura 1), la cual fue caracterizado mediante un análisis fisicoquímico, determinándose las proteínas: método microkjeldahl A. O.A.C. (1980), humedad: método de pérdida de peso A. O.A.C. (1980), cenizas: método de calcinación A. O.A.C. (1980), grasa: método soxhlet A. O.A.C. (1980) y el carbohidrato se obtuvo por diferencia, restando al 100 % la suma de los porcentajes de humedad, proteínas, grasas y cenizas.

Para la selección apropiada de la cantidad de harina de pajuro (*Erytrina edulis*) en la elaboración de queque ingles, se dispusieron 3 tratamientos mostrados en la Tabla 1; manteniendo constante el resto de insumos; evaluándose los atributos de color, aroma, sabor y textura de mayor aceptación del queque ingles mediante un DBCA con 26 panelistas semientrenados, cuyo test de escala hedónica comprendió 9 puntos para el atributo color (9: extremadamente mejor que es testigo, 8: mucho mejor que el testigo, 7: moderadamente

mejor que el testigo, 6: un poco mejor que el testigo, 5: igual al testigo, 4: un poco peor que el testigo, 3: moderadamente peor que el testigo, 2: mucho peor que el testigo y 1: extremadamente peor que el testigo) para aroma y sabor (9: me gusta muchísimo, 8: me gusta mucho, 7: me gusta moderadamente, 6: me gusta ligeramente, 5: no me gusta ni me disgusta, 4: me disgusta ligeramente, 3: me disgusta moderadamente, 2: me disgusta mucho y 1: me disgusta muchísimo) y para la textura (9: extremadamente suave, 8: muy suave, 7: moderadamente suave, 6: un poco suave, 5: no hay diferencia, 4: un poco duro, 3: moderadamente duro, 2: muy duro, 1: extremadamente duro). Con los datos obtenidos de las evaluaciones se elaboró el análisis de varianza, empleando la prueba de Tukey con 0,05 % de significación para evaluar las diferencias de media (Espinoza, 1996).

Tabla 1: Cantidad de harina de pajuro y trigo para la elaboración de queque ingles enriquecido (*Erytrina edulis*).

Tratamientos	% de harina de pajuro	% de harina de trigo
Testigo	0	100
A	10	90
B	20	80
C	30	70

Al mejor tratamiento obtenido se realizó la caracterización fisicoquímica del queque ingles, determinándose: proteínas, humedad, grasa, cenizas y carbohidratos, con los mismos métodos que se emplearon para la harina de pajuro. El diagrama de flujo para la obtención de harina de pajuro (*Erytrina edulis*) se muestra en la figura 1. El diagrama de flujo de elaboración de queque ingles enriquecido con harina de pajuro se muestra en la figura 2.

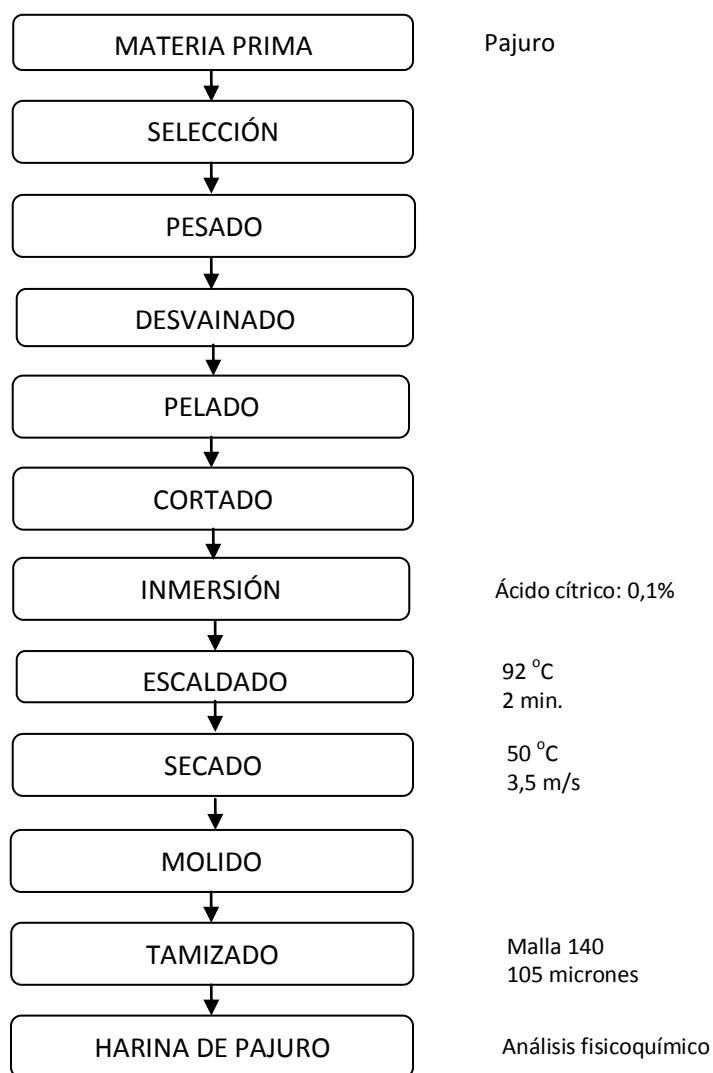


Figura 1: Diagrama De Flujo Para La Obtención De Harina De Pajuro (*Erythrina Edulis*).

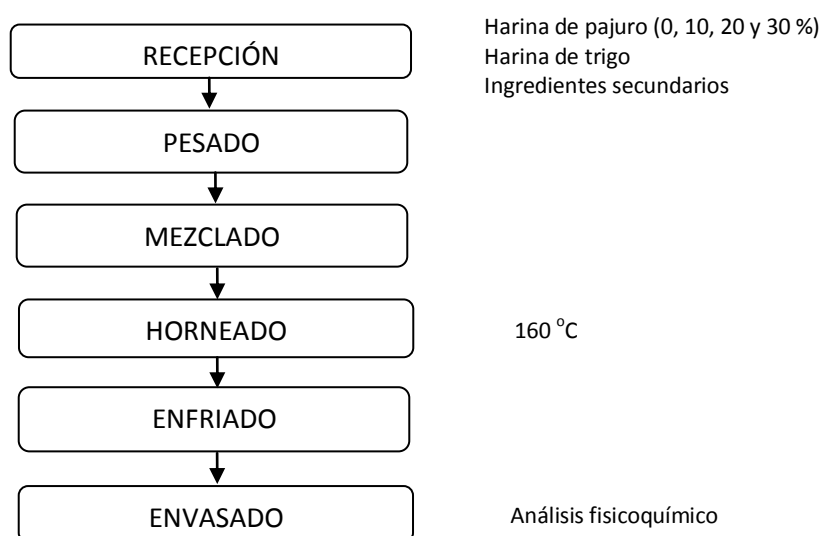


Figura 2: Diagrama De Flujo Para La Elaboración De Queque Ingles Enriquecido Con Harina De Pajuro (*Erythrina Edulis*).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 2, se muestran los resultados de las evaluaciones de las características fisicoquímicas realizadas a la harina de pajuro.

Tabla 2: Características Fisicoquímicas de la harina de pajuro (*Erytrina edulis*).

Características	Valor
*Proteína (%)	22,0
Humedad (%)	11,5
Ceniza (%)	1,7
Carbohidrato (%)	60,4
Grasa (%)	4,4

Número de réplicas = 3

* %Nx6,25

El análisis fisicoquímico de la harina de pajuro (Tabla 2) fue: proteínas 22,0 %; humedad 11,5 %; cenizas 1,7 %; carbohidratos 60,4 % y grasas 4,4 %. Valores cercanos a los obtenidos por Zavaleta (2010), en donde indica 11,73 % de humedad y 20,02 % de proteínas de la harina de pajuro. A su vez Potter (1990), menciona que las legumbres secas contienen alrededor de un 20 – 40 % de proteínas.

En la Tabla 3, se muestran los resultados de la evaluación sensorial, que permitió determinar el grado de aceptación del queque ingles enriquecido con harina de pajuro con respecto al color, aroma, sabor y textura.

Tabla 3: Evaluación sensorial para la determinación de color, aroma, sabor y textura del queque ingles enriquecido con harina de pajuro (*Erytrina edulis*).

Tratamiento	Cantidad de harina de pajuro (%)	Evaluación sensorial			
		Color	Aroma	Sabor	Textura
A	10	5,85a	6,85a	6,69a	7,38a
B	20	5,27a	6,85a	6,92a	6,04bc
C	30	5,08a	6,85a	6,77a	5,62c

(*) Diferentes letras indican diferencias significativas entre tratamientos $p < 0,05$ de acuerdo a la prueba de Tukey.

La evaluación sensorial (Tabla 3) permitió determinar el grado de aceptación del queque ingles enriquecido con harina de pajuro con respecto al color, aroma, sabor y textura; determinándose que el tratamiento A (10 % de harina de pajuro) obtuvo las mejores preferencias por los panelistas (moderadamente mejor que el testigo) en cuanto a color del

queque ingles enriquecido con harina de pajuro. Con respecto al aroma no existió diferencia significativa entre los tratamientos A, B y C; los panelistas indicaron que el aroma es similar cuando se adiciona 10 %, 20 % y 30 % de harina de pajuro, en donde calificaron con un puntaje de 6,85 (me gusta moderadamente). En cuanto al sabor el tratamiento B (20 % de harina de pajuro) obtuvo mayor calificación (me gusta moderadamente). Cabe indicar que el tratamiento A presentó mejor textura (moderadamente suave); los demás tratamientos presentaron cierta dureza. Por lo tanto la cantidad adecuada de harina de pajuro en la elaboración de queque ingles fue de 10 %; en donde presentó un buen color, aroma, sabor y textura según los panelistas.

En la Tabla 4, se muestran valores de los análisis fisicoquímicos efectuados al queque ingles enriquecido con harina de pajuro de mayor aceptabilidad.

Tabla 4: Características fisicoquímicas del queque ingles enriquecido con harina de pajuro (*Erythrina edulis*) de mayor aceptabilidad.

Características	Testigo	Queque ingles enriquecido
*Proteína (%)	9,50	11,50
Humedad (%)	28,00	27,00
Cenizas (%)	2,40	2,54
Grasa (%)	9,20	9,40
Carbohidrato (%)	50,90	49,56

Número de réplicas = 3

* %Nx6,25

En el análisis fisicoquímico se obtuvieron un queque ingles enriquecido con harina de pajuro con 27 % de humedad; Proteínas 11,5 %; cenizas 2,54 %; grasas 9,40 % y carbohidratos 49,56 %. Asimismo el queque sin harina de pajuro tuvo 9,50 % de proteínas; humedad 28,0 %; cenizas 2,40 %; grasas 9,20 % y 50,90 % de carbohidratos. Potter (2000), manifiesta que las leguminosas mejoran la calidad de las proteínas del cereal suplementándolas con los aminoácidos limitantes, como la lisina (y a veces el triptófano o la treonina). A esto se le denomina suplementación proteica. Por otro lado las leguminosas, que son deficientes en metionina, pueden suplementarse con semillas de cereales que no son deficientes en este aminoácido. Este balance mutuo entre uno y otro aminoácido se conoce como complementación proteica.

CONCLUSIONES

Las características fisicoquímicas de la harina de pajuro fueron: Humedad 11,5 %; Proteínas 22 %; Cenizas 1,7 %; Grasa 4,4 % y Carbohidratos 60,4 %.

El contenido de proteínas de la harina de pajuro (22 %) fue superior en comparación a la proteína de harina de trigo (11,5 %).

En la evaluación sensorial se pudo determinar que el queque inglés enriquecido con harina de pajuro de mayor aceptación fue el de 10 % de harina de pajuro; obteniendo las mayores calificaciones en cuanto a los atributos de color, aroma, sabor y textura.

Las características del queque inglés enriquecido con harina de pajuro fueron: Proteínas 11,50 %; Humedad 27,0 %; Cenizas 2,54 %; Grasas 9,40 % y Carbohidratos 49,56 %.

El queque inglés elaborado con 100 % de harina de trigo se registró un 9,50 % de proteína, aumentando a un 11,50 % en el queque inglés elaborado con 10 % de sustitución de harina de pajuro.

Los resultados de la presente investigación demuestran que es posible el uso de harina de pajuro en pastelería; lográndose obtener un producto con buena característica sensorial y nutricional.

BIBLIOGRAFÍA

- A.O.A.C. 1980. Official methods of analysis. 13th. Ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington D.C. 376-84.
- Cárdenas, S. 2010. El poroto o pajuro y la alimentación campesina. Editorial Maijosa.
- Charley H. 1990. Tecnología de alimentos. Editorial Limusa, S. A. de C.V. México.
- Espinoza, E. 1996. Evaluación sensorial de los alimentos. FAIP/UNJBG. Tacna-Perú.
- Madrid, A. 1994. Métodos oficiales de análisis de los alimentos. Ediciones Mundi-Prensa. España.
- Potter, N. 2000. Ciencia de los alimentos. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza (España).
- Quaglia G. 2002. Ciencia y tecnología de la panificación. Editorial Acribia, S.A.
- Roa, G. 2004. Evaluación de impacto ambiental de un proyecto agroforestal. Caso: siembra de 150.000 árboles de *Erythrina edulis*, municipio Andrés Bello, estado Mérida – Venezuela.
- Zavaleta W. 2010. Caracterización fisicoquímica y organoléptica en pan enriquecido por la sustitución parcial de harina de trigo (*Triticum aestivum* L.) por harina, pasta de pajuro (*Erythrina edulis* Triana). Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas.

MÉTODO PARA OBTENCIÓN DE ÁCIDO CARMÍNICO DE LA COCHINILLA (*Dactylopius coccus costa*) EN LA TUNA (*Opuntia picus cactil*)

Ing. Helí Humberto Aguirre Zaquinaula¹, Ing. Miguel Ángel García Torres², Ing. Irma Rumela Aguirre Zaquinaula³.

^{1,2}Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas,
helihumberto@hotmail.com.
Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias.

RESUMEN

Se utilizaron 04 métodos de purificación para obtener el ácido carminico a partir de la cochinilla. Se comparó cada método con un experimento en diseño completo al azar con 6 repeticiones y con su correspondiente procedimiento de laboratorio, calentamiento de las isas hasta ebullición y el agregado de los reactivos químicos, decantación, filtración y secado. Se determinó el peso del ácido carminico y el porcentaje de recuperación, el análisis de varianza y prueba de comparaciones múltiples de promedios Tukey reportaron que con el método de carré se obtuvo la mayor recuperación.

Palabras clave: cochinilla, carmín, ácido carminico

ABSTRACT

04 purification methods were used to obtain the carminic acid starting from the cochineal. Each method was compared with an experiment in design I complete at random with 6 repetitions and with its corresponding laboratory procedure, heating of the isas until boil and the attaché of the chemical reagents, decantation, filtration and drying. It was determined the weight of the carminic acid and the recovery percentage, the variance analysis and test of multiple comparisons of averages Tukey they reported that with the carré method the biggest recovery was obtained.

Keywords: cochineal, carmin, carminic acid

INTRODUCCIÓN

La cochinilla es un insecto (*Dactylopius coccus costa*) que se instala, como parásito, en las hojas de la tuna (*Opuntia picus cactil*), de cuya savia se nutre a través de un estilete bucal. Su reproducción se realiza en la misma tuna, donde se aloja formando colonias. El colorante

natural que se extrae de la cochinilla, contiene dos sustancias: el carmín y el ácido carmínico, que son inocuos al hombre, por lo que se recomienda como colorante natural. Su taxonomía es.- Clase: Insectos, Orden: Hemípteros, Sub-Orden: Homópteros, Familia: Dactylopidae, Género: Dactylopius, Especie: Dactylopius coccus, Nombre vulgar: Cochinilla. Es empleada tradicionalmente en el Perú desde las civilizaciones preincaicas en estado acuoso utilizando alumbre como mordiente, para teñir pelos de alpaca y algodón. Actualmente, el uso principal de la cochinilla es en la modalidad de carmín, el cual es un producto versátil de gran valor para muchas industrias, como en la industria farmacéutica el carmín en polvo o solución empleada en preparación de grageas y tabletas; en solución alcalina se emplea en pastas dentífricas, enjuagues bucales, etc. En la industria cosmética se emplea en lápices, polvos faciales, lápices para los ojos, etc. Desde el punto de vista de calidad, la industria cosmética es la más exigente, sólo acepta el carmín de alta pureza que coincida en tonalidad con sus patrones de calidad y color; es el único colorante aprobado por la Food and Drug Administration (FDA) para su uso en la zona de los ojos. En la industria alimentaria, El consumidor de embutidos está acostumbrado a utilizar productos de cierta tonalidad de rojo. El fabricante emplea carmín para colorear sus embutidos cuando utiliza carne de cerdo y así poder teñir las tripas. Cuando el embutido es hervido por el consumidor se utiliza carmín en polvo. En Francia se le agrega en forma de sal colorante; con Carmín se colorean las bebidas alcohólicas (tipo Campari), bebidas no alcohólicas, jaleas, mermeladas, helados, yogurt, cerezas, sopas en polvo, etc. En general, cualquier producto que deba tener una tonalidad rojo fresa (La Joya Eximport, 2009).

Tabla 1. Clasificación comercial – características de la cochinilla

Características	Calidad primera	Calidad segunda
Humedad	8 – 10 %	11
Ceniza	0 %	0 %
Acido Carmico	19 – 25 %	12
Tamaño de malla	1/16"	1/32"
Impurezas	3 máximo	8

Fuente: La Joya Eximport E.I.R.L

En los últimos tiempos se viene descartando el uso de extractos y colorantes químicamente obtenidos, debido a que son considerados agentes cancerígenos, retomando el

uso de extractos y colorantes naturales que no presentan estas características. Una cualidades más destacadas dentro de los colorantes para la alimentación, es su estabilidad, es decir que no sufren variaciones en su composición en el tiempo y en presencia del calor, de oxígeno y de la luz solar (Álvarez, 1997).

MATERIAL Y MÉTODOS

Investigación Básica, experimental con diseño completamente aleatorizado, con 5 tratamientos y 6 repeticiones (Tresierra, 2000), donde: El factor o variable independiente fue el método de extracción del ácido carminico.

a) Método de Cennete.- se fundamenta en que el tratamiento de la muestra se realizó con nitrato potasio y tetra oxalato de potasio a temperaturas adecuadas,

b) Método inglés.- cuyo fundamento se realiza con la utilización del carbonato de sodio y sulfato doble de aluminio y potasio,

c) Método chino.- Cuyo fundamento en hervir la muestra con una cantidad adecuada de agua, clarificándolo con animal negro y con alumbre que es un sulfato para formar una sal sólida que luego se purifica por decantación y cristalización, es más directo seguro y sencillo que los demás,

d) Método Alemán.- utiliza alumbre que reacciona con el ácido carmínico formando la laca que se purifica por decantación y cristalización en caliente (Bernilla, 1998). Las variables dependientes fueron peso (g) y recuperación (%) de ácido carminico, y se utilizó 24 muestras de cochinilla de 52,170g como unidades experimentales. Los datos del experimento fueron procesados con el paquete estadístico Statistical Package for Social Science (SPSS) versión 15 en español, se calculó promedios, desviación estándar, evaluación de supuestos del diseño experimental, análisis de varianza y prueba Tukey de comparaciones múltiples de tratamientos.

EXPERIMENTOS REALIZADOS EN LABORATORIO

Los procesos fueron realizados en el laboratorio de química de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza.

Método Cennete

Se hizo hervir 10g de cochinilla durante 15 minutos con 0,5 litros de agua. Se agregó 0,25 g de nitrato de potasio y se hirvió 5 minutos más. Luego se agregó 0,3 g de tatraoxalato de potasio y se hizo hervir otros 5 minutos más. Luego se dejó reposar una hora y se preparó el licor de la pulpa por decantación, la laca así obtenida se pasó a un vaso de precipitado

grande, donde se dejó evaporar hasta la sequedad en presencia de luz del ambiente. El producto obtenido fue de un color tinte ladrillo rojizo.

Método Inglés

Se hirvió durante 15 minutos 5 g de cochinilla con 0,3 litros de agua y 0,2 g de carbonato de sodio. Después se añadió 0,3 g de alumbre y se agitó dejándose hervir 15 minutos más y se realizó la decantación, la laca acuosa se clarificó con 0,1 g de colapiz. Se calentó nuevamente agitando, se dejó reposar por media hora, luego se separó la laca por decantación y se dejó secar en oscuridad; el carmín resultante fue poco granuloso al tacto y de color rojo con tono violáceo.

Método Alemán

Se hirvió 3 g de cochinilla con 0,2 con 0,2 litros de agua durante 10 minutos y se agregó 0,2 g de alumbre y se volvió a hervir 10 minutos más y luego se dejó asentar, para finalmente decantar; se eliminó el licor y el precipitado se dejó reposar 2 días, finalmente se dejó secar en un vaso de precipitado grande que hizo las veces de cristizador. El producto obtenido tuvo un tinte de color violáceo.

Método Carré

Se hizo hervir una solución de citrato de sodio con 8 g de cochinilla por espacio de 15 minutos, se dejó reposar por una hora, luego se filtró, al licor se le agregó 0,3 g de negro animal para clarificarlo, después de 10 minutos de reposo, se agregó 2,5 g de alumbre y se hizo hervir nuevamente por espacio de 5 minutos, se dejó reposar 2 horas y luego se separó la laca del licor por medio de otra filtración, se lavó el precipitado con agua destilada y se dejó secar en la oscuridad en un vaso de precipitado grande. El tono del carmín fue de color rojo vivo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 2. Peso (g) de ácido carminico por método de extracción

Observaciones	Método			
	Cennete	Inglés	Carré	Alemán
1	0,142	0,277	0,340	0,203
2	0,149	0,267	0,330	0,223
3	0,157	0,260	0,318	0,243
4	0,160	0,274	0,322	0,224
5	0,164	0,280	0,328	0,229
6	0,157	0,251	0,333	0,259

Fuente: Datos del experimento

Tabla 3. Porcentaje de recuperación de ácido carminico por método de extracción

Observaciones	Método			
	Cennete	Inglés	Carré	Alemán
1	2,85	5,28	6,52	3,98
2	3,00	5,12	6,35	4,25
3	3,15	5,16	6,95	4,32
4	3,21	5,21	6,25	4,19
5	3,28	5,27	6,33	4,15
6	3,14	4,75	6,42	4,75

Fuente: Datos del experimento

Tabla 4. Peso (g) de ácido carmínico por método de extracción

Método de extracción	Media	N	Error	
			Desv. típ.	típ. de la media
Cennete	0.155d	6	0.0080	0.003
Inglés	0.268b	6	0.0111	0.005
Carré	0.329a	6	0.0078	0.003
Alemán	0.230c	6	0.0191	0.008
Total	0.245	24	0.0653	0.013

Fuente: Datos del experimento

Tabla 5. Porcentaje de recuperación de ácido carminico por método de extracción

Método de extracción	Media	N	Error	
			Desv. típ.	típ. de la media
Cennete	3.105d	6	0.1555	0.063
Inglés	5.132b	6	0.1969	0.080
Carré	6.470a	6	0.2521	0.103
Alemán	4.273c	6	0.2601	0.106
Total	4.745	24	1.2717	0.260

Fuente: Datos del experimento

No hay evidencias de evasión de supuestos del diseño, los datos son normales (prueba de Kolmogorov-smirnov $p > 0,05$) y las varianzas iguales (prueba de Levene, $p = 0,211 > 0,05$) a lo largo de todos los métodos de extracción, y al menos uno reporta un peso (g) significativamente diferente (ANOVA, $p = 0,000 < 0,05$), donde (tabla 4) el método Carré es el que alcanzó el mayor peso (g) promedio y el método Cennete el menor, mientras que Inglés y Alemán pesos promedios intermedios (Prueba Tukey)

No hay evidencias de evasión de supuestos del diseño, los datos son normales (prueba de Kolmogorov-smirnov $p > 0,05$) y las varianzas iguales (prueba de Levene, $p = 0,861 > 0,05$) a lo largo de todos los métodos de extracción, y al menos uno reporta un peso (g) significativamente diferente (ANOVA, $p = 0,000 < 0,05$), donde (tabla 5) el método Carré es el que alcanzó el mayor peso (g) promedio y el método Cennete el menor, mientras que Inglés y Alemán pesos promedios intermedios (Prueba Tukey).

Para realizar los experimentos se debe tener en cuenta que la muestra debe ser secada, pulverizada y cuarteada escrupulosamente, lo cual garantiza una muestra homogénea que se someterá al procesamiento de recuperación del ácido carmínico (Cazorla, A. 1992). La recuperación baja utilizando cualquiera de los métodos seleccionados, obteniéndose una mayor recuperación con el método de Carré que fue 6,47%. La recuperación obtenida con el método de Cennete fue de 3,1%, con el método Inglés se obtuvo un rendimiento del orden de 5,63% y con el método Alemán obtuvo un rendimiento del orden del 4,27%. El producto obtenido tiene un color rojo encendido y una apariencia granulosa, antes de efectuar la recuperación es necesario que se someta la cochinilla a un proceso para separar las ceras

utilizando éter de petróleo, esto aumenta el porcentaje de recuperación puesto que existe una relación negativa del porcentaje de recuperación y cantidad presente de cera.

CONCLUSIONES

Después del procesamiento de los resultados, se llega a las siguientes conclusiones:

Con el método de Carré se obtiene el mayor rendimiento del orden del aproximadamente de 0,8% que con el método que le sigue en eficiencia, del orden de 2,2 % con el segundo y del orden de 3,37% con el tercero.

Para obtener buenos resultados es necesario que la cochinilla sea de primera calidad.

Para la realización de los experimentos, es necesario tener un buen procesamiento de la muestra en lo que se refiere a sacado, pulverizado y cuarteado, para tener una muestra representativa homogénea que permita la aplicación de los métodos de recuperación de forma adecuada.

BIBLIOGRAFIA

Alvarez, J. L. 1997 “Cultivo de la Tuna y Crianza de la Cochinilla” 1ra. Edición. Editorial INIA. Lima – Perú

Bernilla, N. 1998 “Manual Técnico del Cultivo de la Tuna y Crianza de la cochinilla” 1ra. Edición. Editorial EDIGRABER. M. Lima- Perú.

La Joya Eximport E.I.R.L.(2009). La Cochinilla. Disponible en: <http://www.lajoyaeximport.com/cochinilla.html> Vistado: 25-05-2011.

Tresierra, A. 2000. Metodología de la Investigación Científica. Edit. Biociencia. Trujillo, Perú. 165 pp.

Asociación de Exportadores (ADEX). Boletín Informativo. Año V. N° 49, 52 y 53.

Cazorla, A. 1992. “Informe sobre los Estudios Realizados por The Britis Industrial Researchasoiation. Acerca de los Probable Efectos Tóxicos del Carmín de la Cochinilla, Comité Administrador del D. L. 22111 – Lima.

Flores, V. 1996. Anuales Compilación del I del Seminario Internacional de la Cochinilla Ayacucho- Perú

EFFECTO GASTROPROTECTOR DEL EXTRACTO TOTAL DE SOLANUM TUBEROSUM L. VAR. “PAPA BLANCA” Y CROTON LECHLERI L. “SANGRE DE GRADO” EN RATTUS RATTUS VAR. ALBINUS CON DAÑO GÁSTRICO POR ACCIÓN DEL ETANOL

Dr. Luis Felipe Gonzales Llontop

Docente de la Facultad de Ingeniería Civil y Ciencias Exactas
Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas

INTRODUCCIÓN

Actualmente se está empleando las plantas medicinales para el tratamiento de una serie de enfermedades como: diabetes mellitus, cirrosis, VIH-sida, gastritis, úlceras gastrointestinales, síndrome de intestino irritable, hipertensión y otros^(1,2).

Diversas poblaciones vienen aplicando el conocimiento de especies vegetales como *Solanum tuberosum* L. “papa blanca” y *Croton lechleri* L. “sangre de grado”; es menester conocer los efectos de su aplicación en úlceras gástricas mediante modelos animales con la finalidad de divulgar el valioso patrimonio de conocimientos y tecnologías artesanales de uso de estos recursos naturales^(3,4,5,6).

La úlcera gástrica es el deterioro de las capas de la pared gástrica debido al rompimiento del epitelio entre los procesos defensivos de la mucosa y el ataque del jugo gástrico, que en condiciones normales no ocurre; y es asociado a múltiples factores^(7,8,9,10).

El nombre científico de la papa es *S. tuberosum* L. y es una planta que pertenece a las solanáceas, y es muy cultivada en toda Sudamérica (Perú y Chile). Este tubérculo contiene: proteínas, vitaminas, minerales, carbohidratos, y otros compuestos⁽¹¹⁾.

Croton lechleri L. es una planta de origen peruana⁽¹¹⁾ y árbol que alcanza 15 metros y crece en ambientes tropicales y a lo largo de los trópicos y las regiones del Amazonas de América del Sur, de su corteza y hojas se extrae una resina llamada “sangre de grado”, teniendo una historia de uso indígena en América del Sur. La usan interna y externamente como cicatrizante de heridas, leucorrea, y úlceras gástricas.

En este estudio se propuso aplicar un modelo experimental en ratas para determinar el grado de gastroprotección del extracto total de *S. tuberosum* L. y *C. lechleri* L. en *R. rattus* var. *albinus* con daño gástrico por acción del etanol.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material vegetal

La resina de *Crotonlechleri*L. “sangre de grado”, familia de las Euphorbiaceae, se obtuvo cortando el tallo transversalmente varias veces ⁽¹¹⁾, cuatro meses antes de ser sometida experimentalmente siendo traída de Iquitos (Perú) y se utilizó en su estado natural líquido conservándose en frasco de vidrio estéril a 10°C.

Se empleó el extracto de *Solanumtuberosum* L.var. “papa blanca” el cual se adquirió de la provincia de Chachapoyas y se empleó en su estado fresco 4 días antes del experimento. Se obtuvo a través de varias papas multifragmentadas con el uso de un cuchillo y un rayador común de cocina. Luego se procedió a extraer el extracto de papa mediante el uso de una tela blanca, limpia y esterilizada

Cuantificación del extracto total de *S.tuberosum*L. y de la resina de *C.lechleri*L.

En base a un trabajo piloto se determinó la dosis efectiva (DE)₅₀ del extracto de resina de *C. lechleri*L. que fue de 400 mg/Kg y de *S. tuberosum*L.fue de 200 mg/Kg administrado a los animales según grupo de tratamiento en dosis diarias por tres días. El trabajo piloto fue realizado con el 20% del número total de los animales ⁽¹²⁾.

Métodos

En el presente estudio se utilizaron 35 ratas hembras de la especie *Rattusrattus*var. albinus, de 03 meses de edad y 250 g de peso promedio, que fueron acondicionados por 07 días a una temperatura de 20 a 22°C.Las ratas fueron distribuidos en 07 grupos de 05 animales cada uno, recibiendo agua *ab libitum*y alimento. Al octavo día los animales estuvieron en ayuno por 24 horas antes de administrarles los extractos, pesándolos y consignándoles su rotulación y las observaciones en la ficha de recolección de datos ⁽⁵⁾. Se aplicaron los tratamientos por tres días a través de una sonda orogástrica y una cánula metálica. Se establecieron 7 grupos ^(12,13):

Grupo 1: Grupo Testigo que solo recibió solución salina fisiológica (SSF).

Grupo 2:(G. Control) recibieron una dosis de solución salina fisiológica (SSF) y una hora después fueron inducidos con etanol absoluto.

Grupo 3:(G. Problema I) Una dosis de *S. tuberosum*L. después de una hora se aplicó etanol absoluto.

Grupo 4:(G. Problema II) Una dosis de *C.lechleri*L. después de una hora se aplicó etanol absoluto.

Grupo 5:(G. problema III) Una dosis de *Solanumtuberosum*L. y *Crotonlechleri*L. después de una hora se aplicó etanol absoluto.

Grupo 6:(G. problema IV) Doble dosis de *Solanumtuberosum*L. y *Crotonlechleri*L. después de una hora se aplicó etanol absoluto.

Grupo 7:(G. Patrón) Una dosis de ranitidina después de una hora se aplicó etanol.

Extracción de la cavidad gástrica y estudio anatómo-histopatológico

Seis horas después de la inducción de la lesión gástrica con etanol, las ratas fueron anestesiadas con pentobarbital sódico (50mg/Kg de peso, vía intraperitoneal) y se procedió a una laparotomía, seguida de gastrectomía. Se seccionó la curvatura mayor del estómago para la evaluación ulcerosa.El contenido gástrico se descartó y se lavó con solución salina fisiológica (SSF) al 0,9%. Se mantuvo el estómago en vasos Beaker con solución salina helada. Se extendió el estómago sobre una plancha de tecknopor, fijándose con alfileres y se pasó al estereoscopio para la evaluación ulcerosa⁽¹⁴⁾.Las biopsias fueron fijadas en formaldehido neutro al 10% y se enviaron en frascos rotulados al Laboratorio de Histopatología “Soldado Muro” de Trujillo. Las láminas se colorearon con hematoxilina/eosina. Luego se procedió al análisis histopatológico. El índice o grado de ulceración (IU) se expresó como el total de milímetros (mm²) contados teniendo en cuenta el largo y el ancho de cada lesión⁽¹⁴⁾, según:

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{IU.c - IU.p}{IU.c} \times 100$$

Siendo:

I.U.c: Índice de ulceración medio del grupo control.

I.U.p: Índice de ulceración medio del grupo problema o patrón.

Análisis Estadístico: Se aplicó el test T-Student, donde se aceptó un valor significativo de $p < 0,05$. Para la comparación de grupos se empleó la prueba no paramétrica de Kruskall Wallis⁽¹⁴⁾.

RESULTADOS

Tabla 1: Análisis macroscópico según el Índice de Ulceración tratados con *Solanum tuberosum* L. y *Croton lechleri* L. en *Rattus rattus* var. albinus con daño gástrico inducido por etanol.

Grupo	Nº de ratas	Índice de ulceración I.U. (mm ²)	Disminución (%)
Testigo	5	-	-
Control	5	44,8 ± 6,94	-
Problema I	5	24,4 ± 0,68	20,21
Problema II	5	19,6 ± 0,44	31,26
Problema III	5	14,8 ± 1,52*	41,78
Problema IV	5	1,85 ± 1,97*	93,69
Patrón	5	9,7 ± 10,87**	61,17

* p < 0,05 (comparado con el grupo control)
 ** p < 0,01 (comparado con el grupo control)

Tabla 2: Grado de lesión microscópica del antro y cuerpo del estómago en *Rattus rattus* var. albinus con lesión gástrica inducida por etanol y tratados con *Solanum tuberosum* L. y *Croton lechleri* L., según la escala de Marhuenda

Grado de lesión	Testigo		Control		Problema I		Problema II		Problema III		Problema IV		Patrón	
	n°	%	n°	%	n°	%	n°	%	n°	%	n°	%	n°	%
Leve (+)	-	-	-	-	-	-	1	20	-	-	0	0	2	40
Moderado (++)	-	-	-	-	-	-	1	20	-	-	4	80*	3	60**
Severo (+++)	-	-	1	20	1	20	3	60*	3	60*	1	20	-	-
Muy severo (++++)	-	-	4	80	4	80	0	0	2	40	-	-	-	-

*p<0,05 (comparado con el grupo control) **p<0,01 (comparado con el grupo control)

Grupo 1: Testigo; 2: Control; 3: Problema I (una dosis de *Solanum tuberosum* L.); 4: Problema II (una dosis de *Croton lechleri* L.); 5: Problema III (una dosis de *Solanum tuberosum* L. y *Croton lechleri* L.); 6: Problema IV (doble dosis de *Solanum tuberosum* L. y *Croton lechleri* L.); 7: Patrón (una dosis de ranitidina).

Grado Leve: Ligero edema y congestión

Grado Moderado: Regular edema, congestión y sangrado

Grado Severo: Puntiforme congestión con edema, congestión y sangrado

Grado Muy Severo: Marcada congestión con sangraques o ampollas o amplias y extensas, o úlceras.

Tabla 3: Lesiones gástricas macroscópicas (cuerpo y antro) en 05 *Rattus rattus* var. albinus con daño gástrico por efecto del etanol y tratadas con *Solanum tuberosum* L. y *Croton lechleri* L. según la escala de Marhuenda

Observaciones	Grupo de animales afectados							Total de animales afectados
	1	2	3	4	5	6	7	
Espesor anormal de la pared gástrica	0	2	1	1	2	1	1	6
Dilatación de la pared digestiva	0	2	1	2	1	0	2	6
Mucosa erosionada	0	1	3	1	2	1	1	8
Hiperemia	0	3	2	1	2	1	1	7
Exudado mucoso	0	2	2	1	2	1	1	7
. Amarillento	0	3	0	0	0	0	0	0
Úlceras	0	4	2	2	2	0	0	6
. Únicas y múltiples	0	4	2	2	2	0	0	6
. Ausencia	5	1	1	2	0	5	4	12

Sobre un total de 25 ratas (grupos 3,4,5, 6 y 7)

Grupo 1: Testigo; 2: Control; 3: Problema I (una dosis de *Solanum tuberosum* L.); 4: Problema II (una dosis de *Croton lechleri* L.); 5: Problema III (una dosis de *Solanum tuberosum* L. y *Croton lechleri* L.); 6: Problema IV (doble dosis de *Solanum tuberosum* L. y *Croton lechleri* L.); 7: Patrón (una dosis de ranitidina).

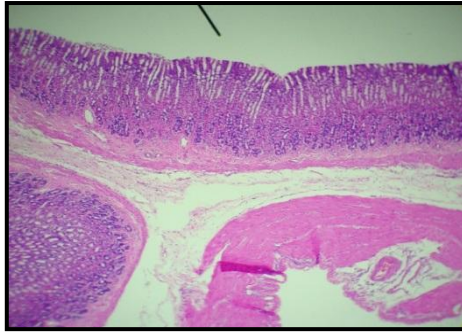


Figura 1. Mucosa gástrica de *Rattusrattus*var. albinus del grupo I que recibió inyección de solución salina fisiológica. La mucosa muestra una histología normal (100X).

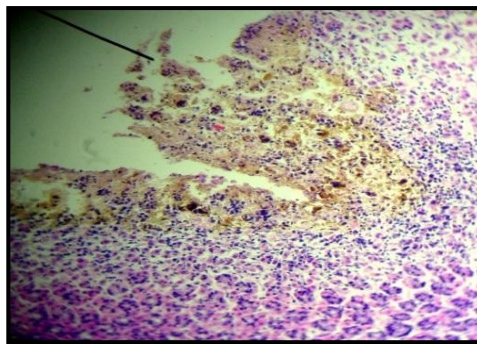


Figura 2.Mucosa gástrica (cuerpo) de *R. rattus*var. albinus del grupo II que recibió solo etanol. Se observan ulceraciones hemorrágicas múltiples (1000X).

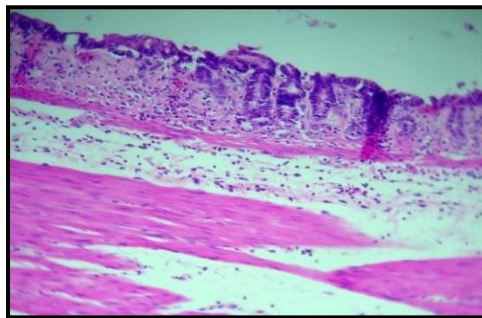


Figura 3.Mucosa gástrica de *R.rattus*var. albinus del grupo IV con doble dosis de *S.tuberosum* L. y *C.lechleri* L.(100x).Se observa el epitelio intacto y regenerado.

DISCUSIÓN

En la evaluación macroscópica las lesiones en la prevención con solución salina más etanol alcanzó un promedio $44,8\% \pm 6,94\%$ del total de la superficie glandular del estómago, siendo muy superior a lo encontrado por otros investigadores ^(15,16,17) quienes encontraron un promedio de $15,4\% \pm 9,50\%$; podría deberse al ataque del etanol^(10,12).

La mucosa gástrica de *Rattusrattusvar albinus* del grupo I (figura 1) que recibió solución salina fisiológica mostró una mucosa saludable y normal. Sin embargo el grupo control presentó lesiones muy severas con áreas de necrosis que se extendieron hasta la muscularismucosae (tabla 1 y figura 2). Hubo perfusión sanguínea entre la mucosa y submucosa con reacción inflamatoria. La submucosa del órgano mostró edema, congestión y exudado fibrinoleucocitario, característica de la inflamación aguda. La observación de leucocitos en grado moderado nos indica que hubo escasa presencia bacteriana debido a la acción antibiótica de *C. lecheri*L. Es posible que *C. lecheri*L. con sus propiedades medicinales inhibiera la invasión leucocitaria evitando así una fuerte toxicidad gástrica e isquemia concordando estos resultados con otros estudios ^(3,4,5). Los flavonoides y taninos presentes en la sangre de grado con sus grupos hidroxilo fenólicos habrían neutralizado dichos efectos.

En 20 animales inducidos con daño gástrico por etanol, solo 08 ratas (grupo control y grupo problema I) presentaron un grado de lesión muy severa. Los grupos problemas I y II presentaron lesiones muy graves posiblemente esto se debió al ligero efecto protector del extracto de papa y de sangre de grado ensayados por separado ⁽¹⁴⁾.

El efecto del etanol ^(3,5) en el grupo control se observó erosiones hemorrágicas múltiples distribuidas por la superficie gástrica (figura 2), con necrosis en el epitelio y lámina propia llegando a la muscularismucosae. Mientras que el grupo que recibió *C. lecheri*L. mas etanol no presentó estas características, pues la resina con sus propiedades vasodilatadoras ofrecería un adecuado flujo sanguíneo evitando la formación de erosiones ulcerosas ⁽¹²⁾. El proceso degradativo inducido por etanol es generado por activación de fagocitos, producción de O_2^- , H_2O_2 , NO^- y $HOCL$; la liberación de ácido araquidónico y formación enzimática de peróxidos (a partir de la producción de lipooxigenasas y ciclooxigenasas) los cuales dañarían las membranas celulares.

En el grupo problema I con una dosis de *S. tuberosum*L. más etanol (96°) se observó lesiones múltiples localizadas en el estómago. Con zonas de mucosa gástrica hiperémica, edematosa y petequias diversas. Las lesiones más profundas afectaron a todo el grosor de la mucosa (figura 3) y se extendieron hasta la submucosa causando ulceración. El parcial efecto protector (20,21%) ofrecido por el extracto de papa podría deberse a la solamina y mucoides las cuales habrían proporcionado cierto blindaje a la mucosa gástrica para que no fuese dañada totalmente (el 20% de los animales de este grupo no presentó daño ulceroso). El grupo problema II que fue tratado con *C.lecheri*L. y etanol según las tablas 2 y 3 no presentó úlceras (figura 4) solamente se halló puntos de erosión, con edema, congestión y sangrado

posiblemente los componentes de este extracto contrarrestaron el efecto de los radicales libres. La capacidad antioxidante de los fenoles y flavonoides de *C. lechleri*L. habrían demostrado una mejor gastroprotección respecto a la acción de *S. tuberosum*L.

El grupo V(comparativo) que recibió ranitidina se observó edema moderado y una ligera congestión vascular. El epitelio superficial sufrió infiltrado inflamatorio en la mucosa con predominancia polimorfonuclear, entonces facilitaría la acción de *H. pylori* que incrementaría la gravedad de la lesión^(18,19). Los resultados de este trabajo demostraron que utilizando un extracto de *S. tuberosum*L. y *C.lechleri*L. administrados por separado redujo parcialmente el daño gástrico en la mucosa de las ratas inducido con etanol (20,21% y 31,26%) mientras que comparado con la ranitidina esta presentó un mejor efecto gastroprotector(61,17%). El descubrimiento de que la ranitidina administrada oralmente no protegió la mucosa gástrica contra el etanol concuerda con lo informado por otros investigadores.

El 60% de las ratas de los grupos control y problema II y comparativo a las que solo se les administró por separado una dosis de *C. lechleri*L. y ranitidina, se logró reducir parcialmente el daño gástrico (no hubo úlceras en la mucosa gástrica^(20,21). La sangre de grado es muy alcalinizante por sus minerales y sus agentes antioxidantes (flavonoides) que contiene. Esto habría creado un ambiente alcalino, logrando “atrapar” a los radicales libres de su nefasta acción anticelular, propiciando una gastroprotección parcial (31,26%) de inhibición ulcerosa.

En las condiciones experimentales de nuestro laboratorio el extracto total de *S.tuberosum*L. y *C.lechleri*L. a 400 mg/Kg y 800 mg/Kg (doble dosis) presentó un mejor efecto gastroprotector sobre el tejido gástrico dañado por etanol.

CONCLUSIONES

La dosis del extracto total de *S. tuberosum* L. var. “papa blanca” y *C. lechleri*L. “sangre de grado” a 400 mg/Kg y 800 mg/Kg de disminuyó en un 93,69% las lesiones ulcerosas de la mucosa gástrica lo que resultó un valor superior a lo encontrado con los grupos: problema I (20,21%), problema II (31,26%), problema III (41,78%) y patrón (61,17%).

En las condiciones experimentales de nuestro laboratorio el extracto total de *S.tuberosum*L. y *C.lechleri*L. administrados de forma combinada presentó un mejor efecto gastroprotector sobre el tejido gástrico dañado por etanol.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Lezaeta, M. 2001. Medicina natural. 10 ma. Edic. Ed. Keir. S.A. B.Aires. Argentina.
- Piles, R. 1990. Catálogo de Plantas Útiles de la Amazonía Peruana. Instituto Linguístico de Verano. Yarinacocha, Perú.
- Ayala, S.,D. Díaz; M. Palomino y Armas, J. 1999. Efecto protector de *C. palanostigma* y *A. vera* frente a injuria gástrica inducida por etanol en ratas. UNMSM. Lima-Perú.
- Málaga E. 1991. Efecto del clorhidrato de taspina sobre la curación de úlcera gástrica inducida en ratas. Tesis de bachiller en Biología. Lima. UPCH.
- Pieters L, De Bruyne T, ClaeysM, Calomme. M, VandenBerghe D. 1993. Isolation of a dihidrobenzofuranlignan from south American dragon's blood (croton ssp) as an inhibitor of cell proliferation. Belgium, J Natural Products. 56(6):899-906.
- Sandoval, M., Ayala,S., Oré, R., Loli, A., Huaman, O., Valdivieso, R. y Bejar E. 2006. Capacidad antioxidante de la sangre de grado (*C. palanostigma*) sobre la mucosa gástrica, en animales de experimentación. F. de Medicina. UNMSM.67(3).
- Castañeda, C. B., Manrique M., Ibáñez V., Gamarra C. y Galán, L. 2003. Evaluación del efecto antiulceroso del extracto acuoso y metanólico de *L. mutibilissweet* (tarwo, chocho) en ratas. Art. 4. Vol. 3. NI-2.
- Gomollan, F.; Santoria, S.; y Montoro, M. 2000. ¿Erradicar *H. pylori* significa cicatrizar la ulcera duodenal? R. de Gastroenterología y hepatología. 22(1):62-65.
- Robert A.; J. Nezamis; Lancaster C. & A. Manchar. 1979. Prevention of gastric necrosis produced by alcohol, HCl, Na OH, hypertonic NaCl and thermal injury. Gastroenterology. Pag. 77:433-3.
- Saeki T., Ohno T., Boku K., Saigenji K., Katori M. & M. Majima. 2000. Mechanism of prevention by capsaicin of ethanol-induced gastric mucosal injury: a study using intravital microscopy. Aliment Pharmacol Ther.
- Vasquez, M. 1990. Useful Plants of Amazonian Perú. Second draft. Filed with USDA's National Agricultural Library.
- Castillo, F.; Castillo, E. y Reyes, C. 2008. Efecto protector de *Menta spicata* L. en la injuria aguda de mucosa gástrica inducida por etanol en *R.rattus* var. *albinus*. Rev. Med. Vallejiana. Vol. 5 (2) 110. Trujillo.
- Marhuenda RE, Bravo DL. 2005. de Farmacoterapia. Madrid. Elsevier. 729 pp.
- Mercado, P.; E. Silva; L. Yenque; A. García. 2004. Factores de virulencia de *H. pylori* y la acción de *A. vera* sobre su crecimiento. REBIOL. Vol. 24 (1-2): 37-43.
- Harrington SJ, Schelegel JF, Code CF. 1981. The protective effect of sucralfate on the gastric mucosa of rats. J. Clin Gastroenterol;3: 129-34.
- Hippisley, C., Coupland. 2005. Risk of myocardial infarction in patients Taking Cyclooxygenase-2 inhibitors or conventional non-steroidal anti inflammatory drugs: British Medical Journal 2005; 330: 1366.
- Nageli A, Maco M, Matos Z y Maguiña Y. 2007. Efecto protector de *L.acidophilus* en gastritis erosiva inducida por indometacina en ratones. RM. Vol. 12.n. 2. Lima.
- Brasley, S.; Gyr, K. y Barúa, R. 1996. Infección por *H. pylori* en el mundo en desarrollo. Diagnostico 35(4): 42-45.

González, L.2009. Efecto regenerador de *Aloe vera L.* en la pared intestinal de *Rattusrattusvar. albinus* con daño gástrico por acción de la indometacina. UNT.

Soldato P., Foschi, D., y Daniotti, S. 1985. Comparison of the gastric cytoprotective properties of atropine, ranitidine and PGE2 in rats. J. Pharmacol. 106:53-8.

Palacios, B., Montero, M., y San Roman,L. 1998. Pharmacology of JB-9315, a new selective histamine H2-receptor antagonist. Gen Pharmacol. 30(2): 181-9

EVALUACIÓN DE LA PULPA DE CAFÉ PARA EL CULTIVO DEL HONGO COMESTIBLE *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) Kumm

Oscar Andrés Gamarra Torres¹

¹ Instituto de Investigación para el Desarrollo Sustentable de Ceja de Selva de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas.

Ciudad Universitaria S/N – Barrio de Higos Urco – Chachapoyas – Amazonas – Perú

Teléfono: 941984686 / 041-479038

e-mail: osgat77@yahoo.com / ogamarra@indes-ces.edu.pe

INTRODUCCIÓN

La producción del hongo comestible *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) Kumm, es una alternativa nutricional, económica y ecológica, que permite aprovechar materiales lignocelulósicos. En Perú existen iniciativas de cultivo en la Universidad Peruana Cayetano Heredia (com. pers, 2007) y su cultivo a nivel industrial o semiindustrial está poco fomentado debido en parte a que en el poblador peruano no está arraigada entre sus costumbres el consumo de hongos comestibles. En México se empezó a cultivar en 1974 y es considerado como el principal productor de *Pleurotus* spp. en toda América (Sánchez & Royse, 2001).

El género *Pleurotus* spp. se encuentra ampliamente distribuido a nivel mundial e incluye especies comestibles de alto valor económico en muchos países. *Pleurotus ostreatus* (Jacq. Ex Fr.) Kumm, es una de las especies mayormente cultivadas; sin embargo, existen otras, denominadas “exóticas”, que son producidas en menor escala de manera local en diversos países. Se reconocen un número mayor de 20 especies y entre ellas señala a *P. cornucopiae* (Paulet Pers.) Roland, *P. pulmonarius* (Fr.) Qué. y *P. eryngii* (DC Fr.), entre otras (Calvo-Bado, 2001).

Clasificación taxonómica de *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) Kumm

Dominio	Eucaria
Reino	Fungi
División	Basidiomycotina
Clase	Homobasidiomicete
Subclase	Hymenomicete
Orden	Agaricales
Familia	Tricholomataceae
Género	<i>Pleurotus</i>
Especie	<i>ostreatus</i> (Jacq. ex Fr.) Kumm

El crecimiento en los hongos es un fenómeno mal conocido, sin embargo se tiene algunos indicios de los factores que afectan su desarrollo. Zadrazil citado por Sánchez (2001), reportó que la especie *P. ostreatus* crece en un rango entre 0 y 35 °C con una temperatura óptima de 30 °C. Si el pH del sustrato donde crece un hongo no es el adecuado, aunque las condiciones de temperatura y nutrientes sean óptimos, el crecimiento se verá afectado. Para el crecimiento de *Pleurotus* se han citado rangos de pH entre 4 y 7; con un óptimo entre 5 y 6 (Sánchez, 2001).

Para Sánchez (2001), el contenido de humedad influye directamente sobre el desarrollo de los hongos porque afecta la disponibilidad de nutrientes. Los contenidos de humedad inferiores al 50 % no serán propicios y una humedad superior al 80 % tendrá un efecto negativo en el crecimiento de *Pleurotus spp*, también se conoce que la humedad óptima para la fructificación de *P. ostreatus* es de aproximadamente 85 %.

El cultivo de *P. ostreatus* ha sido ensayado en un sinnúmero de medios de cultivo algunos de los cuales contienen residuos de cosecha o postcosecha, entre los que destacan: trigo autoclavado, arroz autoclavado, aserrín semidescompuesto, extracto de ocho verduras-agar, extracto de zanahorias-agar, agar papa dextrosa, tierra humificada, estiércol de ganado vacuno, trocitos de madera, aserrín más trigo, aserrín más arroz (Ríos & Ruiz, 1993).

El cultivo de hongos comestibles se sustenta en la idea de aprovechar los subproductos agrícolas para generar un producto alimenticio (Saldarriaga & Pineda, 2001). Es una tecnología fácil de implementar y puede convertirse en una fuente secundaria de ingresos económicos que presenta ventajas ya que no requiere de productos químicos; una vez que se obtuvo el producto comestible, del sustrato se puede obtener abono orgánico, mediante composteo y vermicomposteo, para la producción de plantas y hortalizas; también en la conservación y mejora de la calidad de los suelos (Levanon & Danai, 2001).

En tal sentido, la presente investigación tuvo como objetivo cultivar el hongo comestible *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) Kumm empleando como sustrato pulpa de café.

MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Material biológico

La cepa de *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) Kumm empleada en el presente estudio se encuentra depositada en el Cepario de Hongos del Laboratorio de Microbiología y Bioquímica de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas, Chachapoyas, Perú; en medio agar extracto de malta a 25 °C. La cepa fue donada por la Dra.

Magdalena Pavlich Herrera del Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales *In Vitro* de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

2.2. Cultivo y producción del hongo

2.2.1. Obtención del micelio

Se preparó placas petri con agar extracto de malta, las cuales fueron inoculadas con micelio de la cepa *P. ostreatus*, para posteriormente producir semilla. Las placas fueron incubadas por 5 días a 25 °C (Figura 1).

2.2.2. Obtención de semilla o spwan

Para la producción de semilla o spwan de *P. ostreatus* se utilizó semilla de trigo hidratadas por 12 horas, las que se agregaron hasta 2/3 de la capacidad de los frascos de vidrio de 1000 mL; que fueron esterilizados en autoclave a 121 °C por 20 min. A continuación, se inocularon los frascos asépticamente, con el hongo para lo cual se cortó un cuadrado de 1 cm de lado del micelio crecido en las placas, introduciendo uno de ellos en cada frasco, los que se incubaron por 25 días a 25 °C (Figura 2).

2.2.3. Fermentación del sustrato

Se procedió a la fermentación del sustrato (pulpa de café) durante cinco días (período de incubación). Se consideró que la pulpa estuvo lista cuando presentó color café oscuro, textura sólida y no pastosa y olor aromático.

2.2.4. Preparación del sustrato

Después de fermentado el sustrato se procede a lavarlo y colocar 250 g en bolsas de polietileno transparente, dejando vacío el tercio superior; luego se pasteurizó (115 °C por 45 minutos) y esterilizó (121 °C por 1 hora).

2.2.5. Siembra e incubación del sustrato

Una vez frías las bolsas del sustrato, se procedió a la inoculación con la semilla o spwan a razón de 5%, 10% y 20% del peso de sustrato en cada bolsa, la que se realizó en oscuridad. Se hicieron controles diarios con el fin de comprobar el desarrollo micelial y detectar casos de contaminación que conllevaría a la eliminación del bloque para evitar su generalización. Transcurridos 5 días se procedió a perforar las bolsas con una navaja esterilizada.

2.3. Evaluación de la productividad

Los parámetros básicos usados para referirse a los niveles de producción son tres:

2.3.1. Eficiencia biológica (EB)

EB = Peso del hongo fresco (en gramos)* / Peso del sustrato seco (en gramos) x 100

* Se calcula a partir del peso total de la producción y se deben incluir todas las cosechas, aunque si se desea se puede obtener una eficiencia biológica para cada una de las cosechas.

2.3.2. Tasa de producción (TP)

$TP = \text{Eficiencia biológica (EB)} / \text{Tiempo de producción} *$

* El tiempo de producción se toma a partir de la inoculación al sustrato definitivo hasta obtener la última cosecha. El tiempo de producción para 121 °C fue de 45 días y de 60 días para 115 °C.

2.3.3. Rendimiento (R)

$R = \text{Peso del hongo fresco (en gramos)} * / \text{Peso del sustrato húmedo utilizado} \times 100$

* Se calcula a partir del peso total de la producción y se incluyen todas las cosechas.

2.4. Análisis estadístico

Se aplicó un experimento factorial 2A3B y para cada tratamiento se hicieron 3 repeticiones. El factor A es la temperatura: (a_1 : 121 °C y a_2 : 115 °C) y el factor B es el porcentaje de inóculo: (b_1 : 5%, b_2 : 10% y b_3 : 20%). La EB, la TP y el R, se consideraron como variables respuesta. Con los datos obtenidos se aplicó el análisis de varianza completamente al azar y posteriormente se aplicó la prueba de comparación de rangos múltiples de Tukey ($p < 0,05$), utilizando Statgraphics Plus for Windows ver. 5.1.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1, se aprecia que el menor peso fresco 29,5 g se obtuvo en el tratamiento 121 °C y 5% de inóculo y el mayor peso fresco 66,8 g se encontró en el tratamiento 115 °C y 20 % de inóculo.

La Tabla 2, muestra que los menores valores de EB, TP y R se obtuvieron con el tratamiento 121 °C y 20 % de inóculo. Los máximos valores para EB, TP y R fueron obtenidos con el tratamiento 115 °C y 20 % de inóculo.

Los resultados de la Tabla 2, en cuanto a la mayor eficiencia biológica (133,6%) y tasa de producción (2,2%) coinciden con lo reportado por García *et al.* (2006), que obtuvo una EB de 148,2% y una TP de 2,7%; asimismo, en la Tabla 2 se observa que la EB de 58,9% y TP de 1,3% obtenidas son superiores a la EB (33,1%) y TP (0,62%) halladas por García *et al.* (2006).

De la misma manera, la eficiencia biológica (133,6%), tasa de producción (2,2%) y rendimiento (26,7%) encontrados en la presente investigación con *P. ostreatus* son mayores a la EB (93,5%), TP (1,8%) y R (21,7%) halladas para *Pleurotus djamor* (Vega *et al.*, 2006).

La EB, TP y R de *P. ostreatus* hallados en la presente investigación, comparados con los obtenidos por García *et al.* (2006) y Vega *et al.* (2006); permiten sugerir que su cultivo es una alternativa viable para el aprovechamiento de diversos residuos agroindustriales generados en la Región Amazonas, lo que puede representar una oportunidad para establecer pequeñas empresas en la región.

Las diferencias presentadas en los tratamientos en cuanto a peso fresco, eficiencia biológica, tasa de producción y rendimiento en el cultivo pudieron deberse a diferentes factores entre ellos el ambiental, ya que al realizar el cultivo no fueron controladas adecuadamente las condiciones de humedad, temperatura y concentración de CO₂ que pueden impactar de diferente manera en el cultivo (Sánchez, 2001).

La tasa de inoculación (% de inóculo), es uno de los parámetros decisivos en la producción de *P. ostreatus*, ya que de esto depende el menor costo de producción y tiempo de colonización; asimismo en la siembra comercial se utilizan tasas de inoculación del 2,0 – 2,5 %, lo que es rentable pero demuestra que la semilla no se distribuye de manera homogénea en el sustrato y que el hongo no alcance su tasa óptima de crecimiento (Sánchez & Royse, 2001). En tal sentido, la existencia de diferencias significativas entre los tratamientos sugiere emplear 10 % de inóculo, con lo que se evitaría los problemas manifestados que se encuentran asociados a la utilización de menor cantidad de inóculo.

CONCLUSIONES

El tratamiento con 115 °C y 20 % de inóculo presentó la mayor eficiencia biológica, tasa de producción y rendimiento.

El tratamiento de 121 °C y 20 % de inóculo presentó la menor eficiencia biológica, tasa de producción y rendimiento.

BIBLIOGRAFÍA

Calvo-Bado, L. 2001. Sistemática del género *Pleurotus* con énfasis en las especies cultivadas. En Sánchez, J. E. & Royse, D. (eds). La biología y el cultivo de *Pleurotus spp.* Edit. ECOSUR - UTEHA Noriega Editores. Chiapas – México.

García O., N; R.C., Bermúdez S.; P., Gross C. & M., Hernández H. 2006. Cultivo de cepas de *Pleurotus sp.* sobre pulpa de café. Revista Mexicana de Micología 23: 99-101.

Levanon, D. & O., Danai, 2001. Aspectos ambientales en el cultivo de hongos. En Sánchez, J. E. & Royse, D. (eds). La biología y el cultivo de *Pleurotus spp.* Edit. ECOSUR - UTEHA Noriega Editores. Chiapas – México.

Ríos, R & L. Ruiz. 1993. Aislamiento y cultivo del hongo comestible *Pleurotus afin ostreatus* (Jacq. ex Fr) Kumm en Tingo María. Folia Amazonica 5(1-2): 5 – 16.

Sánchez, J. 2001. Crecimiento y fructificación. En Sánchez, J. E. & Royse, D. (eds). La biología y el cultivo de *Pleurotus spp.* Edit. ECOSUR - UTEHA Noriega Editores. Chiapas – México.

Sánchez, J. E. & Royse, D. 2001. El cultivo de *Pleurotus spp.* En Sánchez, J. E. & Royse, D. (eds). La biología y el cultivo de *Pleurotus spp.* Edit. ECOSUR - UTEHA Noriega Editores. Chiapas – México.

Saldarriaga O. & Pineda G, F. 2001. Manual de Micología Aplicada. Edit. Editorial Universidad de Antioquia. Medellín - Colombia.

Vega, A.; G., Mata; D., Salmenes & R.E., Caballero. 2006. Cultivo de cepas nativas de *Pleurotus djamor* en Panamá, en paja de arroz y pulpa de café. Revista Mexicana de Micología 23: 93-97.



Figura 1. Micelio de *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) Kumm en Agar Malta después de 05 días de incubación a 25 °C.



Figura 2. Semilla o spwan de *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) Kumm, en semilla de trigo después de 25 días de incubación a 25 °C.



Figura 3. Micelio de *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) Kumm, invadiendo la pulpa de café después de 05 días de incubación a 25 °C.



Figura 4. Cuerpos fructíferos de *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) Kumm, en pulpa de café a 45 días de incubación.

Tabla 1. Producción total de cuerpos fructíferos de *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) Kumm, en pulpa de café.

Temperatura (°C)	Cantidad de inóculo (%)	Peso fresco total de los cuerpos fructíferos (g)
121	5	29,7(0,2) ^a
	10	32,6(0,4) ^a
	20	29,5(0,8) ^a
115	5	36,4(4,3) ^a
	10	62,4(3,5) ^b
	20	66,8(2,8) ^b

Se muestran los promedios y desviación estándar de 03 repeticiones por tratamiento.

Valores con diferentes letras (superíndices) en una misma columna, indican diferencias significativas con la Prueba Tukey ($p < 0,05$).

Tabla 2. Productividad de *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) Kumm, en pulpa de café.

Temperatura (°C)	Cantidad de inóculo (%)	Eficiencia biológica (%)	Tasa de producción (%)	Rendimiento (%)
121	5	59,3(0,3) ^a	1,3(0,0) ^a	11,9(0,1) ^a
	10	65,2(0,8) ^a	1,4(0,0) ^a	13,0(0,2) ^a
	20	58,9(1,7) ^a	1,3(0,0) ^a	11,8(0,3) ^a
115	5	72,7(8,5) ^a	1,2(0,1) ^a	14,5(1,7) ^a
	10	124,7(7,1) ^b	2,1(0,1) ^b	24,9(1,4) ^b
	20	133,6(5,6) ^b	2,2(0,1) ^b	26,7(1,1) ^b

Se muestran los promedios y desviación estándar de 03 repeticiones por tratamiento.

Valores con diferentes letras (superíndices) en una misma columna, indican diferencias significativas con la Prueba Tukey ($p < 0,05$).

OPTIMIZACIÓN DE UN NUEVO MÉTODO DE AHUMADO DE PESCADO

Mañes, V.; Rizo, A.; Fuentes, A.; Fernández-Segovia, I.; Barat, J.M.

Departamento de Tecnología de Alimentos, Universitat Politècnica de València, Camino de Vera s/n, 46022 Valencia (España)

1. INTRODUCCIÓN

El ahumado tradicional de pescado incluye diferentes etapas como el salado, el secado y/o ahumado. Existe un interés creciente por su mejora, mediante nuevos métodos que permitan reducir tiempos de procesado, minimizar los residuos de sal y/o mejorar la calidad higiénica del producto final. Fuentes et al., (2008) propuso un nuevo método en el cual se dosifica la cantidad exacta de sal que debe ser absorbida por el pescado. Este procedimiento demostró ser capaz de reducir residuos y obtener productos más homogéneos. Recientemente, se han desarrollado nuevos materiales poliméricos con una alta tasa de permeabilidad al vapor de agua. Actualmente, existen pocas aplicaciones de estos materiales en tecnología de alimentos, centrándose principalmente en el madurado en seco de carne de vacuno (DeGeer et al., 2009; Dikeman et al., 2013). El uso de bolsas altamente permeables al vapor de agua permite la deshidratación del producto controlando las condiciones externas de temperatura y humedad relativa, al igual que sucedería sin envase, pero permitiendo controlar el riesgo de contaminación microbiana. La combinación de un proceso de salado-ahumado simultáneo combinado con el uso de bolsas permeables al vapor de agua podría permitir la obtención de un nuevo producto ahumado con características similares a los productos tradicionales, aportando múltiples ventajas como la reducción de residuos y tiempo de procesado, el mantenimiento de la calidad higiénica y la optimización de rendimientos. El objetivo de este estudio fue desarrollar un nuevo método de ahumado-salado usando bolsas permeables al vapor de agua para la obtención de salmón ahumado.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Materiales

La materia prima fueron lomos de salmón (*Salmo salar*) noruego de piscifactoría (Marine Harvest, Bergen, Noruega). En el proceso de salado-ahumado se empleó sal (NaCl) suministrada por Panreac Química, S.A (Barcelona, España) y humo líquido HARDWOOD AFS 10 (Amcan Ingrédients Ltd., Le Chesnay, Francia). En este estudio se utilizaron dos tipos de bolsas de plástico: bolsas permeables al vapor de agua (WP), suministradas por

TUB-EX ApS (Taars, Denmark) y bolsas de alta barrera (HB) suministradas por Productos Pilarica, S.A. (Valencia, España). Por otra parte se determinaron los parámetros físico-químicos del salmón ahumado comercial para ser utilizados como valores de referencia. Para ello se analizó salmón ahumado de una misma marca comercial y procedente de 2 lotes de fabricación distintos.

2.2 .Diseño experimental

Para la optimización del nuevo proceso, se estudió el efecto de la cantidad de sal empleada, la humedad relativa en la cámara de secado y la permeabilidad de la bolsa, con el objeto de establecer las condiciones óptimas de procesado para obtener salmón ahumado con características similares a los productos comerciales. Los filetes de salmón se cortaron en porciones de 4 cm y se pulverizaron con humo líquido diluido en agua (60% (v/v)). Seguidamente se salaron mediante un proceso de salado controlado, dosificando sobre la superficie una cantidad exacta de sal previamente establecida. En el presente estudio, se consideraron 3 cantidades de sal: 4, 6 y 8 g sal/100 g salmón fresco, en base a estudios previos (Fuentes et al., 2008). A continuación, las porciones de salmón se dividieron en 2 grupos, uno de los cuales se envasó a vacío utilizando bolsas (HB) y el otro se envasó en bolsas (WP). A su vez cada uno de estos grupos se dividieron aleatoriamente en 3 lotes que serían procesados a distintas humedades relativas (50%, 60% y 70% HR). Todas las muestras fueron envasadas a vacío. Cabe destacar que en las bolsas WP no se consigue mantener las condiciones de vacío durante el procesado debido a sus características de permeabilidad. El salado-ahumado de las porciones de salmón se llevó a cabo en una cámara de secado a 5 °C durante 24 h. Al finalizar el tiempo de salado-ahumado, las porciones de salmón se sacaron de las bolsas y el líquido exudado por el pescado fue recogido y pesado. Se llevaron a cabo análisis de humedad, pH, contenido en NaCl, a_w y contenido en grasa, en el salmón fresco y ahumado. Para cada una de las condiciones se utilizaron tres muestras (n=3), realizando todos los análisis por triplicado.

2.3. Evaluación sensorial

Una vez establecidas las condiciones adecuadas del nuevo proceso, se realizó un análisis sensorial para evaluar la aceptación de los productos obtenidos, con un panel de 32 catadores no entrenados, pero consumidores habituales de productos ahumados. Se realizaron pruebas escalares (AENOR, 2006), utilizando escalas semi-estructuradas, mediante las cuales se evaluaron los atributos de apariencia, color, olor, intensidad de olor a humo, sabor, intensidad de salado y aceptación global. Los catadores evaluaron una muestra de salmón ahumado comercial y 3 muestras de salmón ahumado obtenidas por el nuevo método de

salado-ahumado, con la misma dosificación de sal (8%) y secado a diferentes humedades relativas (50, 60 y 70% HR)

2.4. Determinaciones analíticas

La determinación del contenido de humedad y de grasa se realizó siguiendo el procedimiento 950.46 y 991.36 respectivamente (AOAC, 1997). El contenido en cloruro sódico se analizó según el procedimiento descrito por Fuentes et al., (2010). El pH se midió sobre las porciones de pescado empleando un pH-metro con electrodo de punción. El valor de a_w se determinó mediante un higrómetro de punto de rocío. La variación de masa total de las porciones de salmón (ΔM_t) se calculó a partir del peso inicial de la muestra de pescado (M_0) y el peso al finalizar el procesado (M_t) (ecuación 1).

$$\Delta M_t = \left(\frac{M_0 - M_t}{M_0} \right) \quad (1)$$

2.5. Análisis estadístico

Con los datos obtenidos se llevaron a cabo ANOVAs multifactor para evaluar el efecto de la cantidad de sal dosificada (S) y de las condiciones de envasado (P) en el proceso. Se utilizó el procedimiento LSD (least significant difference) para comprobar las diferencias a un nivel de significación del 5%. En el análisis sensorial se llevaron a cabo ANOVAs simples para comprobar la existencia de diferencias significativas entre las muestras ahumadas bajo las distintas condiciones de procesado y el salmón ahumado comercial. Para ello se empleó el programa Statgraphics Centurión XVI (Manugistics Inc., Rockville, MD, USA).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El contenido en humedad, grasa y cloruro sódico, pH y a_w de la materia prima y del producto comercial se muestran en la tabla 1.

De acuerdo con los valores de la materia prima y del producto de referencia en este estudio (Tabla 1), las condiciones de procesado del nuevo método deberían permitir reducir la humedad del salmón más de un 5% y mediante las dosificaciones de sal establecidas debería alcanzarse un contenido en sal final cercano al 4%. En general, el salado-ahumado causó una reducción significativa del contenido en agua y de los valores de a_w , así como un incremento en la concentración de cloruro sódico comparado con el salmón fresco (Figura 1). Independientemente de las condiciones de envasado y de la humedad relativa empleada, la concentración de sal en el salmón ahumado aumentó conforme aumentó la dosificación de sal, reduciéndose los valores de a_w . Para un mismo nivel de sal, el proceso de salado combinado con HB condujo a un mayor contenido en sal en el producto final comparado con

en el envasado WP. El efecto del envasado a vacío sobre la penetración de sal en el músculo ha sido observado en otros estudios, donde el envasado a vacío permitió acelerar la absorción de NaCl (Rizo et al., 2013). En cuanto a las muestras WP, la humedad relativa afectó a los valores de humedad y a_w , siendo las muestras procesadas con humedad relativa más baja (WP-50), las que mostraron menores valores de humedad y a_w . Entre las muestras WP no se observaron diferencias significativas en el contenido en sal dependiendo de la humedad relativa de procesado, lo que indica que la absorción de sal no se vio afectada por ésta. Las muestras WP-70 mostraron los valores más altos de a_w y humedad para todas las dosificaciones de sal, sin alcanzar los valores de referencia establecidos.

Considerando la a_w como uno de los parámetros más importantes para establecer la seguridad del producto ahumado, las muestras WP-60 con una dosificación de sal del 8% fueron las que mostraron los valores de humedad, contenido en sal y a_w más cercanos a los de referencia. No obstante, estos resultados deberían coincidir con los del análisis sensorial.

La Tabla 2 muestra la variación de peso, el contenido en grasa y el pH del salmón ahumado obtenido por el nuevo proceso de salado-ahumado usando diferentes condiciones. La pérdida de peso (ΔM_t) aumentó conforme lo hizo la dosificación de sal, siendo este resultado mayor al disminuir la HR. Independientemente de la dosificación de sal, la pérdida de peso fue menor en las muestras HB comparado con las WP; ya que en éstas se produjo una mayor deshidratación debido a las condiciones de humedad relativa y la permeabilidad de las bolsas.

Los resultados obtenidos para el ANOVA multifactor para cada parámetro fisicoquímico se muestran en la Tabla 3. La cantidad de sal dosificada y las condiciones de envasado influenciaron de forma importante todos los parámetros evaluados, siendo el efecto del envasado mayor que el efecto de la cantidad de sal dosificada.

Finalizado el salado-ahumado, el líquido exudado por el pescado durante el proceso fue recogido y pesado, cuyos valores se muestran en la Figura 2. No se observó exudado en las muestras WP-50 y 60, lo que confirma que las bolsas WP permitieron la evaporación del agua liberada por el músculo; sin embargo, para la condición más alta de HR (muestras WP-70) sí se recogió una cierta cantidad de exudado, siendo menor que la recogida para las muestras HB. De acuerdo a estos resultados, la realización simultánea del secado y el salado en las bolsas WP permitió la evaporación del líquido exudado. Este hecho combinado con el proceso de salado controlado, permitió reducir el volumen final de residuos de salmuera generados. La reducción de los residuos de salmuera y de los tiempos de procesado representan importantes ventajas de este método con respecto a los procesos tradicionales,

además de aportar otros beneficios, como la reducción del riesgo de contaminación microbiana y la maximización de rendimientos.

Una vez establecidas las condiciones óptimas de ahumado-salado se realizó un análisis sensorial para comprobar la aceptabilidad del nuevo producto de salmón ahumado. Las muestras utilizadas fueron procesadas a diferentes HR (WP -50, WP-60 y WP-70) con una dosificación de sal del 8%. Los valores globales dados por los catadores para los atributos sensoriales de las diferentes muestras evaluadas se muestran en la Figura 3. No se encontraron diferencias significativas entre las muestras para ninguno de los atributos evaluados ($p>0,05$). Sin embargo, las puntuaciones para el salmón comercial fueron ligeramente superiores en el caso de sabor, olor y aceptación global, y menores para el atributo de color comparado con las muestras obtenidas por el nuevo método.

Los valores medios de las puntuaciones dadas por los catadores para la intensidad de olor a humo e intensidad de salado se muestran en la Figura 4. Para estos dos atributos todas las muestras recibieron valores cercanos al óptimo, sin observarse diferencias significativas ($p>0,05$) entre muestras. Las muestras WP-60 obtuvieron los valores más próximos al óptimo, mientras que las comerciales y las WP-70 fueron las más alejadas del valor ideal. De acuerdo con los resultados obtenidos, se puede afirmar que los atributos sensoriales del salmón ahumado obtenido mediante esta nueva metodología fueron percibidos como similares a los del salmón ahumado comercial.

4. CONCLUSIONES

El procedimiento de salado combinado con el envasado en HB dio lugar a una mayor concentración de sal en el producto final comparado con el envasado en WP. En las muestras envasadas en WP, el descenso en la humedad relativa de la cámara provocó una mayor reducción de los valores de humedad y a_w . Sin embargo, la captación de sal no se vio afectada por la humedad relativa utilizada durante el proceso. Entre los niveles de sal empleados, las muestras WP -60 fueron las que más se aproximaron a los niveles de a_w , contenido en sal y humedad de las muestras comerciales. La utilización de una humedad relativa del 50 y 60% permitió la evaporación completa del agua liberada por el músculo. Los atributos sensoriales del salmón ahumado obtenido mediante este nuevo proceso fueron similares a los del producto comercial. Los resultados muestran que esta metodología podría sustituir a los procedimientos tradicionales, ya que no altera las propiedades físico-químicas ni la aceptación del producto por parte del consumidor. La utilización de las bolsas WP permite

reducir el número de etapas de procesado y la manipulación del pescado a lo largo de la cadena de elaboración. La reducción en la cantidad de sal empleada y la menor salmuera residual supone otras ventajas. Los resultados del presente estudio suponen un gran avance en la mejora del proceso de ahumado; sin embargo, sería necesario evaluar entre otros aspectos, la vida útil del producto y el impacto medioambiental.

5. REFERENCIAS

AENOR (2006). Norma UNE EN-ISO 4121:2003. *Análisis sensorial*. Directrices para la utilización de escalas de respuestas cuantitativas. Madrid: AENOR.

AOAC,1997. Official methods of analysis (16th ed).Washington: Association of Official Analytical Chemists.

DeGeer S.L., Hunt M.C., Bratcher C.L., Crozier-Dodson B.A., Johnson D.E., Stika J.F. (2009). Effects of dry aging of bone-in and boneless strip loins using two aging processes for two aging times. *Meat Science*, 83, 768–774.

Dikeman, M. E., Obuz, E., Gök, V., Akkaya, L., Stroda, S. (2013). Effects of dry, vacuum, and special bag aging; USDA quality grade; and end-point temperature on yields and eating quality of beef Longissimus lumborum steaks. *Meat science*, 94(2), 228–33.

Fuentes, A., Barat, J. M., Fernández-Segovia, I., Serra, J. A. (2008). Study of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) salting process: Kinetic and thermodynamic control. *Food Control*, 19(8), 757–763.

Fuentes, A., Fernández-Segovia, I., Serra, J. A., Barat, J. M. (2010). Development of a smoked sea bass product with partial sodium replacement. *LWT - Food Science and Technology*, 43(9), 1426–1433.

Rizo A., Fuentes A., Fernández-Segovia, I., Masot, R., Alcañiz, M. (2013). Development of a new salmon salting-smoking method and process monitoring by impedance spectroscopy. *LWT - Food Science and Technology*, 51, 218-224

TABLAS

Tabla 1. Parámetros fisicoquímicos de la materia prima y de salmón ahumado comercial. Valores medios \pm DS (n = 3).

	Materia prima	Salmón ahumado comercial	
		Lote 1	Lote 2
Humedad (g/100g)	65.39 \pm 1.93	60.10 \pm 0.06	60.01 \pm 0.22
Grasa (g/100g)	12.48 \pm 3.47	11.43 \pm 0.63	12.36 \pm 0.94
NaCl (g/100g)	0.20 \pm 0.01	4.31 \pm 0.08	4.00 \pm 0.22
pH	6.19 \pm 0.08	6.30 \pm 0.06	6.28 \pm 0.02
a_v	0.993 \pm 0.003	0.950 \pm 0.008	0.949 \pm 0.001

Tabla 2. Variación de peso, contenido en grasa y pH del salmón ahumado obtenido utilizando diferentes dosificaciones de sal (S) y condiciones de envasado (P). Valores medios ± DS (n = 3).

P	S (g sal/100g)	ΔMt	% Grasa	pH
HB	4	-0.032 ± 0.003 ^{aA}	10.84 ± 0.56 ^{aB}	6.09 ± 0.09 ^{aAB}
	6	-0.043 ± 0.010 ^{bA}	10.68 ± 0.81 ^{aB}	6.11 ± 0.14 ^{aAB}
	8	-0.053 ± 0.006 ^{cA}	12.92 ± 1.22 ^{bB}	6.13 ± 0.09 ^{aAB}
WP-50	4	-0.094 ± 0.003 ^{aB}	12.73 ± 0.43 ^{aC}	6.13 ± 0.03 ^{aA}
	6	-0.095 ± 0.004 ^{bB}	13.22 ± 0.05 ^{aC}	6.17 ± 0.03 ^{aA}
	8	-0.107 ± 0.006 ^{cB}	16.56 ± 1.59 ^{bC}	6.17 ± 0.04 ^{aA}
WP-60	4	-0.069 ± 0.013 ^{aC}	8.96 ± 3.68 ^{aA}	6.09 ± 0.00 ^{aB}
	6	-0.085 ± 0.008 ^{bC}	10.41 ± 0.50 ^{aA}	6.04 ± 0.04 ^{aB}
	8	-0.085 ± 0.012 ^{cC}	9.39 ± 1.88 ^{bA}	6.08 ± 0.03 ^{aB}
WP-70	4	-0.056 ± 0.011 ^{aD}	12.20 ± 1.90 ^{aB}	6.26 ± 0.01 ^{aC}
	6	-0.067 ± 0.012 ^{bD}	10.75 ± 1.90 ^{aB}	6.31 ± 0.04 ^{aC}
	8	-0.069 ± 0.004 ^{cD}	12.80 ± 0.56 ^{bB}	6.26 ± 0.04 ^{aC}

Letras diferentes dentro de una misma columna indican la existencia de diferencias significativas. Letras minúsculas corresponden al factor (S) y letras mayúsculas al factor (P).

Tabla 3. Valores de F-ratio y nivel de significación, obtenidos en el ANOVA multifactor para las variables contenido en humedad, grasa y NaCl, pH, a_w y variación de masa total (ΔMt), en función de los factores: nivel de sal (S) y condiciones de envasado (P) y sus respectivas interacciones.

	S	P	S x P
Humedad	12.44***	13.62***	1.59 ^{ns}
Grasa	3.23*	11.78***	1.93 ^{ns}
% NaCl	8.83***	9.81***	1.33 ^{ns}
pH	0.14 ^{ns}	12.71***	0.33 ^{ns}
a _w	10.72***	10.84***	0.67 ^{ns}
ΔMt	13.71***	125.83***	0.77 ^{ns}

ns: no significativo, * p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001

FIGURAS

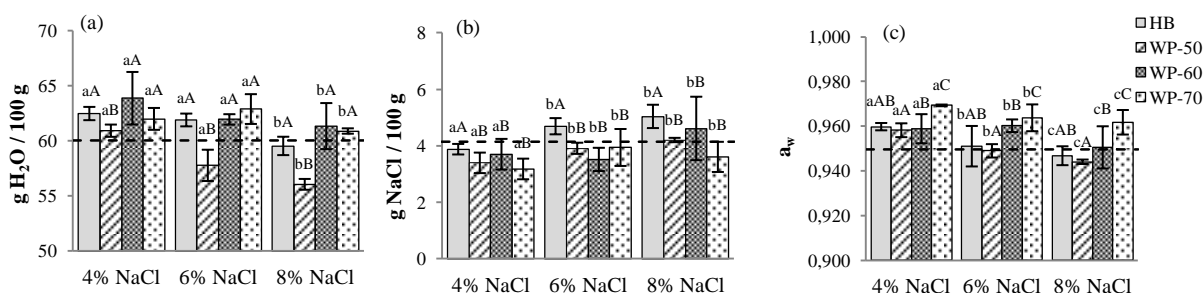


Figura 1. Contenidos de humedad y NaCl, y a_w de las muestras de salmón ahumado obtenidas combinando diferentes dosificaciones de sal (4, 6 y 8% NaCl), dos tipos de envasado (bolsas permeables al vapor de agua (WP) y bolsas de alta barrera (HB)) y distintos valores de humedad relativa (50, 60 y 70). Valores promedio ± DS (n=3). La línea discontinua representa los valores del producto comercial. Letras diferentes indican la existencia de diferencias significativas; las letras minúsculas corresponden al factor dosificación de sal y letras mayúsculas al factor condiciones de envasado (p < 0.05).

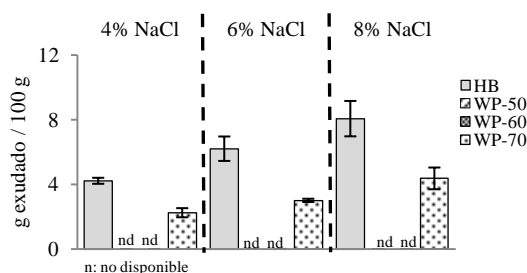


Figura 2. Porcentaje de exudado generado durante el proceso de ahumado-salado. WP: bolsas permeables al vapor de agua; HB: bolsas de alta barrera

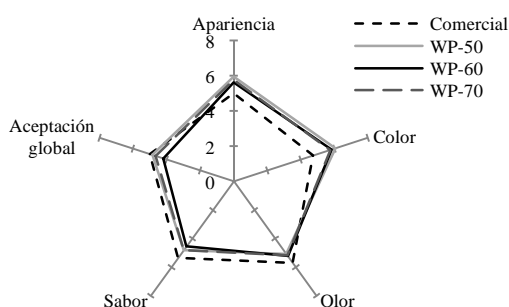


Figura 3. Representación de la media de las puntuaciones dadas por los catadores, para distintos atributos evaluados en muestras de salmón ahumado comercial, y salmón ahumado procesado en WP (50, 60 y 70). 0: Muy desagradable, 4: Aceptable, 8: Muy agradable. WP: bolsas permeables al vapor de agua.

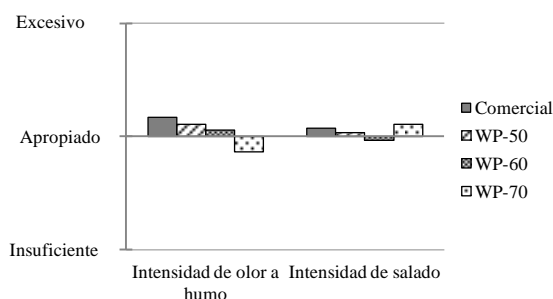


Figura 4. Representación de la media de las puntuaciones para los atributos de “intensidad de olor a humo” e ”intensidad de salado”, evaluados en muestras de salmón ahumado comercial, y salmón ahumado procesado WP (50, 60 y 70). WP: bolsas permeables al vapor de agua.



EDITORIAL