

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA

Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo



Viabilidad del desarrollo de alimentos funcionales frescos por incorporación de aloe vera a la matriz estructural de endibia (*Cichorium intybus* L. var. *foliosum*), brócoli (*Brassica oleracea* var. *itálica*), coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*) y zanahoria (*Daucus carota* L.) mediante la técnica de impregnación a vacío

TESIS DOCTORAL

Presentada por:

Sigrid Ximena Sanzana Ramos

Dirigida por:

Dra. María Luisa Gras Romero

Dr. Daniel José Vidal Brotóns

Valencia, Septiembre de 2010



UNIVERSIDAD
POLITECNICA
DE VALENCIA

MARÍA LUISA GRAS ROMERO, TITULAR DE UNIVERSIDAD, Y DANIEL JOSÉ VIDAL BROTONS, CATEDRÁTICO DE UNIVERSIDAD, AMBOS DEL DEPARTAMENTO DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS DE LA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA,

CONSIDERAMOS: que la memoria titulada **Viabilidad del desarrollo de alimentos funcionales frescos por incorporación de aloe vera a la matriz estructural de endibia (Cichorium intybus L. var. foliosum), brócoli (Brassica oleracea var. itálica), coliflor (Brassica oleracea var. botrytis) y zanahoria (Daucus carota L.) mediante la técnica de impregnación a vacío**, que presenta Dña. Sigrid Ximena Sanzana Ramos, para aspirar al grado de Doctor por la Universidad Politécnica de Valencia, y que ha sido realizada bajo nuestra dirección en el Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo (IUIAD) de la Universidad Politécnica de Valencia, reúne las condiciones adecuadas para constituir su tesis doctoral, por lo que

AUTORIZAMOS al interesado su presentación.

Valencia, España, a 30 de julio de 2010

Fdo. María Luisa Gras Romero
Directora de Tesis

Fdo. Daniel José Vidal Brotóns
Director de Tesis

Deseo expresar mi agradecimiento a los directores de esta tesis, Marisa y Daniel, por la dedicación y apoyo que han brindado a este trabajo, y por el respeto a mis sugerencias e ideas. Gracias por la confianza ofrecida desde el comienzo y por darme la oportunidad de conocer a dos grandes personas.

A mis compañeras de laboratorio con quienes he compartido proyectos e ilusiones durante estos años, además de risas y comidas quiero agradecer esa amistad y compañía.

Un trabajo de investigación es también fruto del reconocimiento y del apoyo que nos ofrecen las personas que nos estiman, entregándonos fuerza y energía. Gracias a mis amigas y amigos, que siempre me han prestado un gran apoyo necesario en los momentos difíciles.

Gracias a mi familia, a mis padres y a mis hermanos, porque siempre han respaldado y animado los desafíos que me he propuesto.

Pero, sobre todo, gracias a mi marido y mi hijo, por el tiempo que me han concedido y lo involucrados que han estado con este trabajo. Esta tesis es también vuestra labor.

A todos, muchas gracias.

“No se ve bien sino con el corazón,
lo esencial es invisible a los ojos”
El principito, *Antoine de Saint-Exupéry*

A mis padres, Egon y Herminia, gracias.

A Patricio y Matías, mi complemento y apoyo.

RESUMEN

El vínculo que une la alimentación y la salud es un aspecto que desde hace algunos años marca la evolución de la industria de los alimentos. El origen de los alimentos funcionales, es fruto de esta preocupación, ampliando el concepto de alimentación a la posibilidad de mantener y/o mejorar la salud. Los alimentos funcionales que incluyen, según definición del ILSI, a "cualquier alimento o ingrediente del mismo que pueda producir para la salud un beneficio adicional al del valor nutritivo de los nutrientes que contiene", son un reclamo vigente para lograr dicho propósito.

El objetivo general de este trabajo fue el desarrollo de productos funcionales frescos, a partir de hortalizas, mediante técnicas de ingeniería de matrices. Se estudió y caracterizó tres matrices vegetales inéditas en este ámbito, como lo son: endibia (*Cichorium intybus* L.var. *foliosum*), brócoli (*B. oleracea* var. *italica*) y coliflor (*B. oleracea* var. *botrytis*), además se usó zanahoria (*Daucus carota* L), cuyo comportamiento ha sido estudiado con anterioridad.

En el presente estudio se planteó trabajar con diferentes tipos de tejido vegetal incluyendo en su estructura un producto natural con funcionalidad fisiológica, aloe vera, mediante aplicación de la técnica de impregnación a vacío. Analizando el efecto de las dispersiones o suspensiones y su interacción con las matrices estructurales estudiadas.

Se realizó un estudio de los parámetros fisicoquímicos de las dispersiones de aloe, con el fin de obtener modelos empíricos que faciliten futuras determinaciones de sus principales características.

Finalmente, se estudio la viabilidad de enriquecer las diferentes matrices vegetales en estudio con dispersiones de aloe, usando una concentración similar al gel natural de la planta y otra con una concentración mayor de sólidos, considerando siempre que el medio de impregnación fuese isotónico con el material vegetal.

La concentración de aloe ingresado en las matrices vegetales fue determinada a partir de tres componentes presentes en el aloe (polisacáridos, ácido málico y Ca^{2+}), estimando un ingreso de aloe a la matriz vegetal entre 0,5 y 5 g de aloe/100g de materia seca.

El éxito de un alimento depende básicamente de su aceptación por parte de los consumidores, por tanto se realizó una prueba del tipo afectiva, mediante una escala hedónica numérico-verbal para conocer la valoración sensorial que recibiría el producto por parte de los posibles consumidores.

RESUM

El vincle que unix l'alimentació i la salut és un aspecte que des de fa alguns anys marca l'evolució de la indústria dels aliments. L'origen dels aliments funcionals, és fruit d'esta preocupació, i amplia el concepte d'alimentació a la possibilitat de mantindre i/o millorar la salut. Els aliments funcionals que inclouen, segons definició de l'ILSI, a "qualsevol aliment o ingredient del mateix que puga produir per a la salut un benefici addicional al del valor nutritiu dels nutrients que conté", són un reclam vigent per a aconseguir tal propòsit.

L'objectiu general d'aquest treball fou el desenvolupament productes funcionals frescos, a partir d'hortalisses, per mitjà de tècniques de l'Enginyeria de Matrius. Es va estudiar i va caracteritzar tres matrius vegetals inèdites en este àmbit, com ho són: endibia (*Cichorium intybus* L. var. *foliosum*), brócoli (*B. oleracea* var. *itálica*) i col-i-flor (*B. oleracea* var. *botrytis*), a més es va usar pastanaga (*Daucus carota* L), el comportament de la qual ha sigut estudiat amb anterioritat.

En el present estudi es va plantejar treballar amb diferents tipus de teixit vegetal incloent en la seua estructura un producte natural amb funcionalitat fisiològica, aloe vera, per mitjà d'aplicació de la tècnica d'impregnació a buit. Analitzant l'efecte de les dispersions o suspensions i la seua interacció amb les matrius estructurals estudiades.

Es va realitzar un estudi dels paràmetres fisicoquímics de les dispersions d'aloè, a fi d'obtindre models empírics que faciliten futures determinacions de les seues principals característiques.

Finalment, es va estudiar la viabilitat d'enriquir les diferents matrius vegetals en estudi amb dispersions d'aloè, usant una concentració semblant al gel natural de la planta i una altra amb una concentració major de sòlids, considerant sempre que el medi d'impregnació fóra isotònic amb el material vegetal.

La concentració d'aloè ingressat en les matrius vegetals va ser determinada a partir de tres components presents en l'aloè (polisacàrids, àcid màlic i Ca^{2+}), estimant un ingrés d'aloè a la matriu vegetal entre 0,5 i 5 g d'aloè/100g de matèria seca.

L'èxit d'un aliment depén bàsicament de la seua acceptació per part dels consumidors, per tant es va realitzar una prova del tipus afectiva, per mitjà d'una escala hedònica numèrico-verbal per a conèixer la valoració sensorial que rebria el producte per part dels possibles consumidors.

SUMMARY

The link between food and health is an issue for some years marks the evolution of the food industry. The origin of functional foods is the result of this concern extending the concept of power to the possibility of maintaining and/or improves health. Functional foods are a valid claim to achieve this purpose, and include, as defined by the ILSI, "any food or ingredient that has, in addition to the simple nutritional value derived from its nutrients, an additional health benefit".

The overall objective of this work was to develop fresh functional products from vegetable, using matrix engineering techniques. We studied and characterized three in this area unprecedented plant matrix, as are: endive (*Cichorium intybus* L.var. *foliosum*), broccoli (*B. oleracea* var. *italica*) and cauliflower (*B. oleracea* var. *botrytis*) also was used carrot (*Daucus carota* L), whose behavior has been studied previously.

In the present study it was to worked with different types of plant tissue introducing in a natural structure with physiological function, aloe vera, by application of a vacuum impregnation technique. Analyzing the effect of dispersions or suspensions and their interaction with structural matrices studied.

This study provides a survey of physicochemical parameters of the aloe dispersions, in order to obtain empirical models to facilitate future assessments of its main characteristics.

Finally, it was studied the feasibility of enriching the different plant matrices dispersions aloe, using a similar solid concentration as found in the natural aloe plant gel and another with a higher concentration of solids,

always taking care that the means of impregnation would be isotonic with the plant material.

The concentration of aloe which entered the matrices was determined through three components existing in the aloe (polysaccharides, malic acid and Ca^{2+}), with an estimated penetration of aloe in the parent plant matrices of between 0.5 and 5 g of aloe/100g dry matter.

The success of a food depends primarily on its acceptance by consumers; therefore it was made an emotional-type test, using a numerical-verbal hedonic scale to determine the sensory evaluation which the product would receive by potential consumers.

ÍNDICE GENERAL

I. Introducción	1
1. Antecedentes.....	3
2. Alimentos funcionales.....	5
2.1. Contexto internacional.....	7
2.2. El mercado de los funcionales.....	9
2.3. Métodos más comunes para la obtención de alimentos funcionales...	10
3. Elaboración de hortalizas enriquecidas mediante impregnación a vacío.....	13
3.1. Impregnación a vacío.....	13
3.2. Matrices vegetales.....	16
3.2. 1. Pared celular en vegetales superiores.....	18
4. Hortalizas estudiadas	20
4.1. Brócoli y Coliflor	20
4.2. Endibia	24
4.3. Zanahoria.....	28
5. Aloe vera. Componente funcional incorporado a las matrices vegetales.....	31
5.1. Botánica.....	32
5.2. Composición química.....	34
5.3. Historia.....	35
5.4. Usos y aplicaciones.....	37
5.5. Productos del aloe y su veracidad.....	41
5.6. Componente funcional	43
5.7. Uso en alimentos.....	45
II. Objetivos	47
1. Objetivos	49
1.1. Objetivo general	49
1.2. Objetivos específicos.....	50

2. Plan de trabajo	51
2.1. Estudio y caracterización del material vegetal	51
2.2. Estudio y caracterización de las dispersiones acuosas de gel de aloe vera.....	52
2.3. Estudio de la factibilidad del enriquecimiento de brócoli, coliflor, endibia y zanahoria con gel de aloe vera, presentes en una dispersión, en concentraciones de 5 y 30 g/L.....	52
III. Materiales y Métodos	55
1. Materiales	57
1.1. Matrices vegetales	57
1.2. Disoluciones de impregnación.....	58
1.2.1. Disoluciones para el estudio de caracterización.....	58
2. Métodos experimentales, equipos e instalaciones	62
2.1. Caracterización físico-química de las materias primas	62
2.1.1. Humedad	62
2.1.2. Actividad del agua	63
2.1.3. pH.....	64
2.1.4. Sólidos solubles	64
2.1.5. Densidad aparente y densidad real.....	66
2.1.6. Porosidad real.....	67
2.1.7. Estudio reológico.....	67
2.1.8. Análisis del tamaño de partículas	69
2.1.9. Potencial zeta.....	70
3. Impregnación a vacío	71
3.1. Equipo experimental	71
4. Efecto de la IV con aloe sobre la tasa de respiración de las hortalizas....	77
4.1. Coeficiente de respiración.	79
5. Cuantificación teórica de AGS por modelo matemático	80
6. Análisis colorimétrico cuantitativo de polisacáridos de aloe	81

6.1. Principio.....	82
6.2. Materiales y equipos.....	82
6.3. Curva de calibración.....	83
6.4. Preparación de las muestras.....	83
6.5. Cálculo.....	84
7. Análisis cuantitativo de ácido málico por espectrofotometría UV.....	85
7.1. Principio.....	86
7.2. Materiales y equipos.....	86
7.3. Preparación muestra: Dispersión AGS.....	87
7.4. Preparación de la muestra: Hortalizas.....	87
7.5. Procedimiento.....	87
7.6. Cálculo.....	88
8. Cuantificación de minerales por cromatografía.....	89
8.1. Preparación de las muestras.....	89
8.2. Equipo y procedimiento.....	90
8.3. Rectas de calibrado.....	91
8.4. Cálculo.....	93
9. Microscopia electrónica de barrido a bajas temperaturas (CryoSEM). Preparación de las muestras y métodos de observación.....	93
10. Evaluación sensorial.....	94
11. Análisis estadístico.....	96
IV. Resultados.....	97
IV.1. Caracterización de brócoli, coliflor, endibia y zanahoria.....	99
1. Introducción.....	101
2. Diseño de experiencias.....	101
3. Caracterización fisicoquímica de las hortalizas.....	104
4. Estudio y caracterización de las hortalizas.....	114
5. Influencia de la IV sobre la tasa respiratoria y coeficiente de respiración del material vegetal.....	119

IV.2. Estudio de dispersiones acuosas de Gel de Aloe Vera en Polvo.....	129
1. Introducción.....	131
2. Diseño de experiencias.....	133
3. Resultados experimentales.....	134
3.1. Actividad del agua (a_w).....	134
3.2. Densidad.....	142
3.3. Comportamiento reológico.....	146
3.4. pH.....	151
3.5. Sólidos solubles (Brix).....	154
4. Distribución del tamaño de partícula.....	157
5. Potencial zeta.....	162
IV.3. Efectos de la dispersión de gel de Aloe vera sobre la matriz vegetal.....	165
1. Introducción.....	167
2. Caracterización fisicoquímica de las hortalizas en estudio.....	168
2.1. Diseño de experiencias.....	168
2.2. Resultados.....	169
3. Comportamiento del material vegetal durante la IV con aloe.....	171
3.1. Diseño de experiencias.....	171
3.2. Resultados.....	172
3.2.1. Brócoli.....	172
3.2.2. Coliflor.....	177
3.2.3. Endibia.....	181
3.2.4. Zanahoria.....	185
3.2.5. Comparación del comportamiento de brócoli, coliflor, endibia y zanahoria durante la IV con aloe.....	189
4. Efecto de la IV sobre la tasa respiratoria (TR) de las hortalizas.....	196
4.1. Diseño de experiencias.....	196
4.2. Resultados.....	197
4.2.1. Brócoli.....	200

4.2.2. Coliflor.....	204
4.2.3. Endibia.....	206
4.2.4. Zanahoria.....	208
5. Cuantificación del aloe incorporado.....	210
5.1. Diseño de experiencias.....	210
5.2. Resultados.....	212
5.2.1. A partir de un modelo basado en balances de materia.....	212
5.2.2. A partir del contenido de polisacáridos.....	213
5.2.3. A partir del contenido en ácido málico.....	219
5.3. A partir del contenido en Calcio.....	223
5.3.1. Minerales en gel de aloe vera en polvo.....	223
5.3.2. Calcio en hortalizas impregnadas con dispersión de gel de aloe vera en polvo.....	224
5.4. Análisis y comparación métodos aplicados.....	227
6. Características sensoriales de las hortalizas impregnadas.....	229
6.1. Diseño de experiencias.....	229
6.2. Resultados.....	230
V. Conclusiones.....	235
VI. Bibliografía.....	241
VII. Anejos.....	267

ÍNDICE TABLAS

Tabla I.1. Composición química de 100 g de parte comestible de brócoli y coliflor.	22
Tabla I.2. Producción de brócoli y coliflor estimada año 2008, distribuida por continentes destacando mayor productor (toneladas/año).	23
Tabla I.3. Producción de endibia estimada año 2008, distribuida por continentes destacando mayor productor (toneladas/año).	26
Tabla I.4. Composición química de 100 g de parte comestible de endibia.....	28
Tabla I.5. Composición química de 100g de parte comestible de zanahoria.	29
Tabla I.6. Producción de zanahoria estimado año 2008, distribuida por continentes destacando mayor productor (toneladas/año).	30
Tabla III.1. Propiedades fisicoquímicas de las disoluciones de IV isotónicas con el material vegetal.....	58
Tabla III.2. Composición de las diluciones de AGS.....	61
Tabla IV.1.1. Caracterización fisicoquímica de las matrices vegetales.....	104
Tabla IV.1.2. Valores medios (\pm desviación estándar) de los parámetros característicos de los fenómenos de HDM-DPR obtenidos durante la IV de las hortalizas estudiadas (en %).	114
Tabla IV.2.1. Valores medios (\pm desviación estándar) para propiedades fisicoquímicas de dispersiones acuosas de AGS a 20 °C.....	134
Tabla IV.2.2. Valores experimentales y valores predichos calculados con el Modelo Lineal General (a_w a 25 °C).	142
Tabla IV.2.3. Parámetros del modelo Ostwald de Waele para las dispersiones de AGS las concentraciones estudiadas (g/L disolución) a 20 °C.....	148
Tabla IV.2.4. Índice de variación de μ AGS respecto a μ H ₂ O (%)	149

Tabla IV.2.5. Valores experimentales y predichos con el % de error correspondiente para disoluciones de AGS (pH a 25 °C).	154
Tabla IV.2.6. Percentiles medios (10, 20, 50, 80 y 90) y sus desviaciones estándar en las tres muestras estudiadas. Las letras en las filas indican grupos homogéneos en las muestras en el respectivo percentil (para $\alpha < 0,01$)	160
Tabla IV.2.7. Valores medios de distribución (D[4,3]) y diámetro correspondiente al máximo pico (D[3,2]).	161
Tabla IV.2.8. Estabilidad de disoluciones respecto a valores de potencial zeta. (Sincero, 2003)	163
Tabla IV.2.9. Valores medios de potencial zeta de la disolución de AGS a distintos pH.	164
Tabla IV.3.1. Características fisicoquímicas (promedio \pm desviación estándar) de las muestras de hortalizas frescas e impregnadas con dispersiones de AGS 5 y 30.	170
Tabla IV.3.2. IV de brócoli. Influencia de la presencia de aloe, en concentraciones de 5 y 30 g/L, en la disolución de impregnación y de la variabilidad propia del material vegetal utilizado sobre los parámetros característicos de la IV de brócoli (en %).	173
Tabla IV.3.3. IV de coliflor. Influencia de la presencia de aloe, en concentraciones de 5 ó 30 g/L, en la disolución de impregnación, y de la variabilidad propia del material vegetal utilizado, sobre los parámetros característicos de la IV de coliflor.	178
Tabla IV.3.4. IV de endibia. Influencia de la presencia de aloe en la disolución de impregnación y del material vegetal utilizado sobre los parámetros característicos (en %).	182
Tabla IV.3.5. IV de zanahoria. Influencia de la presencia de aloe, en concentraciones de 5 y 30 g/L, en la disolución de impregnación y del material vegetal utilizado sobre los parámetros característicos de la IV (en %).	186

Tabla IV.3.6. Influencia de la presencia de aloe, en concentraciones de 5 y 30 g/L, en la disolución de impregnación y del material vegetal utilizado sobre los parámetros característicos de la IV de brócoli, coliflor, endibia y zanahoria.	190
Tabla IV.3.7. TR CO ₂ y CR, para brócoli fresco e impregnado con disolución de sacarosa (IV Sac) y con dispersión de AGS (IV AGS 5 e IV AGS 30).	201
Tabla IV.3.8. TR O ₂ , TR CO ₂ y CR, para coliflor fresca e impregnada con disolución de sacarosa (IV Sac) y con dispersión de AGS (IV AGS 5 e IV AGS 30).	204
Tabla IV.3.9. TR O ₂ , TR CO ₂ y CR, para endibia fresca e impregnada con disolución de sacarosa (IV Sac) y con dispersión de AGS (IV AGS 5 e IV AGS 30).	206
Tabla IV.3.10. TR O ₂ , TR CO ₂ y CR, para zanahoria fresca o impregnada con disolución de sacarosa (IV Sac) o con dispersión de AGS (IV AGS 5 o IV AGS 30).	208
Tabla IV.3.11. Valores medios de impregnación con disolución externa para matrices vegetales en estudio (X ₂ en % v/v).	212
Tabla IV.3.12. Contenido de AGS determinado con el modelo matemático para las hortalizas en estudio (mg/100g base húmeda).	213
Tabla IV.3.13. Peso molecular medio y absorbancia correspondiente para sólidos de gel de aloe y otros polisacáridos.	214
Tabla IV.3.14. Dispersión de los valores de la absorbancia.	215
Tabla IV.3.15. Contenido medio de polisacáridos de aloe (g/100 g MS) y % de recuperación.	216
Tabla IV.3.16. Estimación del contenido medio de AGS (g/100 g MS) en las hortalizas en estudio impregnadas con dispersión de AGS 5 y 30 basados en el contenido de polisacáridos.	218
Tabla IV.3.17. Contenido medio de ácido L-málico en AGS (g/100 g) y % de recuperación.	219

Tabla IV.3.18. Contenido medio de ácido L-málico (g/100 g MS) y % de recuperación.	220
Tabla IV.3.19. Estimación del contenido medio de AGS (g/100 g MS) en las hortalizas en estudio impregnadas con dispersión de AGS 5 y 30 basados en el contenido de ácido L-málico.....	222
Tabla IV.3.20. Determinación de sustancias minerales presentes en el AGS. (Expresadas en g/100g de materia seca).....	223
Tabla IV.3.21. Contenido medio de ión Ca ²⁺ (g/100 g MS).....	224
Tabla IV.3.22. Estimación del contenido medio de AGS (g/100 g MS) en las hortalizas en estudio impregnadas con dispersión de AGS 5 y 30, basados en el contenido de ión Ca ²⁺	226
Tabla IV.3.23. Estimación del contenido medio de AGS (g/100 g MS) en las hortalizas en estudio impregnadas con dispersión de AGS 5 y 30, para los tres métodos de determinación.....	227
Tabla IV.3.24. Frecuencia de respuestas obtenidas para cada muestra.....	231
Tabla IV.3.25. Puntuación obtenida por cada muestra respecto al nivel de satisfacción.....	233

ÍNDICE FIGURAS

Figura I.1. Razones para el consumo de alimentos funcionales. (Fernández y Pinaluba, 2004)..... 7

Figura I.2. Mecanismo hidrodinámico en un poro ideal. 15

Figura I.3. Endibia parte comestible y raíz 25

Figura I.4. Clasificación botánica de Aloe vera (USDA, 2010). 32

Figura I.5. Ilustración del Codex de Dioscórides. Médico del ejército del emperador Nerón, año 512 dC..... 36

Figura I.6. Sello de certificación International Aloe Science Council (IASC). 43

Figura III.1. Polvo de gel de Aloe vera "Aloe Gold Seal 200X" 60

Figura III.2. Equipo Rheo Stress RS1 con sensor cilindro-cónico marca HAKKE..... 68

Figura III.3. Esquema de la variación de potencial y denominación de las capas según la distancia del coloide..... 70

Figura III.4. Esquema del equipo de impregnación a vacío. 71

Figura III.5. Esquema de la metodología seguida en un experimento de IV. 73

Figura III.6. Cromatograma de separación de iones de Na^{2+} , K^{+} , Ca^{2+} y Mg^{2+} 91

Figura III.7. Rectas de calibrado de Na^{2+} , K^{+} , Ca^{2+} y Mg^{2+} 92

Figura IV.1.1. Tejido de endibia fresca, limbo de la hoja, se observa la zona externa con células epidérmicas (ce) y en la zona interna células parenquimáticas (cp) y espacios intercelulares (ei). 105

Figura IV.1.2. Inflorescencias de brócoli (izquierda) y coliflor (derecha)..... 106

Figura IV.1.3. En la parte superior, tejido de brócoli fresco zona interna del tallo floral se diferencia claramente los espacios intercelulares (ei) entre las células parenquimatosas (cp).En la parte inferior tejido de coliflor fresca, cp empaquetadas no se observan ei..... 108

Figura IV.1.4. Tasa respiratoria en función del consumo de O ₂ y la producción de CO ₂ para brócoli (B), coliflor (C), endibia (E) y zanahoria (Z).....	110
Figura IV.1.5. Coeficiente respiratorio para brócoli (B), coliflor (C), endibia (E) y zanahoria (Z).....	113
Figura IV.1.6. Tejido de endibia fresca, zona interna con células empaquetadas sin espacios intercelulares y elementos de los vasos leñosos.....	116
Figura IV.1. 7. Relación entre impregnación y deformación para brócoli, coliflor, endibia y zanahoria, al final de la etapa de vacío (1), al final de la IV (2) y durante la etapa a presión atmosférica (1→2).....	118
Figura IV.1.8. Tasa respiratoria en función del consumo de O ₂ y la producción de CO ₂ para brócoli (B), coliflor (C), endibia (E) y zanahoria (Z), muestras frescas (F) e impregnadas (IV) conservadas a 5 °C durante el ensayo.....	120
Figura IV.1.9. Tasa respiratoria en función del consumo de O ₂ y la producción de CO ₂ para brócoli (B), coliflor (C), endibia (E) y zanahoria (Z), muestras frescas (F) e impregnadas (IV) conservadas a 20 °C durante el ensayo.....	122
Figura IV.1.10. Tasa respiratoria en función del consumo de O ₂ y la producción de CO ₂ para muestras frescas de brócoli (B), coliflor (C), endibia (E) y zanahoria (Z).....	124
Figura IV.1.11. Tasa respiratoria en función del consumo de O ₂ y la producción de CO ₂ para muestras impregnadas de brócoli (B), coliflor (C), endibia (E) y zanahoria (Z).....	125
Figura IV.1.12. Coeficiente respiratorio (CO ₂ producido/O ₂ consumido) para brócoli (B), coliflor (C), endibia (E) y zanahoria (Z), muestras frescas (F) e impregnadas (IV). Imagen superior conservadas a 5 e inferior a 20 °C.....	127

Figura IV.2.1. Relación de a_w - concentración de dispersiones acuosas de AGS.	135
Figura IV.2.2. Ajuste de la regresión lineal. % Error.	137
Figura IV.2.3. Ajuste de la regresión lineal. a_w Predicho - a_w Experimental.	137
Figura IV.2.4. Comparación de valores medios de a_w experimentales y a_w obtenidos por el modelo de Raoult.....	139
Figura IV.2.5. Densidad de las dispersiones de AGS a 20 °C.	143
Figura IV.2.6. % Error para valores de densidad predichas.....	145
Figura IV.2.7. Ajuste de la regresión lineal. Densidades Predichas - Experimentales.....	145
Figura IV.2.8. Curvas de flujo y ajuste de disoluciones de AGS (e= experimental; a= ajustado).....	147
Figura IV.2. 9. Viscosidad dinámica de las disoluciones de AGS 5; 10; 15; 30 y 50 g/L a 20°C, valores experimentales (puntos) y ajuste (línea continua).....	150
Figura IV.2.10. Valores medios de pH para disoluciones de AGS.....	152
Figura IV.2.11. Valores medios de sólidos solubles para disoluciones de AGS.....	155
Figura IV.2.12. °Brix para las disoluciones de AGS experimentales (puntos) y ajuste (línea continua).	156
Figura IV.2.13. % error para los valores predichos de sólidos solubles.	157
Figura IV.2.14. Categorías de polisacáridos de aloe vera y beneficios sobre la salud asociados y acumulados. Adaptado de Terry Laboratories (2010).....	158
Figura IV.2.15. Distribución del tamaño de partículas en muestras de AGS (% volumen).....	159
Figura IV.2. 16. Distribución de tamaño de partículas en muestra de AGS (% número).....	160
Figura IV.3.1. IV de brócoli. Relación entre deformación e impregnación para las muestras de brócoli impregnadas con disolución isotónica de	

sacarosa, dispersión de AGS 5 o AGS 30, al final de la etapa de vacío (0→1) y al final de la etapa a presión atmosférica (1→2).....175

Figura IV.3.2. IV de coliflor. Relación entre deformación e impregnación para las muestras de coliflor impregnadas con disolución isotónica de sacarosa, dispersión de AGS 5 o AGS 30, al final de la etapa de vacío (0→1) y al final de la etapa a presión atmosférica (1→2).....180

Figura IV.3.3. IV de endibia. Relación entre deformación e impregnación para las muestras de endibia impregnadas con disolución isotónica de sacarosa, dispersión de AGS 5 o AGS 30, al final de la etapa de vacío (0→1) y al final de la etapa a presión atmosférica (1→2).....184

Figura IV.3.4. Relación entre deformación e impregnación para las muestras de brócoli impregnadas con disolución isotónica de sacarosa, dispersión de AGS 5 o AGS 30, al final de la etapa de vacío (0→1) y al final de la etapa a presión atmosférica (1→2).....188

Figura IV.3.5. Tejido fresco de zanahoria, se observan células parenquimáticas compactas, no se observan espacios intercelulares.....189

Figura IV.3.6. Relación entre deformación e impregnación para las muestras de brócoli, coliflor, endibia y zanahoria impregnadas con disolución isotónica de sacarosa, al final de la etapa de vacío (0→1) y al final de la etapa a presión atmosférica (1→2).....193

Figura IV.3.7. Relación entre deformación e impregnación para las muestras de brócoli, coliflor, endibia y zanahoria impregnadas con dispersión de AGS 5, al final de la etapa de vacío (0→1) y al final de la etapa a presión atmosférica (1→2).....194

Figura IV.3.8. Relación entre deformación e impregnación para las muestras de brócoli, coliflor, endibia y zanahoria impregnadas con dispersión de AGS 30, al final de la etapa de vacío (0→1) y al final de la etapa a presión atmosférica (1→2).....196

Figura IV.3.9. TR CO₂ para brócoli (B), coliflor (C), endibia (E) y zanahoria (Z), para las muestras frescas (F) e impregnadas con disolución

isotónicas de sacarosa (IV s) e impregnadas con dispersión de AGS 5 y 30 (IV AGS 5 e IV AGS 30, respectivamente). Superior ensayo realizado a 5 °C e inferior a 20 °C.....	198
Figura IV.3.10. CR para brócoli (B), coliflor (C), endibia (E) y zanahoria (Z), para las muestras frescas (F) e impregnadas con disolución isotónicas de sacarosa (IV s) e impregnadas con dispersión de AGS 5 y 30 (IV AGS 5 e IV AGS 30, respectivamente). Superior ensayo realizado a 5 °C e inferior a 20 °C.....	199
Figura IV.3.11. Tejido de brócoli fresco (izquierda) se observan las células parenquimáticas (cp) esponjosas con paredes celulares diferenciadas y vasos leñosos (vl) vacíos. A la derecha, se observa el tejido impregnado con dispersión de AGS 5, la conformación interna más compacta y la pared celular engrosada.	202

I. INTRODUCCIÓN

Que la comida sea tu alimento y el alimento tu medicina

Hipócrates

1. Antecedentes.

Actualmente la relación alimento-salud marca la tendencia evolutiva de la industria alimentaria y de los consumidores. El concepto clásico de "nutrición", es decir, la obtención de nutrientes (hidratos de carbono, proteínas, grasas, vitaminas y minerales) para satisfacer las necesidades orgánicas a través de los alimentos, tiende a ser sustituido por el de "nutrición óptima", que además de la definición anterior, incluye la potencialidad de los alimentos para mantener una buena salud, extender los años de vida, disminuir alergias y reducir el riesgo de desarrollar enfermedades(González-Gross *et al.*, 2003; Silveira *et al.*, 2003).

Alimentos convencionales que al ser incluidos en la dieta pueden aportar un beneficio para la salud más allá de la nutrición básica; destacando su rol en la prevención, como resumió con acierto Cervantes: La salud de todo el cuerpo se fragua en la oficina del estómago.

Parece un reclamo vigente, aunque su origen data de hace miles de años. En las culturas indígenas y orientales, las propiedades medicinales de los alimentos han sido una filosofía transmitida de generación en generación, en torno a la tradición y a la naturaleza.

Datos históricos demuestran que en el antiguo Egipto los alimentos eran la base de la farmacopea, figuran con finalidades curativas la miel, cerveza, aceites y grasas entre otros (Reixach *et al.*, 2005). La Grecia antigua aporta a la dietética estudios como el de Hipócrates que en su Diatía de la Colección Hipocrática, analiza la dieta, en su sentido más general y propio, es decir, el régimen de vida, abarca lo que luego se ha

llamado "medicina preventiva", que atiende a conservar la salud y evitar las dolencias(García-Gual, 1999).

Los Romanos, herederos de la medicina griega y egipcia, otorgaban claro valor a la relación alimento-salud; En el tratado De arte medica de Cornelio Celso, siglo I, se describen los alimentos por grupos genéricos de más a menos nutritivos, recomendando su ingestión según edad, sexo y estado de cansancio. Un siglo más tarde Galeno, considerado uno de los grandes médicos de la época romana, estudió y valoró los alimentos como fuente de salud en su obra De Regimini Sanitatis (Bàguena, 2005).

Un avance importante, en relación a alimentos saludables, se vivió en el año 1857, cuando Luis Pasteur descubrió las bacterias lácticas, comenzando la historia de los probióticos. A principios del siglo XX, cuando Elie Metchnikoff, empleó los fermentos lácticos en terapéutica para modificar la fermentación pútrida en el intestino, se afianzó su rol funcional.

A mediados del siglo XIX, Boussingault, un médico francés, descubrió que en Ecuador de algunas salinas andinas se obtenía sal rica en yodo y ello explicaba la ausencia de bocio en aquellas zonas (Vila-Ballester, 2005). En esta línea, el proceso de yoduración de la sal se empleó por primera vez en Suiza en 1922 y fue introducida en los Estados Unidos en la misma década.

Las enfermedades de deficiencia nutricional dieron paso a la aparición de los alimentos enriquecidos, entre ellos, fortificación de las harinas de cereales que tiene su origen en los esfuerzos de controlar el beri-beri, riboflavinosis y pelagra en el sur de los Estados Unidos durante la gran depresión económica de 1930.

La oferta de nuevos alimentos que reportan algún beneficio para la salud aparece por primera vez en la década de los años 60's. Desde entonces con la aparición en el mercado de alimentos especiales diseñados para ser incluidos en dietas destinados a determinados sectores de la población, como los enriquecidos con nutrientes esenciales o de bajo o nulo contenido en energía, colesterol, sodio etc. (Mataix y Pérez, 2009).

Sin embargo, fue en la década de los 80, cuando se produjo el verdadero auge de los alimentos funcionales, motivado por los avances científicos-tecnológicos y por las expectativas de los consumidores de mejorar su calidad de vida, lo que produjo un aumento en la demanda de alimentos funcionales.

2. Alimentos funcionales.

Se encuentran en la literatura una gran variedad de términos, que en muchos casos resultan ambiguos para referirse a este tipo de productos. Así se habla de alimentos funcionales y alimentos de diseño, haciendo referencia a alimentos funcionales que han sido diseñados de una forma específica y a este respecto se consideran como únicos.

Cuando se utilizan los términos alimentos médicos, alimentos enriquecidos y farmalimentos se destaca las características intermedias entre alimentos y medicamentos de este tipo de productos.

Todos estos conceptos se utilizan para referirse a alimentos con una apariencia similar a la de un alimento convencional.

En cambio, al usar la denominación nutracéutico se hace referencia a productos obtenidos a partir de alimentos pero vendidos en forma de pastillas, grageas, polvos u otra forma similar a un medicamento, y que por tanto no se les relaciona con un alimento.

Para unificar la terminología respecto a este grupo bien definido de alimentos, diremos que engloba a todos aquellos alimentos o componentes alimentarios que poseen propiedades beneficiosas para la salud, más allá de las atribuidas a los nutrientes esenciales que contienen.

La ciencia de los alimentos funcionales se basa en la forma en que los nutrientes específicos y los componentes alimentarios afectan positivamente a las funciones selectivas (respuestas biológicas) del organismo. Pueden ser incluidos en la dieta habitual, pero están especialmente desarrollados para aquellos grupos de población con necesidades nutricionales especiales:

- Crecimiento y desarrollo en la primera infancia.
- Regulación de los procesos metabólicos básicos.
- Defensa contra el estrés oxidativo.
- Fisiología cardiovascular.
- Fisiología gastrointestinal.
- Rendimiento cognitivo y mental, incluidos el estado de ánimo y la rapidez de reacción.
- Rendimiento y mejora del estado físico.

La preocupación por la salud, por mejorarla o por no perderla, es un hecho positivo que caracteriza en términos generales a la sociedad actual y esto explica que exista una gran sensibilidad hacia la relación entre alimentación y bienestar, lo que implica una buena receptividad hacia los mensajes que promocionan la salud a través de los alimentos, como se observa en la figura I.1.



Figura I. 1. Razones para el consumo de alimentos funcionales. (Fernández y Pitaluba, 2004)

2.1. Contexto internacional

El concepto "alimento funcional" surge como tal en Japón en la década de los 80; como una necesidad para reducir el elevado gasto en sanidad, derivado del envejecimiento de la población mediante una política de "buena nutrición" (Mark-Hebert, 2004).

Actualmente los alimentos funcionales están regulados bajo normativa específica conocida como "Alimentos para uso específico de salud"

("FOSHU" Foods for specified health use) y cumplen con las condiciones de higiene y seguridad (Arai, 1996; Burke, 1995; Kawazoe, 1994).

En Norteamérica, los alimentos funcionales surgieron de la necesidad de compensar la mala nutrición que conforma su dieta, rica en grasas saturadas y pobre en vitaminas y fibra, además de los cambios demográficos como el envejecimiento progresivo de la población (Haastrecht, 1994).

La academia Nacional de Ciencias de Estados Unidos, ha definido los alimentos funcionales como: "alimentos modificados, o que tengan un ingrediente que demuestre una acción que incremente el bienestar del individuo o disminuya los riesgos de enfermedades, más allá de la función tradicional de los nutrientes que contiene" (Thomas y Earl, 1994).

Hoy en día existe una mayor preocupación por los productos que aumentan el nivel de salud y la calidad de vida; las exigencias de los consumidores como el deseo que los alimentos le proporcionen placer, bienestar, beneficios saludables y ausencia de enfermedades, además de satisfacer las necesidades básicas y energéticas; y como consecuencia de los cambios sociales (reducción del tiempo de convivencia en la estructura familiar, más vida social y laboral), demandando productos seguros y equilibrados que desarrollen efectos favorables en la salud y la nutrición.

En la Comunidad Europea fue a mediados de la década de los ochenta cuando tuvo lugar la creación de un proyecto relativo a los alimentos funcionales por un grupo de expertos coordinado por el *International Life Sciences Institute* (ILSI), que se considera un alimento como funcional "si contiene un componente alimenticio (sea o no un

nutriente) con efecto selectivo sobre una o varias funciones del organismo, cuyos efectos positivos justifican que pueda reivindicarse que es funcional (fisiológico) o incluso saludable” (ILSI, 1999).

Y reconoce diferentes áreas de aplicación de los alimentos funcionales: crecimiento y desarrollo, metabolismo y utilización de sustancias, defensa antioxidante, prevención y tratamiento de enfermedades o factores de riesgo cardiovascular, fisiología o función del tracto gastrointestinal, comportamiento y funciones psicológicas (Ashwell, 2002; Gardner, 1994; ILSI, 1999).

En España, se considera a los alimentos funcionales como elementos susceptibles de mejorar la salud, valorándolos como beneficiosos y como complemento saludable a una dieta apropiada y un estilo de vida activo. La legislación obliga a que el envase contenga el etiquetado nutricional, indicando el aporte real del componente que se haya añadido al producto.

2.2. El mercado de los funcionales.

Medio siglo después que los primeros alimentos funcionales comenzaron a distribuirse en el contexto de los programas internacionales que buscaban combatir la desnutrición en África y Sudamérica, iniciaron su conversión hacia una industria floreciente.

Los alimentos funcionales en el mercado japonés, que los consume desde los años 70, representan más de \$ 16 millones, y crece a un ritmo de 12 por ciento al año durante los últimos 10 años. El elevado consumo y la rentabilidad generada han convertido el mercado de los alimentos

funcionales en una de las industrias de este tipo más avanzadas del mundo (Yamaguchi, 2007; Ringel *et al.*, 1999).

En Canadá y Estados Unidos, llegan ya al 40% de la población. En tanto, El mercado europeo de alimentos funcionales incluye un inventario de 102 alimentos funcionales registrados en nueve países europeos, y especula con una facturación anual que superaría el millar de millones de euros. De las 114 propiedades anunciadas en los productos, el 37% se refería a la salud intestinal, 26% al control del colesterol y el 23% a la resistencia a enfermedades y al sistema inmunológico (SERNAC, 2004).

Se estima que el mercado mundial para los alimentos funcionales, en el año 2000, fue de unos USD 17 mil millones, de los cuales USD 3 mil millones correspondieron al mercado europeo, USD 9 mil millones al mercado norteamericano y USD 5 mil millones al mercado japonés. De manera optimista, se anticipa un mercado creciente para el futuro (USD 100 mil millones a nivel mundial, contribuyendo Europa Occidental con alrededor de USD 30 mil millones) (Shahidi, 2009; Hickling, 1997; Proops, 1997).

Para el año 2010 la estimación global del mercado de alimentos funcionales indica cifras cercanas a los USD 50 mil, previsión realizada en el año 2000 (Heller, 2001).

2.3. Métodos más comunes para la obtención de alimentos funcionales.

Entre las tecnologías más frecuentemente utilizadas en el desarrollo de alimentos funcionales cabe citar las siguientes:

Ingeniería Genética

El desarrollo biotecnológico ha permitido obtener productos con cambios perdurables en el tiempo y de características especiales a partir de modificaciones genéticas. Arroz con β -catoteno y un mayor contenido en hierro (Burkhardt et al., 1997; Xudong et al., 2000), soja rica en ácido oleico y pobre en ácidos grasos saturados (Banks et al., 1990) y cambios en el valor nutricional de la patata (Prescha et al., 2003) son ejemplos de estos productos.

Técnicas de cultivo y cría

Modificaciones en las técnicas de cultivos vegetales y cría de animales pueden generar mejoras en los productos finales. Por ejemplo, huevos enriquecidos con ácidos grasos omega-3 (Mayo et al., 1995; Ogasashara, et al., 1992; Oh et al., 1991), leche y carne de vaca enriquecidas con ácido linoléico (Dhirman et al., 1999).

Incorporación a granel

Es ésta la tecnología más utilizada en los programas de fortificación y enriquecimiento. En general, implica la obtención de una mezcla homogénea que contiene los compuestos con actividad fisiológica (CAF) a adicionar en las cantidades deseadas. Las cantidades agregadas dependerán en gran medida de la fase del procesamiento seleccionada para la adición, pues siempre se deberán tomar en consideración todos aquellos factores de industrialización capaces de causar pérdidas de los nutrientes incorporados, tales como tratamientos térmicos, operaciones

mecánicas, procesos de enfriamiento que reduzcan la disolución de la premezcla en el producto, etc. Además del procesamiento, las condiciones de transporte y almacenamiento también influirán sobre la estabilidad de los CAF y, por tanto, estas pérdidas deberán ser tenidas en cuenta en la determinación de la proporción de CFA a adicionar.

Los alimentos formulados más comercializados siguiendo el método de mezclado son el azúcar, las harinas, los productos lácteos, los aceites vegetales, la margarina, las bebidas y los alimentos líquidos. El proceso tradicional de fabricación se mantiene, pero la composición de los alimentos cambia al incorporar los CFA. Esta tecnología no resulta adecuada para la fabricación de alimentos funcionales que deban mantener su estructura natural (como los alimentos con estructura celular).

Ingeniería de Matrices

La ingeniería de matrices, se puede definir (Fito *et al.*, 1999) como una parte de la ingeniería de alimentos que utiliza los conocimientos sobre composición, estructura y propiedades de la matriz estructural de un alimento para producir y controlar cambios que mejoren sus propiedades funcionales y/o sensoriales (Betoret, 2002; Gras, 2001). Algunos ejemplos de operaciones de la ingeniería de matrices aplicadas al desarrollo de productos formulados son la tecnología de los coloides (alimentos gelificados y emulsionados), la extrusión, la fritura, el horneado, etc.

Dentro de la ingeniería de matrices, las técnicas de impregnación a vacío permiten utilizar la matriz sólida estructural de los alimentos naturales de tanto origen vegetal como animal, de naturaleza viscoelástica, más o menos compacta, y responsable de muchas de las propiedades físicas y

químicas del producto, ya que esta estructura es susceptible de ser utilizada como soporte de componentes con actividad fisiológica, de forma independiente y adicional al valor de la materia prima como nutriente, manteniendo sus características naturales, su propia estructura celular, y dando lugar a los llamados alimentos funcionales frescos (*Fito et al.*, 2001b).

A nivel de investigación, desde hace unos años, en el Departamento de Tecnología de Alimentos de la Universidad Politécnica de Valencia, la técnica de la impregnación a vacío (IV) ha sido aplicada para introducir componentes fisiológicamente activos en la estructura porosa de diferentes frutas y hortalizas, provocando cambios que llegan a ser muy positivos, pudiendo mejorar la composición del producto, y sus propiedades físico-químicas y sensoriales (*Fito et al.*, 2001a y b).

3. Elaboración de hortalizas enriquecidas mediante impregnación a vacío.

3.1. Impregnación a vacío.

Las técnicas de impregnación al vacío (IV), como una de las operaciones de la ingeniería de matrices, utilizadas en la fabricación de alimentos funcionales frescos se han estudiado en:

En el desarrollo de alimentos funcionales a partir de alimentos estructurados como son las frutas y los vegetales se ha logrado combinar con éxito el contenido de fitoquímicos, presentes en estos, con

componentes con actividad fisiológica por medio de la Impregnación a vacío (Gras *et al.*, 2003; Gras *et al.*, 2002; Gras, 2001; Fito, *et al.*, 1999).

Esta técnica ha resultado ser muy versátil, haciendo posible el desarrollo de numerosos alimentos funcionales con sustancias diversas. (Betoret *et al.*, 2003; Gras, *et al.*, 2003; Betoret, 2002; Gras, *et al.*, 2002). Se ha utilizado con éxito en diversos procesos alimentarios: salado de jamones (Grau, 2002), curado de quesos (Pavia *et al.*, 1999) y otras aplicaciones (Fito *et al.*, 2001a).

La operación de impregnación a vacío utiliza los poros y/o espacios intercelulares que poseen los alimentos en general y en mayor grado los vegetales que poseen estructuras altamente compartimentadas. Dichos espacios, del interior de las matrices alimentarias, pueden estar llenos de gases o de líquidos extracelulares, que pueden ser eliminados de las estructuras mediante la aplicación de presiones negativas de vacío dejando ese espacio libre. Si el alimento se encuentra sumergido en un medio líquido en el momento en que se restaura la presión atmosférica, ésta actúa como fuerza impulsora produciendo la entrada de la disolución en la matriz ocupando el espacio disponible dejado por los gases y/o líquidos removidos.

Basándose en la estructura porosa de algunos alimentos y en la existencia de gas ocluido en ésta, Fito *et al.* (1994), explicaron el mecanismo que se produce en la impregnación a vacío (IV) y que denominaron Mecanismo Hidrodinámico y los fenómenos de deformaciones y relajaciones que lo acompañan cuando se producen en la estructura viscoelástica (HDM-DRP)(Fito *et al.*, 1996).

Al someter al producto, inmerso en un líquido (A-B), a presiones sub-atmosféricas, este gas sufre en primer lugar una expansión para equilibrarse con la presión impuesta al sistema, lo que implica por una parte un nivel de desgasificación de la estructura porosa del alimento, función de la presión aplicada (C), y por otra, una penetración de líquido por capilaridad una vez alcanzado el equilibrio de presiones en el sistema (D) (figura I.2).

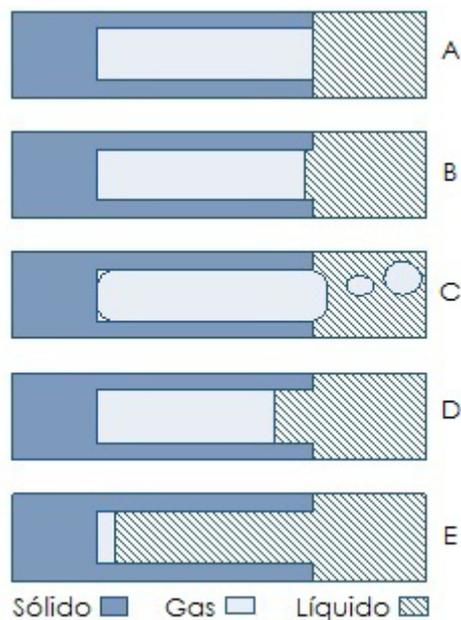


Figura I. 2. Mecanismo hidrodinámico en un poro ideal.

En segundo lugar, la restauración de la presión atmosférica provoca un nuevo gradiente de presiones que va a actuar como fuerza impulsora y que hará que los espacios intercelulares se llenen parcialmente de líquido (E). La cantidad de líquido que impregne la estructura, dependerá del nivel de desgasificación, y por tanto de la presión de trabajo. Esta penetración de líquido, producida por gradientes de presión, que actúan como fuerzas impulsoras, es reversible y está controlada por la compresión

o expansión del gas ocluido en los espacios intercelulares. Los citados autores no sólo explican el procedimiento del mecanismo hidrodinámico (HDM), sino que proponen un modelo matemático que permite cuantificar los cambios inducidos en el alimento (Fito y Pastor, 1994).

En el proceso de impregnación a vacío se produce una transferencia de materia desde y hacia la matriz porosa que es sujeto de la impregnación, básicamente un intercambio de materia del alimento con el entorno y la disolución de impregnación que se ve reflejado en ganancias y pérdidas de peso (Fito *et al.*, 2001b).

3.2. Matrices vegetales

Las características estructurales de los tejidos vegetales juegan un papel importante en la operación de impregnación a vacío de hortalizas. Son responsables de las propiedades mecánicas de los tejidos, directamente relacionadas con las deformaciones producidas durante la IV y además condicionan los caminos a seguir en los procesos de transferencia de materia (Gras, 2001).

En el caso de las frutas las estructuras vegetales que se consumen son anatómicamente frutos, mientras que el caso de las partes de las hortalizas consumidas presentan una mayor variedad: hojas (endibia), inflorescencias (brócoli y coliflor), raíz (zanahoria), además de frutos.

Así pues en este tipo de vegetales encontraremos distintos tipos de tejidos que se agrupan en sistemas. Estos sistemas se distribuyen de manera característica según el órgano y según el grupo de plantas a la que pertenezca dicho órgano. Los sistemas son los siguientes:

a. El sistema de protección formado por epidermis y peridermis se sitúa en la parte superficial de los órganos.

b. El sistema fundamental formado por parénquima y por los tejidos de sostén se dispone debajo del sistema dérmico y se extiende hasta la médula.

El tejido vegetal parenquimático está formado por células que se encuentran empaquetadas de forma más o menos compacta, según la especie de que se trate. Entre ellas existen numerosos espacios intercelulares, que pueden estar vacíos o llenos de líquido nativo.

Las células parenquimáticas se caracterizan por (Raven *et al.*, 1992):

- Tener una pared celular delgada (normalmente primaria) y rara vez lignificada, sin pared secundaria.
- Tener una membrana plasmática, también llamada plasmalema, de naturaleza semipermeable, que engloba a los orgánulos celulares.
- Estar bastante vacuolizadas o tener una gran vacuola.
- Presentar un bajo nivel de diferenciación.
- Ser células vivas, capaces de dividirse, e implicadas en actividades que dependen del protoplasto vivo: fotosíntesis, almacenamiento de reservas, secreción, movimiento del agua, y transporte de nutrientes por la planta.

c. El sistema vascular formado por los tejidos conductores xilema y floema se dispone entre el córtex y la médula.

El xilema y el floema son tejidos vasculares especializados en la conducción de agua y sustancias inorgánicas y orgánicas. El xilema conduce grandes cantidades de agua y algunos compuestos inorgánicos y orgánicos desde la raíz a las hojas, mientras que el floema conduce sustancias orgánicas producidas en los lugares de síntesis, fundamentalmente en las hojas, y los de almacenamiento al resto de la planta.

3.2.1. Pared celular en vegetales superiores.

La naturaleza y estructura de las paredes celulares también puede intervenir de forma importante en la operación de IV pues condicionan los fenómenos de deformación y relajación asociados (Gras, 2001).

La pared celular es un elemento estructural característico de la célula vegetal, es una estructura rígida con funciones de protección y sostén mecánico de la célula. Se encuentra en el exterior de la membrana plasmática, y está formada por 25-30 % de celulosa, 15-25 % de hemicelulosa, 35 % de pectina y 5-10 % de proteínas (extensinas y lectinas), en base al peso seco. La constitución molecular y estructural precisa de la pared celular, depende del tipo de célula, tejido y especie vegetal (Macarulla y Goñi, 1994).

Una pared celular primaria típica, Está constituida por tres capas, cada una con distinta composición y características:

- **Lámina media:** es la capa más externa y es común a las dos células adyacentes. Es delgada y flexible, y está compuesta principalmente por sustancias pécticas. Se encarga de mantener unidas las distintas células en los tejidos vegetales.
- **Pared primaria:** capa relativamente delgada y semirrígida, típica de las células jóvenes, recién divididas (plantas en crecimiento). Está formada por una red de celulosa y xiloglucano, embebida en una matriz pectica. En esta red, la celulosa se encuentra formando microfibrillas de muchos cientos de macromoléculas presentan una estructura cristalina y paracristalina densamente empaquetadas por carbohidratos no fibrilares a los que se denomina genéricamente hemicelulosa (compuesta principalmente por xiloglicanos y glucuronarabinoxilanos).

El tercer componente se refiere a proteínas estructurales. Estas proteínas son ricas en uno o dos aminoácidos, tienen dominios con secuencias repetidas y están glicosiladas en mayor o menor grado. Para la mayoría de las proteínas estructurales de la pared vegetal, se ha propuesto que tienen estructura fibrilar y que se inmovilizan mediante enlace covalente entre ellas o con carbohidratos. Estas proteínas se acumulan en la pared en diferentes etapas del desarrollo y en respuesta a diferentes condiciones. Determinando la forma final de la pared celular.

Se consideran proteínas estructurales de la pared celular vegetal la extensinas o proteínas ricas en hidroxiprolina, las

proteínas ricas en prolina y las proteínas ricas en glicina y arabinogalactanas.

- **Pared secundaria:** se forma cuando la expansión celular se detiene, es una capa muy gruesa formada por varias subcapas de celulosa, en cada una de las cuales las fibras de celulosa se disponen con distinta orientación, lo cual le da a la pared una gran rigidez y resistencia.

4. Hortalizas estudiadas

Las hortalizas son un grupo de enorme interés que aportan resultados beneficiosos al incluirlos en la dieta diaria; su riqueza en vitaminas, elementos minerales y fibra hace que su consumo sea imprescindible para conseguir una alimentación sana y equilibrada (Torija, 2007).

Para efectos de este estudio se agruparan las hortalizas según el siguiente orden: inflorescencias (brócoli y coliflor), hojas (endibia) y raíz (zanahoria).

4.1. Brócoli y Coliflor

El brócoli (*B. oleracea* var. *itálica*) y coliflor (*B. oleracea* var. *botrytis*) son diferentes variedades botánicas de la misma especie (*Brassica oleracea*), planta anual, de la familia Brassicaceae, que se reproduce por semillas. Pertenecen a la familia de las Crucíferas, que engloba a más de 300 géneros y unas 3.000 especies propias de regiones templadas o frías del hemisferio norte.

Esta variedad ha sido cultivada durante cientos de años, y en un amplio rango de cultivos incluso repollo, brócoli, coliflor y otras plantas reconocibles dentro de la misma especie (Anthos, 2010).

Es nativa de la costa del sur y del oeste de Europa. Tiene su cultivo una tolerancia buena a los suelos con alto contenido de sal y yeso pero posee una intolerancia a otros entornos que le hace competir con otras plantas en inferiores condiciones.

Planta que forma una especie de roseta de hojas, las hojas de esta variedad son siempre carnosas y tienen proteínas capaces de hacerles almacenar agua y nutrientes (Tjeertes, 2004).

La parte comestible del coliflor es la inflorescencia (llamada "pella" o "cabeza") que es de color blanco, compacta esférica, formada por pedicelos y botones florales apelmazada y en el brócoli se consume las yemas florales, el tallo y alguna porción de las hojas.

Éstas hortalizas con alto contenido de fibra dietaria, folato, agua y vitamina C y bajo contenido calórico (25 – 35 Kcal/100g). Numerosos estudios han demostrado una asociación inversa entre el riesgo de cáncer y el consumo de ciertos componentes presentes en los alimentos (carotenoides, ditioiones, indoles, flavonoides, saponinas, sulfuros alílicos, etc.). Éstos estimulan las oxidasas de función mixta en el hígado, que tienen un rol en la eliminación de sustancias cancerígenas (Smith-Warner *et al.*, 2003).

Los principales componentes de 100g de porción comestible de brócoli y coliflor se presentan en la tabla I.1.

Tabla I. 1. Composición química de 100 g de parte comestible de brócoli y coliflor.

Componente	Contenido		Unidad
	Brócoli	Coliflor	
Agua	89,30	92,07	%
Carbohidratos	6,64	4,97	g
Fibra	2,60	2,00	g
Proteínas	2,82	1,92	g
Lípidos	0,37	0,28	g
Calcio	47,00	22,00	mg
Fósforo	66,00	44,00	mg
Magnesio	21,00	15,00	mg
Potasio	316,00	299,00	mg
Sodio	33,00	30,00	mg
Selenio	2,50	1,00	µg
Zinc	0,41	0,27	mg
Vitamina C	89,20	48,20	mg
Folatos	63,00	57,00	µg
Vitamina A	623,00	-	IU
Vitamina E (α tocoferol)	0,78	0,08	mg
Vitamina K (filoquinona)	101,60	15,50	µg
Valor energético	34,00	25,00	Cal

(USDA Nutrient Database, 2009)

Verduras procedentes de las regiones del Mediterráneo oriental, en concreto del cercano oriente (Asia Menor, Líbano y Siria). Los romanos fueron los primeros en cultivarlas. Desde Italia se extendió al Mediterráneo, gracias a las relaciones comerciales que tuvieron lugar en aquella época. Fue en el siglo XVI cuando su cultivo llegó a Francia e Inglaterra. En el XVII

ya se cultivaban en la mayor parte de Europa y no fue hasta el siglo XVIII cuando llegó a España.

En la actualidad, China es el principal productor, en España la producción estimada fue de 443 mil toneladas. En la tabla I.2, se observa la producción mundial estimada para el año 2008 (FAO, 2010).

Tabla I. 2. Producción de brócoli y coliflor estimada año 2008, distribuida por continentes destacando mayor productor (toneladas/año).

Continente/Ton	País/Ton
África 277 854	Egipto 125 000
América 929 623	México 371 403
Asia 14 375 638	China 8 267 877
Europa 2 328 818	Italia 460 663
Oceanía 114 793	Australia 69 793

(FAO, 2010)

4.2. Endibia

La endibia (*Cichorium intybus* L. var. *foliosum*), es una planta herbácea bienal o perenne de la familia Asteraceae o Asteráceas, antes llamadas Compositae o Compuestas, que consta con más de 1000 géneros y 20.000 especies de las que muy pocas son cultivadas. Se incluyen muchos tipos de hortalizas de diversas especies: de hoja (achicoria, lechuga, endibia, escarola), de flor (alcachofa) o de tallo (cardo). La endibia es en realidad una variedad de la achicoria que se obtiene mediante un cultivo forzado o artificial.

Durante el primer año de crecimiento, la planta desarrolla una raíz pivotante profunda y produce una roseta de hojas en un tallo corto. Tras un período de exposición al frío, la planta desarrolla un meristemo floral. La producción comercial involucra la cosecha de la planta después de que haya llegado una etapa de madurez adecuado de la raíz, seguido por la inducción floral de la yema (almacenamiento en frío) y el desarrollo acelerado de las flores tallo y hojas basales que rodean en la oscuridad (Imposición) para evitar el color verde. El producto final es una pella o cogollo, una pequeña cabeza blanca de hojas con regiones amarillas, como se aprecia en la figura I.3.



Figura I. 3. Endibia parte comestible y raíz

La calidad de las endibias se desarrolla después de la cosecha. Esta evolución es sobre todo influenciada por el tiempo y condiciones de almacenamiento (Quenon y De Baerdemaeker, 2000).

El centro de origen de endibia corresponde a la región mediterránea de Europa y norte de África, aunque se han encontrado formas ancestrales creciendo en Afganistán y Siberia. Durante mucho tiempo fueron consumidas las formas silvestres, fue en el siglo XIX cuando adquirió sus características actuales. Esta variedad se denominó endibia de Bruselas o Witloof. Su aparición tuvo lugar de forma casual en Evere, un pueblo cercano a Bruselas. Un trabajador del jardín botánico de Bruselas observó que las raíces de achicoria que estaban cubiertas con tierra daban lugar a unos brotes muy tiernos y blancos. Desde entonces, Bruselas fue considerada como la cuna del cultivo de este vegetal, si bien en la actualidad, las endibias también se plantan en países como Francia y

Holanda y se extiendan hacia zonas templadas de todo el mundo (Eroski, 2009; Leteinturier *et al.*, 1999; Rubatzky y Yamaguchi, 1997).

La producción mundial en el año 2008 se estimó en 585 999 toneladas, como se observa en la tabla I.3. Los principales países productores son Bélgica y Francia, la producción en España se estimó en 7 300 toneladas (FAO, 2010).

Tabla I. 3. Producción de endibia estimada año 2008, distribuida por continentes destacando mayor productor (toneladas/año).

Continente/Ton	País/Ton
África	Sudáfrica
16 140	16 000
América	Puerto Rico
6 050	5 850
Asia	Filipinas
6 800	3 700
Europa	Bélgica
557 009	386 307
	Francia
	125 475
Oceanía	Australia
-	-

(FAO, 2010)

Las endibias están disponibles en el mercado durante todo el año, pero sobre todo en la época que va desde otoño hasta principios de verano.

En función del sistema de cultivo que se utilice pueden clasificarse en dos variedades:

- Endibias forzadas: durante los meses de invierno producen cogollos a partir de raíces que se mantienen en la oscuridad. Son compactas y de forma alargada. Dentro de este grupo se incluye: la endibia de Bruselas, la Normato, la Pax y la Witloof.
- Endibias no forzadas: se recolectan en los meses de otoño. No necesitan blanquearse. Dentro de ellas se pueden encontrar variedades como la endibia Sugar Loaf y la Cristal Head (Eroski, 2009; Leteinturier, et al., 1999).

Es una hortaliza de bajo aporte calórico, y no se destaca mayormente por su aporte nutritivo, como se aprecia en la tabla I.4. Se le reconocen propiedades diuréticas y depurativas, alto contenido de fibras (3,1 g/100g) y minerales, como potasio.

Tabla I. 4. Composición química de 100 g de parte comestible de endibia.

Componente	Contenido	
Agua	94,52	%
Carbohidratos	4,00	g
Fibra	3,10	g
Proteínas	0,90	g
Lípidos	0,10	g
Calcio	19,00	mg
Fósforo	26,00	mg
Magnesio	10,00	mg
Potasio	211,00	mg
Sodio	2,00	mg
Selenio	0,20	µg
Valor energético	17,00	cal

(USDA Nutrient Database, 2009)

4.3. Zanahoria

La zanahoria (*Daucus carota* L.), pertenece a la familia de las Umbelíferas, también denominadas Apiáceas, es una raíz vegetal, típicamente anaranjada, con una textura leñosa. La parte comestible de una zanahoria es un tubérculo (Van Der Vossen y Kahangi, 2004).

La zanahoria es originaria del centro asiático y del mediterráneo. Se cultiva desde hace unos dos mil años, siendo muy apreciada por determinadas clases sociales en la Grecia antigua. Las primeras raíces de zanahoria eran de color violáceo; el color actual procede de selecciones realizadas en Holanda alrededor de 1700, que consiguieron aumentar de

forma muy importante el contenido de carotenos, responsables del color naranja.

Es una hortaliza excelente desde el punto de vista nutricional rica en caroteno (fuente de vitamina A) y de alto contenido de fibra y azúcar, como se observa en la tabla I.5. Los carotenoides, como el β caroteno presente en la zanahoria, actúan como antioxidantes naturales neutralizando radicales libres y bloqueando reacciones que favorecen la carcinogénesis (Smith-Warner *et al.*, 2003).

Tabla I. 5. Composición química de 100g de parte comestible de zanahoria.

Componente	Contenido	
Agua	88,29	%
Carbohidratos	9,58	g
Fibra	2,80	g
Azúcar total	4,74	g
Proteínas	0,93	g
Lípidos	0,24	g
Calcio	33,00	mg
Fósforo	35,00	mg
Magnesio	0,143	mg
Potasio	320,00	mg
Sodio	69,00	mg
Selenio	0,10	μ g
Vitamina C	5,90	mg
Folatos	19,00	μ g
Vitamina A	16 706	IU
Vitamina E (α tocoferol)	0,66	μ g
Vitamina K (filoquinona)	13,20	μ g
Valor energético	41,00	cal

(USDA Nutrient Database, 2009)

Su cultivo ha experimentado un importante crecimiento en los últimos años, tanto en superficie, como en producción. Se trata de una de las hortalizas más producidas en el mundo, superó en el año 2008 los 27 millones de toneladas. Los principales países productores son China, Estados Unidos y la Federación Rusa. La producción estimada en España fue de 550 mil toneladas. La tabla I.6. recoge los datos de la producción mundial estimada en el año 2008 (FAO, 2010).

Tabla I. 6. Producción de zanahoria estimado año 2008, distribuida por continentes destacando mayor productor (toneladas/año).

Continente/Ton	País/Ton
África	Marruecos
1198628	280995
América	Estados Unidos
3368928	1481400
Asia	China
13756384	9292319
Europa	Federación Rusa
8725831	1990500
Oceanía	Australia
336764	271464

(FAO, 2010)

5. Aloe vera. Componente funcional incorporado a las matrices vegetales

Al considerar fortalecer alimentos, se debe pensar por ejemplo: las razones que influyen en los cambios de los hábitos alimentarios; la importancia de nutrientes específicos que ayudan a reducir el riesgo de ciertas enfermedades y los nuevos descubrimientos científicos que muestran el rol de los nutrientes para el mejoramiento de la salud.

En los últimos años los compuestos naturales han cobrado gran relevancia en áreas como la alimentaria, la cosmética o la farmacéutica. La composición de extractos vegetales en el aporte de nutrientes para mejorar el valor intrínseco de un alimento, se presenta como un elemento atractivo para la industria y los consumidores.

Existe una gran gama de compuestos con actividad fisiológica concentrada en forma de suplementos (píldoras, barras energéticas, dietas líquidas), sin embargo estas formulaciones no proporcionan la serie de ingredientes naturales que un alimento aporta (Betoret, 2002).

Entre estos compuestos naturales se encuentra el aloe vera que durante siglos fue utilizada por sus propiedades medicinales y terapéuticas sin ningún entendimiento claro o análisis científico de cada una de sus propiedades (Eshun y He, 2004).

El género *Aloe* posee a lo menos 400 especies, 26 de las cuales se usan medicinalmente. Se ha demostrado, científicamente, que son cuatro las especies que presentan mayores propiedades terapéuticas: *Aloe barbadensis* Miller, *Aloe perryi* Baker, *Aloe ferox* y *Aloe arborescens*. No

obstante, el *Aloe barbadensis* Miller es el más utilizado en la medicina curativa y el más popular en el mundo entero, llamado comúnmente *Aloe vera* (Ni et al., 2004; Urch, 1999; Atherton, 1998).

Se conoce como *la planta curativa o el curador silencioso* debido a su uso en medicina popular desde tiempos antiguos (1700 a. C.), a través de los años se ha difundido su aplicación debido a sus características beneficiosas sobre heridas y quemaduras, efectos antiinflamatorios e inmunomoduladores, antifúngicas, hipoglicémicas, gastroprotectoras, protector UV y antiprotzoario. Además disminuye niveles de colesterol y triglicéridos (Bozzi et al., 2007; He et al., 2005; Choi y Chung, 2003; Bunyapraphatsara et al., 1996; Davis et al., 1994).

5.1. Botánica



Figura I. 4. Clasificación botánica de Aloe vera (USDA, 2010).

El Aloe, es una planta perenne suculenta perteneciente a la familia *Aloaceae*, relacionada e incluida por algunos autores en la familia *Liliaceae* (MBG, 2010; IPNI, 2010; Eshun y He, 2004; Reynolds, 1985). Es

similar a un cacto, posee hojas turgentes, lanceoladas, con espinas en sus bordes dentados y de color verde brillante, dispuestas en forma de roseta, la figura 1.4 resume alguno de estos aspectos. En la naturaleza la planta puede ser dañada físicamente por la radiación ultravioleta o por los insectos. Crece en climas calientes y secos, se extiende a través de las regiones cálidas del mundo entero aunque se supone nativa del norte de África o de la región del río Nilo en Sudán (Bozzi *et al.*, 2007; Choi y Chung, 2003; Femenia *et al.*, 1999).

En las hojas de esta planta tropical o subtropical, se distinguen claramente dos partes: una gruesa epidermis (piel), la cual está protegida por una cutícula, y el mesófilo, ubicado en la parte interior y con características mucilaginosas (Ni, *et al.*, 200 ; Femenia *et al.*, 1999).

Cada hoja es una fuente importante de líquido, de la que se puede obtener: látex de aloe y gel de aloe. El látex (jugo de aloe o savia amarilla) es el exudado amarillo y amargo que se obtiene de la superficie interna de la piel de la hoja compuesto principalmente de hidroxiantraquinonas (aloina, aloemodina y fenoles) (Bozzi *et al.*, 2007; He *et al.*, 2005; Ni *et al.*, 2004; Saccu *et al.*, 2001; Gage, 1988).

El gel mucilaginoso, proveniente de las células parenquimáticas de la planta de aloe es la sustancia incolora semisólida de olor vegetal característico que está contenido en el interior de las hojas frescas, compuesto mayoritariamente de agua y mucopolisacaridos (Bozzi *et al.*, 2007; He *et al.*, 2005; Reynolds y Dweck, 1999; Gage, 1988).

5.2. Composición química.

La composición química del Aloe vera dependerá de la especie analizada, de la estacionalidad, de la edad de la planta y/o de la localización geográfica, pero en general, se puede destacar su gran contenido acuoso (>98%) y su aporte de hidratos de carbono (polisacáridos); es importante destacar la presencia de compuestos fenólicos presentes en el látex (Bozzi *et al.*, 2007; Park y Kwon, 2006; Park *et al.*, 1998; Okamura *et al.*, 1996; Yamaguchi *et al.*, 1993). Sin embargo gran parte de los reportes se refieren al mesófilo de la planta, ya que la composición de los tejidos de la piel son limitados (Femenia *et al.*, 1999).

Los polisacáridos representan cerca del 20 % del total de los sólidos totales del parénquima mucilaginoso de las hojas, demostrándose que aproximadamente 20 glicoproteínas asociadas con estos polisacáridos contribuyen a la actividad farmacológica del Aloe vera (Park y Kwon, 2006; Larionova *et al.*, 2004).

Se ha identificado una larga cadena de monosacáridos, específicamente manosas acetiladas y glucosa, que originan un mucopolisacárido soluble denominado acemanano, componente funcional de la pulpa del aloe (Bozzi *et al.*, 2007; Femenia *et al.*, 1999). El manano, presente en el gel líquido del aloe es base de sus propiedades viscoelásticas (Ni *et al.*, 2004).

Además contiene 17 de los 20 aminoácidos presentes en el organismo humano, siendo la Arginina el más abundante (Eshun y He, 2004; Vega *et al.*, 2005; Waller *et al.*, 1978).

Su contenido mineral resalta: Potasio, Calcio, Magnesio y Sodio. Aunque otros autores también mencionan: Cobre, Hierro, Manganeso, Cinc, Vanadio, Cromo y Germanio;(Prat y Ribó, 2006; Rajasekaran *et al.*, 2005; Vega, *et al.*, 2005; Bouchey y Gjerstad, 1969) siendo la presencia de este último de gran interés funcional, ya que el Germanio orgánico puede tener uso terapéutico (Asai, 1980).

Se destaca la presencia de Vitaminas como: A, C, E, B₁, B₃, B₂, colina y ácido fólico, entre ellas antioxidantes muy importantes. Algunos investigadores incluyen trazas de vitamina B₁₂, la cual se encuentra normalmente en fuentes animales (Barcroft y Myskja, 2003).

Respecto a las variaciones en la composición de aloe, los incrementos más significativos en los componentes, por ejemplo aloína, se encontraron en plantas de 2-3 años (Eshun y He, 2004).

5.3. Historia.

El primer uso farmacéutico del aloe se halla tallado en unas tablas de arcilla sumerias (1750 a. C.). Los egipcios también conocieron sus cualidades, las que dejaron grabadas en el tratado médico egipcio Papyrus Ebers y en el Libro Egipcio de los Remedios, ambos del año 1550 a.C. aproximadamente. En el siglo VI a.C. los comerciantes árabes lo extendieron como laxante por Persia, India, Tíbet y Malasia. En Grecia, Aristóteles escribió sobre los efectos medicinales beneficiosos del aloe. En el Siglo I d. C. Dioscórides en su Herbolario Griego opinó extensamente sobre el aloe y sus virtudes medicinales y cosméticas (figura 1.5), en *De Materia Médica*. Plinio el Viejo, hizo lo propio en su obra: *Historia Natural*.

Grandes exploradores, como Marco Polo y Cristóbal Colón, conocieron y usaron las propiedades curativas del *Aloe vera* (Barcroft y Myskja, 2003; Gage, 1988).

En la Biblia se hace referencia a esta planta (Nm 24:5-6, Sal 45:9, Ct 4:14, Pr 7:17, Jn 19: 39), y los monjes jesuitas españoles de los siglos XVI y XVII, reputados médicos y eruditos, llevaron la planta al Nuevo Mundo, difundiendo el conocimiento del *Aloe vera* en las distintas partes de América donde establecían sus misiones.



Figura I. 5. Ilustración del Codex de Dioscórides. Médico del ejército del emperador Nerón, año 512 dC.

Durante los siglos XVI y XVII se uso para tratar heridas y quemaduras en Estados Unidos, según United States Dispensatory and Physician's Pharmacology (Barcroft y Myskja, 2003; Gage, 1988).

Luego de un período de silencio se han emprendido, durante los últimos treinta años, en muchas partes del mundo programas dedicados a investigar las propiedades de esa planta en forma de cactus denominada Aloe vera.

5.4. Usos y aplicaciones.

Se han dedicado diversos ensayos para calificar y cuantificar científicamente los potenciales efectos beneficiosos del Aloe vera. En esta materia, se ha verificado que el gel de Aloe vera estimula el crecimiento fibroblástico (desarrollo de tejido conectivo) aumentando la fuerza extensible de la herida y el volumen colágeno perdido en el tejido herido. En la formación de nuevo tejido es fundamental la angiogénesis para proveer oxígeno y metabolitos al tejido. Después del tratamiento con gel de Aloe vera se observó un aumento en el suministro de sangre, lo cual sugiere que el incremento al acceso de oxígeno es uno de los factores realizados por el aloe (Eshun y He, 2004; Choi y Chung, 2003; Chithra *et al.*, 1998a, 1998b; Lee *et al.*, 1995; Burger *et al.*, 1994; Thompson, 1991; Davis *et al.*, 1989).

El Aloe vera contiene una carboxipeptidasa capaz de hidrolizar la bradiquinina ($C_{50}H_{73}N_{15}O_{11}$) en C-terminal (fin de la cadena de aminoácidos terminada por un grupo libre carboxilo -COOH), es esta enzima la que puede contener un agente antiinflamatorio (Fujita, 1993; Shimo *et al.*, 2002).

El efecto positivo del aloe sobre heridas, quemaduras, inflamación y prevención en la formación de cicatriz tiene su origen en la presencia de sustancias tales como: manosa-6-fosfato, azúcar importante en la planta y considerada sustancia de crecimiento activo; los aminoácidos que son la base para nuevas células; y las enzimas que promueven la regeneración de las capas internas de la piel (Davis *et al.*, 1989; Eshun y He, 2004).

Se aislaron dos polisacáridos hiperglicémicos del aloe (arborans A y B), los cuales muestran efectos positivos al mezclarlos con la alimentación y dado como suplementos dietéticos. En este contexto, se evaluó cinco fitoesteroles del gel de Aloe vera (lofenol, 24-metil-lofenol, cicloartanol, 24-etil-lofenol, y 24-metilen-cicloartanol) por su efecto antihiperglicémico en diabetes mellitus tipo 2, concluyéndose que podían ser compuestos útiles para su tratamiento o agentes preventivos de la misma (Chow *et al.*, 2005; Tanaka *et al.*, 2006; Beppu *et al.*, 1993; Hikino *et al.*, 1986).

Un ensayo clínico controlado con placebo valoró los beneficios del aloe en personas diabéticas que no respondían positivamente a la glibenclamida, hipoglicemiante oral. Las personas que tomaron glibenclamida y aloe mostraron mejorías definitivas en los niveles de azúcar en la sangre después de 42 días en comparación con quienes tomaron glibenclamida y placebo (Bunyaphatsara *et al.*, 1996; Yongchaiyudha *et al.*, 1996).

La actividad hipoglicémica de algunas especies de aloe ha sido fuente de informes polémicos, probablemente debido a las diferencias en las partes de la planta usada o al modelo de diabetes elegido (Okyar *et al.*, 2001). Aunque varios investigadores demostraron la actividad hipoglicémica del A. vera, en algunos ensayos realizados su acción

disminuyó los niveles de azúcar en sangre, mientras que en otros su uso mejoró la acción de medicamentos específicos, por ejemplo glibenclamida. La actividad del aloe además ha servido para tratar quemaduras en pacientes diabéticos (Beppu *et al.*, 2006; Tanaka *et al.*, 2006; Okyar *et al.*, 2001; Chithra *et al.*, 1998c; Bunyapraphatsara *et al.*, 1996; Beppu *et al.*, 1993; Ajabnoor, 1990; Ghannam *et al.*, 1986; Hikino *et al.*, 1986).

Al introducir Aloe Vera y cáscara de semilla de psyllium (*Plantago ovata*) a la dieta, se observó una marcada reducción de colesterol total, triglicéridos, nivel de azúcar en sangre en los pacientes con diabetes, lípidos totales y también incremento en el colesterol HDL , además de una reducción en la frecuencia de ataques de angina en pacientes con aterosclerosis (Agarwal, 1985).

También se ha encontrado actividad antimicótica en el Aloe vera, específicamente contra *Aspergillus niger*, *Cladosporium herbarum* y *Fusarium monilliforme*, puesto que las antraquinonas presentes previenen infecciones y mejoran su tratamiento (Ali *et al.*, 1999; Choi y Chung, 2003).

Las propiedades inmunológicas y antivirales del acemanano tienen un efecto directo sobre el sistema inmune de la célula, activando y estimulando a: macrófagos, monocitos, anticuerpos y células T (linfocitos T). Las propiedades de este mucopolisacárido pueden ser la respuesta para un tratamiento de VIH-SIDA efectivo.(Pittman, 2010; Eshun y He, 2004; Anderson, 1983;) Las antraquinonas, como el aloemodina actúan sobre los virus impidiendo su adsorción y posterior replicación (Vega *et al.*, 2005).

El Aloe vera se ha usado en el tratamiento del cáncer, mostrando un efecto positivo sobre la inhibición del crecimiento del tumor (Im *et al.*, 2005; Eshun y He, 2004; Kumano, 1972)). Ensayos realizados en ratas, mostraron que los compuestos fenólicos tales como aloenina, barbaloina e isobarbaloina serían útiles como agentes quimopreventivos contra el desarrollo de tumores cancerosos (Akev *et al.*, 2007; Shimpo *et al.*, 2002).

En este sentido, se elaboró un compuesto inyectable de uso veterinario a partir de acemanano, el estudio sugiere que usado en combinación con cirugía o radioterapia puede cumplir un rol importante en la efectividad del tratamiento de fibrosarcoma. Sin embargo aún no ha sido aprobado para el uso en humanos y, aunque no es una droga, su venta es controlada (DVE, 2010; King *et al.*, 1995).

De un extracto metanólico de *A. barbadensis* Miller, se aisló un compuesto con actividad antioxidante similar a la del α -tocoferol. Este compuesto ha sido identificado como: 8-C- β -D-[2-O-(E)-coumaroyl] glucopiranosil-2-[2-hidroxi] propil-7-metoxi-5-metilcromona (Lee *et al.*, 2000).

El Aloe contiene abundante aloina, un derivado del C-glucósido de antraquinona. Informes recientes indican que el extracto acuoso de aloe realza el rango de oxidación del etanol, mientras que las quinonas, en general, tienen un rol funcional en producir la aceleración del metabolismo del etanol in vivo (Chung *et al.*, 1996).

El gel de aloe es único en su función de mejorar la absorción de las Vitaminas C y E y puede considerarse un elemento importante a incorporar por personas que consuman suplementos vitamínicos (Vinson *et al.*, 2005).

Se han publicado numerosos reportes sobre los usos del Aloe en investigación y medicina no tradicional, todos coinciden en que los diferentes compuestos presentes en el Aloe vera tienen funciones propias o sinérgicas.

5.5. Productos del aloe y su veracidad.

En esta materia es importante conocer el origen del producto de Aloe vera a utilizar ya que esto nos certifica su calidad y seguridad, además de la cantidad necesaria para que exista un efecto beneficioso sobre la salud.

Respecto a los formatos de Aloe vera disponibles, se puede adquirir como: extracto fluido, jugo, ungüento, extracto concentrado, etc. La calidad y eficacia del gel de Aloe vera dependerán del proceso de obtención, manteniendo bajo control los puntos críticos de seguridad (tratamiento térmico controlado, uso de aditivos antioxidantes, etc), y los puntos críticos de calidad (materia prima, optimización del proceso, control de temperaturas y almacenamiento) (He *et al.*, 2005).

Las materias primas suministradas como Aloe vera contienen a menudo diferencias en el peso molecular de sus componentes, una de las razones principales en la variabilidad de la composición de Aloe vera se debe a que son producidos por diferentes técnicas de fabricación, además el método de cuantificación y caracterización de estos materiales disponibles en el mercado no se ha acordado dentro de la industria (Ni *et al.*, 2004; Turner *et al.*, 2004).

Comprobar la legitimidad y calidad de los productos de Aloe vera comercial y así autentificar su rol beneficioso sobre la salud es un tema de

análisis en el último tiempo. Se ha observado, al momento de realizar estudios, variaciones importantes en la composición de productos clasificados como similares. En este sentido, la presencia de ácido láctico indica un alto grado de fermentación bacteriana; mientras que también puede existir degradación enzimática, así como adulterantes, impurezas o preservantes (Bozzi et al., 2007; Turner et al., 2004).

En general se debe considerar que un proceso que aplica calor por un tiempo prolongado tenderá a disminuir la calidad y eficacia del producto, aunque disminuya la posibilidad de contaminación bacteriana. El calor destruye los mucopolisacáridos (MPS) activos del aloe y por tanto las propiedades terapéuticas esperadas pueden ser inexistentes.

El número de polisacáridos (MPS) presentes es un indicativo de la capacidad terapéutica de aloe, ya que aumenta en cantidad e intensidad las células inmunes del organismo. El valor beneficioso más elevado se encuentra entre 10.000 y 20.000 MPS/ litro (Im et al., 2005; Eshun y He, 2004; Lawless y Allan, 2000).

Por tanto, el Aloe vera más eficaz es el derivado de hojas enteras y procesadas en frío.

Por lo anterior es importante el uso de materia prima en la que se garantice su calidad, así en este ámbito existe una entidad denominada International Aloe Science Council (IASC) con un programa internacional de certificación, nacido a principio de los años 80, en respuesta a la explotación en la declaración de uso de áloe en diferentes productos y materias primas. El sello de la certificación de IASC, figura 1.6, es un diseño único y de uso exclusivo administrado por el consejo. Este sello demuestra

que la compañía ha pasado una rigida auditoria e inspección profesional, y que la calidad, cantidad y pureza del aloe ha sido validada y certificada por un grupo independiente de profesionales.



Figura I. 6. Sello de certificación International Aloe Science Council (IASC).

5.6. Componente funcional

La demanda de productos naturales y de ellos el *Aloe vera*, es un hecho palpable y creciente en el mercado. Viene avalado por la historia, el conocimiento popular, la medicina no tradicional y desde hace algunos años por estudios científicos específicos sobre sus componentes y funciones.

Se han identificado más de 75 componentes en el *Aloe vera*, principalmente vitaminas, minerales, enzimas y amino ácidos, además de otras sustancias de interés para el organismo por su acción emoliente, cicatrizante, coagulante, hidratante, antialérgica, desinfectante, antiinflamatoria, astringente, colerética y laxante. Por tanto su rol como materia prima para la elaboración de alimentos funcionales y como fuente de productos químicos nutricionales para desarrollo y comercialización de

nuevos productos, queda en evidencia (Vega *et al.*, 2005; Choi y Chung 2003).

El potencial funcional del *Aloe vera* queda demostrado en la amplia literatura existente, con una importante evidencia científica de sus propiedades beneficiosas (Eshun y He, 2004).

Actualmente los métodos científicos mejorados y la tecnología, están comenzando a restaurar la reputación del *Aloe vera*. Existe un número significativo de artículos sobre el aloe, lo que indica interés y resultados exitosos, entre ellos, métodos de obtención de los diferentes compuestos, características de componentes aislados, relaciones sinérgicas entre componentes, beneficios comprobados y así mismo se insta a seguir investigando sobre muchas otras áreas de aplicación.

El *Aloe vera* dejó su rol de laxante comercializado por los árabes en el siglo VI a.C. muy atrás, a través de los años ha desvelado distintas características y cualidades que han abierto campos de investigación variados, entre ellos: comprensión de la composición y métodos de acción del gel, separación y extracción de componentes y descubrimiento de los beneficios de la hoja entera. El gel puro, "filete o pulpa" transparente contenido dentro de la hoja, basa sus evidencias en su aplicación histórica. El grupo de extractos aislados que va en busca de "proyectiles mágicos", es decir, una o más sustancias beneficiosas identificadas y contenidas en la planta, que va fortaleciendo una industria económicamente atractiva a través de patentes de proceso y/o farmacéuticas. Durante los últimos años, los científicos han descubierto otro notable arsenal de sustancias concentradas en la piel de la hoja, el uso de la hoja entera está agregando nuevas dimensiones a las características de esta planta.

Se han comprobado acciones diferentes de aloe sobre la salud, aunque el *Aloe vera* no es un medicamento, ya que no combate enfermedades en si mismo, pero da al organismo las condiciones de disponer de los mecanismos necesarios de optimización de funciones metabólicas, el concepto "director de orquesta", desarrollado por Robert Davis, define las relaciones que existen entre los componentes biológicamente activos del aloe, importante sinergismo que actúa en pro del bienestar del organismo.

La revisión de la literatura referida al aloe revela sus cualidades biológicas beneficiosas y su potencial como ingrediente funcional, cruzando la barrera que separa el mito de la evidencia científica.

5.7. Uso en alimentos

La forma principal de consumo de Aloe vera es como suplemento alimenticio, en forma de: jugos, bebidas, cápsulas y geles (refinados o diluidos). También es habitual el consumo en fresco o como ingrediente de preparaciones culinarias (ensaladas o productos de pastelería), incluso es un componente apetecible en la cocina de diseño.

En la producción industrial de alimentos se elabora como producto principal, encontrándose como conserva o congelado. Así también se ha incorporado como ingrediente en productos lácteos (yogur), caramelos, té, bebidas refrescantes e isotónicas, zumos, galletas, agua embotellada, etc.

Las propiedades beneficiosas aportadas por el aloe también han sido utilizadas para mantener la calidad de otros productos, por ejemplo como

recubrimiento para proteger la calidad de frutas (Martínez-Romero et al., 2006 a y b). En este ámbito, se destaca su poder antifúngico, obteniéndose un resultado exitoso en la mantención de uva de mesa, reportándose que la aplicación de gel de Aloe vera como tratamiento de precosecha inhibe el deterioro microbiológico y reduce el índice de descomposición durante la postcosecha (Castillo et al., 2010; Serrano et al., 2006; Valverde et al., 2005).

II. OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO

Comer verdura es cordura

1. Objetivos

1.1 . Objetivo general

El objetivo general de este trabajo es el "estudio de la viabilidad del desarrollo de alimentos funcionales frescos por incorporación de aloe vera a la matriz estructural de endibia (*Cichorium intybus* L. var. *foliosum*), brócoli (*B. oleracea* var. *Itálica*), coliflor (*B. oleracea* var. *Botrytis*) y zanahoria (*Daucus carota* L.) mediante la técnica de impregnación a vacío.", con el fin de desarrollar un producto funcional que incorpore las propiedades de los componentes del aloe, de amplia difusión estos últimos años.

Los tejidos de las hortalizas son más o menos complejos y diferenciados debido a sus diferentes funciones en la planta. La parte del brócoli y la coliflor que se consumen son las inflorescencias, la endibia es un conjunto de hojas unida a un tallo, y la zanahoria es una raíz. Se plantea evaluar las posibilidades de la estructura (matriz) de estas hortalizas para actuar como soporte para la incorporación, mediante la operación de impregnación a vacío (IV), de sustancias fisiológicamente activas presentes en dispersiones acuosas elaboradas con gel de gel de aloe vera en polvo.

Se plantea también el estudio de las posibles interacciones entre el producto incorporado y cada matriz vegetal analizando su eventual respuesta fisiológica a través de su tasa respiratoria.

1.2 . OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Determinar las características físicas químicas y microestructurales de las matrices vegetales a estudiar.
- Caracterizar físico químicamente los medios de IV y obtención de ecuaciones de predicción para los parámetros más relevantes respecto a IV.
- Estudiar la capacidad del material vegetal para la IV, analizando su comportamiento durante la operación de impregnación a vacío mediante la obtención de los parámetros característicos de los fenómenos HDM-DRP.
- Estudiar el efecto de la presencia de aloe en las disoluciones externas sobre la operación de IV.
- Poner a punto y comparar métodos analíticos de determinación del contenido en aloe vera de las hortalizas estudiadas.
- Estudiar el efecto de la IV con aloe sobre la actividad fisiológica de las hortalizas.
- Hacer una evaluación del nivel de aceptación sensorial de los productos obtenidos.

2. Plan de trabajo

2.1. Estudio y caracterización del material vegetal

- Revisiones bibliográficas.
- Caracterización fisicoquímica de las matrices vegetales: humedad, actividad del agua, pH, sólidos solubles, densidad y porosidad.
- Estudio del comportamiento de las matrices vegetales en estudio durante su impregnación a vacío con disoluciones acuosas de sacarosa, isotónicas con el material vegetal.
- Estudio de la influencia de la operación de impregnación a vacío sobre la respiración de las hortalizas.
- Estudio de las estructuras celulares de las matrices vegetales, mediante observación con técnicas de microscopía (Cryo-SEM).
- Análisis de los resultados obtenidos.

2.2. Estudio y caracterización de las dispersiones acuosas de gel de aloe vera

- Revisiones bibliográficas.
- Caracterización fisicoquímica de las dispersiones acuosas de gel de aloe vera: actividad del agua, pH, sólidos solubles, densidad.
- Modelización matemática de parámetros fisicoquímicos de las dispersiones de gel de Aloe vera en polvo.
- Análisis de los resultados obtenidos.

2.3. Estudio de la factibilidad del enriquecimiento de brócoli, coliflor, endibia y zanahoria con gel de aloe vera, presentes en una dispersión, en concentraciones de 5 y 30 g/L.

- Revisión bibliográfica.
- Diseño de experiencias para el estudio del comportamiento de las matrices vegetales durante la operación de IV con las dispersiones preparadas.
- Estudio de la influencia de la impregnación a vacío, con dispersión acuosa de gel de aloe vera, sobre la respiración del material vegetal en estudio.

- Puesta a punto y comparación de los métodos analíticos para cuantificar el aloe.
- Estimación de la concentración de gel de aloe vera en brócoli, coliflor, endibia y zanahoria impregnada, con AGS 5 y 30, determinada a partir de la cuantificación colorimétrica de polisacáridos de aloe mediante espectrofotometría.
- Estimación de la concentración de gel de aloe vera en brócoli, coliflor, endibia y zanahoria impregnada, con AGS 5 y 30, determinada a partir de la cuantificación de ácido L-málico mediante espectrofotometría ultravioleta.
- Estimación de la concentración de gel de aloe vera en brócoli, coliflor, endibia y zanahoria impregnada, con AGS 5 y 30, determinada a partir de la cuantificación por cromatografía iónica de ión Ca^{2+} .
- Estudio de las estructuras celulares de las matrices vegetales impregnadas, mediante técnicas de microscopía (Cryo-SEM).
- Análisis sensorial de preferencia sobre las características sensoriales de las muestras impregnadas con dispersión de AGS.
- Análisis de los resultados obtenidos.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

El bon aliment fa bo l'enteniment

1. Materiales

1.1. Matrices vegetales

El estudio se realizó con cuatro matrices vegetales: brócoli (*Brassica oleracea*) variedad *botrytis* L., coliflor (*Brassica oleracea*) variedad *itálica*, endibia (*Cichorium intybus* L.) variedad *foliosum* y zanahoria (*Daucus carota* L.) variedad *nantesa*. La materia prima se adquirió en el mercado local, procurando que fueran lo más homogéneas posibles en cuanto a tamaño, forma, y grado de frescura aparente.

Aunque existen estudios previos sobre la viabilidad de las hortalizas para el desarrollo de alimentos funcionales frescos, se consideró el análisis de diferentes tipos tejidos vegetales: inflorescencias, hoja y raíz. Para esto se seleccionaron matrices vegetales inéditas en este campo: brócoli, coliflor y endibia. Además se consideró la zanahoria, que cuenta con antecedentes comprobados como matriz apta para la IV, aportando además valores de referencia.

Para el estudio del efecto de la IV sobre el material vegetal se utilizó, en cada caso, el mismo procedimiento de selección y/o fraccionamiento de la muestra a tratar. Para las muestras de endibia se utilizaron hojas de la parte central de ésta, de 35 mm de ancho, 65 mm de altura y con un peso aproximado de 5 g. Para las muestras de brócoli y coliflor se consideraron inflorescencias de 45 mm de altura y con un peso aproximado de 4 y 6 g, respectivamente. Las muestras de zanahoria consideraron rodajas de ésta de 5 mm de espesor y con un peso aproximado de 3,5 g.

1.2. Disoluciones de impregnación

1.2.1. Disoluciones para el estudio de caracterización

Para lograr el comportamiento isotónico con el vegetal se prepararon disoluciones considerando la actividad de agua de cada vegetal. Las disoluciones se prepararon utilizando sacarosa comercial.

En la tabla III. 1, se muestran los valores medios (\pm error estándar) de algunas propiedades fisicoquímicas de las disoluciones utilizadas para la IV.

Tabla III. 1. Propiedades fisicoquímicas de las disoluciones de IV isotónicas con el material vegetal.

Parámetros	Sacarosa			
	Endibia	Coliflor	Brócoli	Zanahoria
Actividad de agua (a_w)	0,994 \pm 0,003	0,992 \pm 0,003	0,989 \pm 0,003	0,992 \pm 0,003
Densidad a 20°C ⁽¹⁾	1034 \pm 3	1042 \pm 2	1059 \pm 3	1052 \pm 3
Brix ⁽²⁾	8,52 \pm 0,08	9,9 \pm 0,1	11,3 \pm 0,3	11,92 \pm 0,05
pH	5,82 \pm 0,02	5,34 \pm 0,02	5,52 \pm 0,03	6,14 \pm 0,06
Viscosidad (cP) 20°C	1,30 \pm 0,02	1,33 \pm 0,02	1,39 \pm 0,02	1,39 \pm 0,02

(1)kg/m³; (2)porcentaje en peso

Gel de Aloe vera en polvo

Se utilizó un extracto seco y pulverizado de Aloe vera (*Aloe barbadensis*), exento de aloína y con una concentración total de sólidos de 92% y una humedad de 8%. El producto, denominado Aloe Gold Seal-Natural 200X (AGS), fue obtenido en TerryLabs (Melbourne, FL, USA), y está

recomendado para el uso en aplicaciones internas tales como bebidas nutraceuticas, suplementos herbales, cápsulas o tabletas y alimentos en general.

El Aloe Gold Seal Natural 200X en polvo (figura III.1), es un producto estándar en la industria del Aloe vera, que imita el contenido de polisacáridos presente en la hoja fresca de Aloe, garantizando que el producto contiene todo el espectro de polisacáridos declarados como beneficiosos.

Este producto es fabricado usando un proceso patentado, diseñado especialmente, que difiere de la liofilización. El proceso evita la descomposición de los polisacáridos de cadena larga en moléculas de cadena corta, generando un producto en polvo de Aloe vera concentrada, ideal para elaborar alimentos funcionales o nutraceuticos y para la industria farmacéutica.

El extracto de Aloe está constituido en un 100% de cadenas de polisacáridos, concentración muy por encima en comparación con el 28% del gel de aloe obtenido en el filete fresco de la planta. El peso molecular de AGS se encuentra en torno a 1562 kD, valor superior al del Aloe natural cuyo valor es de 280,3 kD. Un estudio realizado por la Universidad de Corea del Sur, mediante MALLS (multi angle light lazer scattering system), determinó el peso molecular absoluto y el tamaño medio de partículas presentes en AGS, estos valores se presentan en el anejo A1.

Terry Laboratories cuenta con certificación del *International Aloe Science Council* (IASC), asociación dedicada a velar por la calidad, integridad y estándares científicos de los productos de Aloe vera. La

certificación incluye la revisión de las instalaciones de fabricación y la verificación del procesamiento de aloe. De esta forma se garantiza que el producto cumple con las normas establecidas por la industria de Aloe vera. Además incluye los niveles mínimos de magnesio, calcio, ácido málico y sólidos de Aloe vera.

Terry Laboratories cuenta además con la certificación de USDA (*United States Department of Agriculture*) y de IFOAM (*International Foundation for Organic Agriculture Movements*) para la línea completa de polvos de Aloe vera. Los sellos que acreditan la certificación se encuentran en el boletín técnico, anejo A2.



Figura III. 1. Polvo de gel de Aloe vera "Aloe Gold Seal 200X".

Preparación de las dispersiones de gel de Aloe vera en polvo

Las dispersiones de AGS preparadas se presentan en la Tabla III.2. En ésta se muestra, por columna, la cantidad de AGS (en gramos), la fracción molar y la composición en masa por litro de dispersión.

Para efectos de obtener estimaciones respecto a las propiedades físico-químicas de AGS se prepararon 6 dispersiones, por una semejante al

gel natural obtenido de la hoja del Aloe vera (5 g/L), hasta una con una concentración 20 veces superior a la inicial.

Respecto a la IV, y para asegurar que los únicos mecanismos de transferencia de materia son el HDM y el DRP, se trabajó con dispersiones isotónicas respecto al material vegetal utilizado. Por lo que se optó por emplear las dispersiones de 5 y 30 g AGS/L, que corresponden a los valores extremos del intervalo de las diluciones con este comportamiento.

Tabla III. 2. Composición de las diluciones de AGS.

Aloe	g/L	Fracción molar	Composición
AGS 5	5	$5,78498 \cdot 10^{-8}$	5 g AGS en 993 g de agua
AGS 10	10	$1,16049 \cdot 10^{-7}$	10 g AGS en 991 g de agua
AGS 15	15	$1,74778 \cdot 10^{-7}$	15 g AGS en 985 g de agua
AGS 30	30	$3,52406 \cdot 10^{-7}$	30 g AGS en 972 g de agua
AGS 50	50	$5,93392 \cdot 10^{-7}$	50 g AGS en 957 g de agua
AGS 100	100	$1,22202 \cdot 10^{-6}$	100 g AGS en 898 g de agua

Las dispersiones se prepararon siguiendo las instrucciones de la ficha técnica del proveedor, calculando las masas necesarias para las diferentes diluciones. El procedimiento fue el siguiente:

- Se peso con exactitud (balanza analítica) la masa de AGS correspondiente.
- En un vaso de precipitados con la tercera parte del agua destilada a utilizar y en agitación se adicionó gradualmente la

masa correspondiente de AGS. La agitación se extendió durante 15 minutos más.

- Se llevo la mezcla a un matraz, aforando a 1000 mL.

2. Métodos experimentales, equipos e instalaciones

2.1. Caracterización fisicoquímica de las materias primas

En las muestras de hortalizas frescas e impregnadas se determinaron las siguientes propiedades fisico-químicas: humedad, actividad del agua (a_w), pH, contenido en sólidos solubles, densidad real, densidad aparente, porosidad.

En las dispersiones de AGS, utilizadas en las estimaciones de parámetros físico químicos y en las utilizadas en los ensayos de impregnación, se determinaron los siguientes parámetros: a_w , pH, contenido en sólidos solubles, densidad, estudio reológico, tamaño de partícula y potencial zeta.

En todos los casos las determinaciones se realizaron por triplicado a una temperatura de 25°C.

2.1.1. Humedad

La humedad se determinó siguiendo el método oficial 20.013 de secado en estufa de la AOAC (1980). El método se basa en la

determinación de la pérdida de peso de una muestra, cuando ésta se coloca en estufa de vacío Vaciotem (JPSelecta, España) a una presión de 10 mm de Hg y a una temperatura de 60°C hasta peso constante.

La muestra (~2 g) previamente cortada, se tritura y disgrega con un gramo de arena de mar seca mediante la ayuda de una varilla de vidrio. Las diferencias de peso fueron obtenidas de una balanza analítica (Mettler Toledo Classic PB303-L, España).

La fracción másica de agua (X_w) se obtuvo mediante la siguiente expresión:

$$X_w = \frac{P_{c+mh} - P_{c+ms}}{P_{c+mh} - P_c} \quad \text{Ec. III. 1}$$

donde: P_c : peso del recipiente de metal, la varilla de vidrio y la arena seca (g)
 P_{c+mh} : peso del recipiente de metal, la varilla de vidrio, la arena seca y la muestra húmeda (g)
 P_{c+ms} : peso del recipiente de metal, la varilla de vidrio, la arena seca y la muestra seca (g)

2.1.2. Actividad del agua

La actividad del agua se determinó con un higrómetro de punto de rocío Fast-Lab (GBX, Francia), la tecnología de punto de rocío frío para medir la actividad de agua consiste en la medición rápida de la humedad relativa en un recinto que contiene una muestra del producto en estudio. Previamente se calibró el higrómetro con una disolución saturada de

sulfato de potasio (K_2SO_4) cuya actividad del agua es conocida ($a_w = 0,973$).

2.1.3. pH

La medición se realizó en un multímetro Crison, modelo MM40 (Crison Instrument S.A., España), con multisensor 5059 con electrodo de diafragma cerámico, elemento de referencia Ag recubierto de AgCl y sensor de temperatura Pt1000 para la compensación de temperatura. La calibración del equipo se realizó de acuerdo a las especificaciones del fabricante, utilizando tampones de pH 7,00 y 4,01.

La medición se realizó sumergiendo el electrodo en una muestra representativa (líquida en las disoluciones y dispersiones de impregnación y puré en el caso de muestras de hortalizas), de aproximadamente 50 mL, dispuesta en un vaso de precipitado de vidrio y sometida a agitación. Como valor de pH para cada una de las repeticiones, se consideró la media de dos determinaciones efectuadas sobre la misma muestra, siempre y cuando la diferencia entre ellas fuera menor de 0.1 unidades. La lectura del valor obtenido para la muestra se tomó directamente del equipo.

2.1.4. Sólidos solubles

El contenido en sólidos solubles se determinó a partir del índice de refracción de las muestras. La determinación del índice de refracción se realizó con un refractómetro ABBE ATAGO 3T (Atago CO LTD, Japón) termostatado a 20°C. El refractómetro posee una doble escala que permite realizar directamente la lectura en °Brix (contenido en sólidos

solubles de la fracción líquida de la muestra expresada en tanto por ciento). Cada muestra se analizó por triplicado.

A partir de la lectura de °Brix es posible obtener la fracción másica en solutos de la muestra líquida analizada aplicando la siguiente ecuación:

$$X_s = \frac{X_w \text{ Brix}}{1 - \text{Brix}} \quad \text{Ec. III. 2}$$

donde

X _s ; fracción másica de sólidos solubles de la dilución (kg sólidos solubles/kg)
X _w ; humedad inicial (kg agua/kg)

Para la determinación del contenido de sólidos solubles en muestras sólidas, la muestra (~2 g) se homogeneizó con un volumen conocido de agua destilada (± 10 mL) empleando un homogeneizador Ultraturax T25. Posteriormente se midió las °Brix a unas gotas de estas suspensión.

La fracción másica de sólidos solubles de la muestra original se obtuvo de la siguiente expresión:

$$X_s = \frac{(m_0 X_w + m_w) \text{ Brix}}{m_0 (100 - \text{Brix})} \quad \text{Ec. III. 3}$$

donde:

X _s ; fracción másica de sólidos solubles de la muestra (kg sólidos solubles/kg)
X _w ; humedad inicial (kg agua/kg)
m ₀ ; peso inicial de la muestra (kg)
m _w ; peso agua añadida (kg)
Brix; sólidos solubles expresado en tanto por uno

2.1.5. Densidad aparente y densidad real

La densidad aparente de una muestra sólida es la densidad de la muestra incluyendo el aire ocluido en los poros, mientras que la densidad real es la que presenta el producto una vez eliminado el aire de los poros. Las determinaciones de las densidades real y aparente se realizaron mediante el método de desplazamiento de volumen, utilizando para ello un picnómetro de sólidos y agua destilada como líquido de referencia. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado a 25°C. En la determinación de la densidad aparente se introducen en el picnómetro la muestra sólida (~ 5g) conservando toda su estructura y se enrasa con agua destilada evitando la formación de burbujas de aire en el interior del picnómetro. Para la determinación de la densidad real la muestra se tritura, se introduce en el picnómetro, se enrasa con agua destilada y se elimina el aire presente mediante la aplicación de vacío. Las densidades real y aparente se obtienen a partir de las siguientes ecuaciones:

$$\rho_a = \frac{P_2 \cdot \rho_w}{P_1 + P_2 - P_3} \quad \text{Ec. III. 4}$$

$$\rho_r = \frac{(P_4 - P_0) \cdot \rho_w}{P_1 - P_0} \quad \text{Ec. III. 5}$$

donde:

- ρ_a ; densidad aparente (g/cm³).
- ρ_r ; densidad real (g/cm³).
- ρ_w ; densidad del agua (g/cm³).
- P_0 ; peso del picnómetro vacío (g).
- P_1 ; peso del picnómetro lleno de agua (g).
- P_2 ; peso del trozo de hortaliza (g).
- P_3 ; peso del picnómetro, el trozo de hortaliza y el agua (g).
- P_4 ; peso del picnómetro lleno de puré de hortaliza/disolución de impregnación (g).

2.1.6. Porosidad real

La porosidad real se determina a partir de las densidades real (ρ_r) y aparente (ρ_a) mediante la siguiente expresión:

$$\varepsilon_r = \frac{\rho_r - \rho_a}{\rho_a} \quad \text{Ec. III. 6}$$

2.1.7. Estudio reológico

Para el estudio reológico se prepararon soluciones acuosas de gel de Aloe vera en polvo a diferentes concentraciones en el intervalo de 5 a 100 g/L de disolución, disolviendo el AGS seco en agua destilada con agitación durante 20 min a una velocidad de 200 rpm. Para todas las

medidas reológicas, los valores reportados son los valores medios de tres repeticiones.

Las curvas de flujo para el AGS a las diferentes concentraciones se obtuvieron en un reómetro rotatorio (marca HAAKE, modelo Rheo Stress RS1, Alemania) con un sensor cilindro-cónico (Z34 DIN Ti) (Figura III.2) y con baño con control de temperatura (marca HAAKE, modelo Phoenix 2). Las medidas fueron realizadas a 20°C, mientras que el gradiente de velocidad ($\dot{\gamma}$) varió entre 0 y 70 s⁻¹.



Figura III. 2. Equipo Rheo Stress RS1 con sensor cilindro-cónico marca HAAKE.

La variación del esfuerzo de corte con el gradiente de velocidad, proporcionada por las curvas de flujo del AGS a diferentes concentraciones, se ajustó al modelo de Ostwald de Waele.

$$\tau = m \cdot \dot{\gamma}^n \quad \text{Ec. III. 7}$$

donde

τ	; esfuerzo de corte, [Pa].
m	; índice de consistencia (Pa s ⁿ)
$\dot{\gamma}$; velocidad de cizalla (s ⁻¹)
n	; índice de comportamiento de flujo. Cuando $n = 1$, m representa la viscosidad dinámica newtoniana y el fluido es newtoniano

Se analizó la relación entre la viscosidad con la concentración, con la finalidad de encontrar un modelo matemático que permita futuras predicciones.

2.1.8. Análisis del tamaño de partícula

El análisis del tamaño de partícula fue realizado por difracción láser en un equipo Mastersizer 2000 (Malvern Instruments Ltd., UK), para un rango de medida entre 0,02 y 2.000 μm . Los parámetros de medida fueron fijados de acuerdo a lo establecido en la norma ISO 13320-1, fijando una velocidad de bombeo y agitación de 1800 rpm y un nivel de obscuración entre 7 y 10%. Se aplicó la teoría Mie asumiendo un índice de refracción (I.R.) y una absorción (parte imaginaria del I.R.) de 1,520 y 0,1, respectivamente. Los datos fueron analizados utilizando el modelo para datos polidispersos. La distribución de tamaño de las partículas detectada en las muestras analizadas se expresó en tanto por ciento del volumen total. Se analizaron cinco muestras con tres repeticiones para cada una.

2.1.9. Potencial zeta

El potencial zeta (ζ) fue medido a través de un equipo Zetasizer Nano Z (Malvern Instruments Ltd.), trabajando a una temperatura de 20°C. El instrumento calculó el potencial zeta a través de la determinación de la movilidad electroforética y aplicando luego la ecuación de Henry (Ec. III.8), donde: ϵ es la constante dieléctrica del dispersante, $f(Ka)$ es la función de Henry y μ es la viscosidad del fluido.

$$U_E = \frac{2 \cdot \epsilon \cdot \zeta \cdot f}{3 \cdot \mu} \quad \text{Ec. III. 8}$$

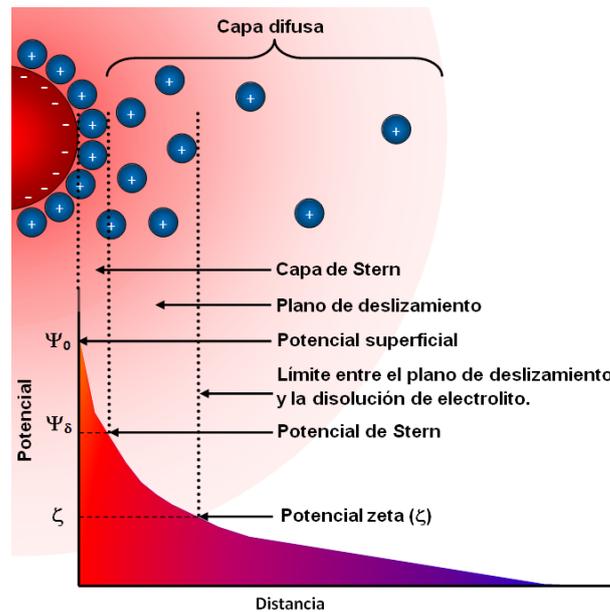


Figura III. 3. Esquema de la variación de potencial y denominación de las capas según la distancia del colide.

La movilidad electroforética fue obtenida a partir de la velocidad alcanzada por una partícula de la muestra movida electroforéticamente (velocidad electroforética) y medida usando un *velocímetro laser doppler* del equipo (LDV, por sus siglas en inglés). Se utilizó el modelo de aproximación de Smoluchowski, con un $f(Ka)$ de 1,5. Se analizaron cinco muestras de disolución de AGS 5, con tres repeticiones cada una. La variación del pH en las muestras se realizó por adición de NaOH ó HCl (para aumentar o disminuir el pH, respectivamente).

3. Impregnación a vacío

3.1. Equipo experimental

Para los experimentos de impregnación a vacío (IV) se utilizó un equipo construido en el departamento de tecnología de Alimentos al (Fito *et al.*, 1996, Martínez-Monzó *et al.*, 1998).

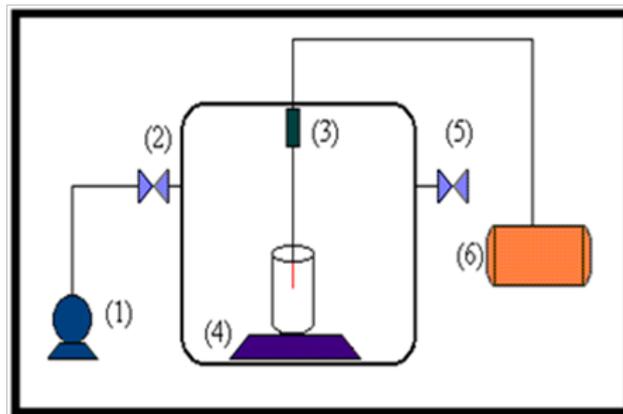


Figura III. 4. Esquema del equipo de impregnación a vacío.

En la figura III.4 se observa un esquema del equipo de IV, que consta de una cámara de vacío en acero inoxidable, con una balanza electrónica (4) con una sensibilidad de 0.01g (Mettler PJ3600). En el plato de la balanza se coloca el recipiente con la fase líquida a impregnar y, mediante un sistema neumático alimentado por un compresor (6) (Comba, 1.5 HP de 25 l), se acciona un brazo rígido (3) que permite sumergir y girar la muestra. El vacío en el sistema es suministrado por una bomba de anillo líquido (1) (Sihi Lohe- 25007 BN131.010) y la presión de trabajo es controlada por una válvula manual $\Phi 1/2''$ (5) que además permite romper el vacío.

La metodología utilizada está encaminada a la obtención de datos experimentales que permiten analizar el comportamiento (de la estructura) de la muestra durante toda la operación de IV mediante el modelo matemático propuesto por Fito et al. (1996). En los experimentos de IV se sumergió la muestra en el líquido de impregnación y se aplicó, en primer lugar, una presión de vacío de 50 mbar durante 10 minutos. A continuación se restauró la presión atmosférica, manteniendo la muestra sumergida en el medio durante 10 minutos. La metodología experimental que se llevó a cabo se esquematiza en forma de diagrama de flujo en la figura III.5, en la cual se resume los pasos correspondientes a la metodología experimental desarrollada.

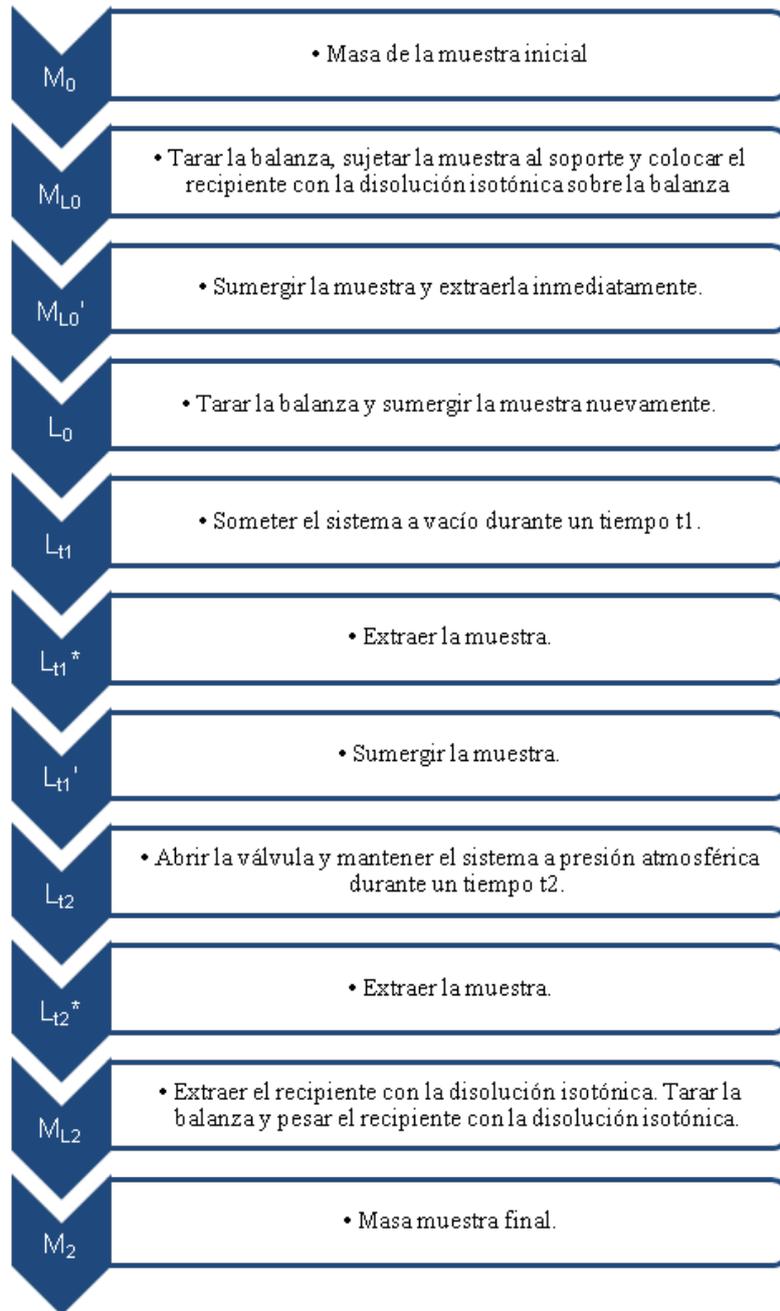


Figura III. 5. Esquema de la metodología seguida en un experimento de IV.

Las lecturas de la balanza correspondientes a cada uno de los pasos seguidos durante el proceso de IV se explican a continuación:

M_{L0} ; masa del recipiente con la disolución en el instante inicial.

M_{L0}' ; masa del recipiente con la disolución en el instante inicial, excluida la masa de líquido que moja la superficie de la muestra.

L_0 ; masa de líquido desplazado por la muestra. Coincide con el volumen de la muestra V_0 multiplicado por la densidad de la disolución (ρ_s).

L_{t1} ; masa de líquido desplazado por la muestra en el instante t_1 excluida la masa de agua evaporada (M_{W1}) y la masa de disolución que ha penetrado en la muestra en ese periodo de tiempo (M_{X1}). Además, si la disolución no es isotónica con la muestra, puede haberse producido una salida de agua de la muestra y una entrada de solutos de la disolución dentro de la muestra. Llamando M_{D01} a la masa neta (agua + solutos) ganada por la muestra, y teniendo en cuenta que el valor de L_{t1} se encuentra también afectado por el desplazamiento (D) de la lectura de la balanza debido a la variación de presión, se tendrá:

$$L_{t1} = V_{t1}\rho - M_{W1} - M_{X1} - M_{D01} - D \quad \text{Ec. III. 9}$$

L_{t1}^* ; valor relacionado con la cantidad de disolución que impregna la muestra, con el agua evaporada hasta el instante t_1 , y con la masa de agua y solutos intercambiados entre la muestra y la disolución debido a los gradientes de concentración existentes:

$$L_{t1}^* = M_{W1} - M_{X1} - M_{D01} - D \quad \text{Ec. III. 10}$$

L_{t1}' ; este valor tiene el mismo significado que L_{t1}^* , pero la muestra fue extraída de la disolución, dejando escurrir, y sumergida nuevamente, con el objeto de eliminar las burbujas adheridas a la superficie, conociendo así el empuje medio en ese momento. Este valor es el que se tiene en cuenta en los cálculos.

L_{t2} ; masa de líquido desplazado por la muestra en el instante t_2 , excluyendo la masa de agua evaporada durante el periodo de vacío, la cantidad de disolución que penetró en la muestra hasta el instante t_2 ($M_{X1} + M_{X2}$) y la masa neta (agua + solutos) ganada por la muestra debido a la existencia de gradientes de concentración:

$$L_{t2} = V_{t2}\rho - M_{W1} - (M_{X1} + M_{X2}) - (M_{D01} + M_{D02}) \quad \text{Ec. III. 11}$$

L_{t2}^* ; masa de disolución isotónica que penetró en la muestra, agua evaporada y masa neta (agua + solutos) ganada por la muestra debido a la existencia de gradientes de concentración, hasta el instante t_2 .

$$L_{t2}^* = M_{W1} - (M_{X1} + M_{X2}) - (M_{D01} + M_{D02}) \quad \text{Ec. III. 12}$$

M_{L2} ; masa del recipiente con disolución al final del proceso.

Las diferentes pesadas realizadas a lo largo del proceso permiten calcular los parámetros de impregnación característicos: la fracción volumétrica de muestra impregnada con líquido (X), la deformación volumétrica de la muestra (γ) y la porosidad eficaz (ϵ). Las ecuaciones de modelo que permiten determinar el valor de estos parámetros en un experimento de IV se detallan a continuación.

La deformación producida al final del periodo de vacío, viene dada por la ecuación:

$$\gamma_1 = \frac{V_1 - V_0}{V_0} = \frac{E_1 - E_0}{E_0} = \frac{(L'_{t1} - L^*_{t1}) - L_0}{L_0} \quad \text{Ec. III. 13}$$

Y la deformación final,

$$\gamma = \frac{V_2 - V_0}{V_0} = \frac{(L_{t2} - L^*_{t2}) - L_0}{L_0} \quad \text{Ec. III. 14}$$

Por diferencia se puede calcular la deformación durante la etapa a presión atmosférica:

$$\gamma_2 = \gamma - \gamma_1 = \frac{V_2 - V_1}{V_0} \quad \text{Ec. III. 15}$$

La impregnación al final del periodo de vacío puede expresarse como:

$$X_1 = \gamma_1 + \frac{L_0 - (L'_{t1} + D)}{L_0} - \frac{M_W}{L_0} \quad \text{Ec. III. 16}$$

y la impregnación final,

$$X = \frac{[M_2 - (M'_{L0} - M_{L0})] - M_0}{E_0} = \frac{(M_2 - M_0) - (M'_{L0} - M_{L0})}{L_0} \quad \text{Ec. III. 17}$$

La impregnación que se produce durante la etapa a presión atmosférica se podría calcular por diferencia entre X y X₁. Sin embargo, en muchos casos, las determinaciones experimentales han conducido a valores negativos de X₁. Esto supone una pérdida de líquido nativo por parte de la muestra, por lo que la masa de disolución externa que realmente se logra introducir en la muestra al final del proceso de IV, por el

acoplamiento entre el mecanismo hidrodinámico y los fenómenos de deformación-relajación, será la que penetra durante la etapa a presión atmosférica.

4. Efecto de la IV con aloe sobre la tasa de respiración de las hortalizas

La mayoría de los cambios físicos y químicos que tienen lugar en los vegetales, después de recolectados, están relacionados con el metabolismo oxidativo, incluida la respiración. Todos los organismos vivos requieren un aporte continuo de energía, necesaria para llevar a cabo todas las reacciones metabólicas y mantener la organización celular. La respiración es el principal proceso de producción de energía de las células aerobias. Consiste en la degradación oxidativa, enzimática y exotérmica de sustancias orgánicas almacenadas en las células, para transformarlas en sustancias más simples con desprendimiento de energía en formas utilizables (Guardiola y García, 1990).

La impregnación a vacío (IV), en algunos casos, puede disminuir los niveles de O_2 . Esta operación causa una alteración estructural y fisiológica, ocasionada por el intercambio del gas, presente en los poros, por el líquido externo, lo que afecta los niveles requeridos en la respiración y, por tanto, influye en la vida útil de los productos. Este intercambio ocurre al sumergir el producto en la fase líquida para someterlo a baja presión y así expandir el gas para que salga, y luego, al restituir la presión atmosférica, el producto se comprime favoreciendo la penetración del líquido exterior en los poros.

Para medir la tasa de respiración se usó un sistema estático. Este método consiste en poner la muestra en un recipiente impermeable y cerrado con una concentración de aire inicial conocida, midiéndose directamente los cambios en las concentraciones internas de O₂ y CO₂, resultantes de la respiración, después de un determinado periodo de tiempo.

Se usaron muestras de hortalizas frescas e impregnadas con disolución de sacarosa (alrededor de 50 g), las que se colocaron en frascos de cristal herméticos dispuestos con un diafragma en la tapa para la toma de muestras de gas en el espacio cabeza. Los frascos fueron almacenados a dos temperaturas durante el ensayo, 5 y 20 °C.

Las temperaturas elegidas consideraron las posibles condiciones de almacenaje utilizados en este tipo de hortalizas, bajo refrigeración considerando una temperatura de referencia 5 °C y a temperatura ambiente (~20 °C).

La toma de muestras de gas se llevó a cabo cada 30 minutos, mediante una aguja conectada a un analizador de gases (PBI Jaque Dansensor-9900 O₂/CO₂, Ringsted, Dinamarca), el que tiene una sensibilidad es de 0,001 (O₂) y 0,1 (CO₂) en porcentaje y una precisión en porcentaje de la lectura de ± 1% de O₂ y ± 2% para el CO₂. La muestra fue extraída con un caudal de 2 cm³ para el O₂ y 4 cm³ para CO₂.

Se realizaron tres repeticiones para cada tratamiento. Se consideraron los puntos experimentales en el rango de tiempo en el que se observó una relación lineal entre la concentración del gas y el tiempo. Esto significa que los cambios en la composición del espacio cabeza no produce notables

alteraciones en su metabolismo. La frecuencia respiratoria o tasa respiratoria (TR : mL/kg·h) de las muestras, en términos de generación de CO₂ y el consumo de O₂, fueron determinados a partir de la pendiente de la ecuación lineal, según Ec.III.19:

$$\gamma_t = \gamma_0 \pm 100 F_r \left(\frac{M}{V} \right) t \quad \text{Ec. III. 19}$$

donde: γ_t = concentración de gas (%O₂, %CO₂) al tiempo t
 F_r = pendiente de la variación de la fracción volumétrica en % de gas frente al tiempo (t)
 M= masa muestra (kg)
 V= volumen de espacio cabeza (mL)
 t = tiempo (h)

La evolución de la concentración de gas en el tiempo, se midió en muestras frescas e impregnados con disolución de aloe a temperatura ambiente y de refrigeración (20° C y 5° C, respectivamente).

4.1. Coeficiente de respiración.

Es una medida determinante a la hora de saber la naturaleza de las combustiones respiratorias para la obtención de moléculas simples, todo depende del oxígeno necesario para el proceso. Se determina como la relación entre la producción de CO₂ y el O₂ consumido, ecuación III.20:

$$C_r = \frac{CO_2 \text{ producido (ml)}}{O_2 \text{ consumido (ml)}} \quad \text{Ec. III. 20}$$

5. Cuantificación teórica de AGS por modelo matemático

La aplicación de la técnica de impregnación a vacío se basa en la actuación del mecanismo hidrodinámico, según el cual, al someter el alimento sumergido en un líquido de impregnación a cambios de presión (vacío y atmosférica) durante un tiempo definido generará cambios en la matriz estructural del alimento. Las deformaciones ocurren acopladas a un ingreso de disolución externa al interior de la estructura del alimento, la cantidad de líquido ingresado dependerá de las características del alimento, de las propiedades de la disolución de impregnación y de la presión de trabajo (Betoret, 2003; Fito, 1999; Fito, 1996).

En un estudio realizado por Betoret (2002) se desarrolló, comprobó y aplicó un modelo matemático basándose en balances de masa, el que permiten determinar los parámetros de HDM-DRP. La ecuación III.18 se ha utilizado para determinar la factibilidad del proceso de impregnación en la obtención de frutas y hortalizas enriquecidas mediante la técnica de IV (Arroyave, 2006; Betoret, 2002).

Por tanto, la cuantificación preliminar del AGS se realizó por estimación teórica utilizando esta ecuación y considerando los valores medios de impregnación con disolución externa (X_2).

$$x_m = \frac{X \cdot \left(\frac{\rho_{di}}{\rho_{mf}}\right) \cdot \gamma_m}{1 + X \cdot \left(\frac{\rho_{di}}{\rho_{mf}}\right)} \quad \text{Ec. III. 18}$$

donde: x_m = fracción másica de AGS en la hortaliza (kg AGS / kg. de hortaliza)
 γ_m = fracción másica de mineral en la disolución de impregnación (kg AGS / kg de disolución)
 ρ_{di} = densidad de la disolución de impregnación
 ρ_{mf} = densidad de la hortaliza fresca
 X_2 = % de impregnación con disolución externa.

6. Análisis colorimétrico cuantitativo de polisacáridos de aloe

Para la determinación del contenido de polisacáridos de aloe en las muestras de hortalizas impregnadas con la disolución de Aloe vera, se cuantificó el glucomanano presente en las muestras de hortalizas frescas e impregnadas, utilizando un análisis colorimétrico según el método descrito y patentado por Eberendu *et al.* (2005).

El método colorimétrico cuantitativo específico para medir glucomanano procedente de A. vera no requiere separación previa o degradación química del polímero, ya que el ensayo no se ve afectado por la interferencia de las pequeñas moléculas que constituyen los productos de A. vera. La formación de color es mínima o inexistente con aditivos utilizados para adulterar el aloe, productos tales como goma guar, algarroba, acacia, ghatti, carragenina, inulina, y psyllium. Otros aditivos

tales como glicoles, alcoholes, glicerol, ácidos orgánicos, monosacáridos, y preservantes no interfirieren con el ensayo.

El color desarrollado por la interacción entre el polisacárido de aloe y el colorante es estable durante varios días. Por tanto la ventaja de este método es que las muestras pueden ser preparadas y medir cualitativa y cuantitativamente inmediatamente o en una fecha posterior sin ningún cambio significativo en la intensidad del color.

6.1.Principio

El método se basa en la interacción del glucomanano, presente en el aloe, con el colorante Rojo Congo (4,4'-difeníl-2,2'-diazobis-1-naftlamino-4-sulfonato sodio) para formar un complejo característico de color permanente que es proporcional a la cantidad de glucomanano presente en la muestra.

6.2.Materiales y equipos

- Cubetas de plástico desechables (paso de luz de 1 cm, 3 mL)
- Micropipetas (100 µL – 1000 µL)
- Balanza de precisión
- Espectrofotómetro DU 730 spectro - photometer UV/Vis (Beckman Coulter, EEUU) a 340 nm
- Agitador vibrador de tubos Vortex
- Papeles filtro fibra de vidrio GF/C 1,2 µm; Whatman
- Colorante Rojo Congo
- Hidróxido de Sodio
- Agitador orbital

- Tubos cónicos de propileno
- Tubos de ensayo

6.3. Curva de calibración

El estándar de polisacárido de gel de aloe en polvo (20 mg,) pesado en una balanza analítica, se disuelve en 20 ml de agua bidestilada para lograr una concentración de 1 mg/mL (solución madre). Se prepararon dispersiones patrón de trabajo de 10, 20, 100, 500, y 800 mg/L mediante la dilución adecuada de alícuotas de solución madre con agua bidestilada. Cada nivel se preparó por triplicado.

Para preparar los patrones de calibración, se trasladaron alícuotas de muestra (400 μ L) de cada nivel de concentración a tubos desechables. Para cada tubo se añadió de NaOH 2 M (0,5 mL) y reactivo Rojo Congo $2 \cdot 10^{-4}$ M (0,1 mL). La mezcla se dejó a temperatura ambiente durante 20 min.

Se realizó la lectura de la absorbancia a 540 nm. La representación gráfica de la absorbancia medida versus la concentración de polisacáridos de aloe tuvo un comportamiento lineal. Esta curva de calibración se utilizó para determinar el contenido de polisacáridos de áloe de muestras estudiadas.

6.4. Preparación de las muestras

Las muestras que comprenden las hortalizas impregnadas con disolución de AGS, fueron analizados sin mayor purificación. Alrededor de 40 mg de cada muestra se pesó en una balanza analítica y fue transferida

a tubos cónicos de polipropileno (30 x 115 mm). Se añadió a cada muestra agua bidestilada (20 mL), dejando a continuación la mezcla en un agitador orbital a 200 rpm durante 2 h. Posteriormente cada muestra se filtró a través de filtro de membrana Whatman de microfibras de vidrio de 1,2 μm . Se tomaron alícuotas (0,40 ml) de cada muestra y se llevaron a tubos etiquetados, añadiendo a cada tubo 0,5 mL NaOH 2 M y 0,1 mL de reactivo Rojo Congo 4×10^{-4} M, las determinaciones se realizaron por triplicado.

Las mediciones de Absorbancia se hicieron de acuerdo con el procedimiento descrito anteriormente para curva de calibración.

6.5. Cálculo

La cuantificación de polisacáridos de albe presente en las muestras, se obtuvo a partir de la curva de calibración y mediante su ecuación de regresión (Ec. III.21):

$$Y = m \cdot X + C \quad \text{Ec. III. 21}$$

donde: $\left\{ \begin{array}{l} Y = \text{absorbancia} \\ m = \text{pendiente} \\ C = \text{intercepto} \end{array} \right.$

La exactitud del método se evaluó mediante el porcentaje de recuperación de AGS, a partir de la ecuación siguiente:

$$\% \text{ Recuperación} = \frac{\text{Concentración medida}}{\text{Concentración adicionada}} \times 100 \quad \text{Ec. III. 22}$$

7. Análisis cuantitativo de ácido málico por espectrofotometría UV

Una adaptación que podemos encontrar en el aloe, para poder sobrevivir en los hábitats que ocupan, está en su fisiología. Los *aloes* son plantas CAM (Crassulacean Acid Metabolism), lo que supone la conversión del CO₂ a ácido málico en oscuridad, el cual es usado para convertirlo en carbohidratos durante el día. Este proceso permite a la planta tener sus estomas abiertos por la noche y cerrados por el día, al revés de lo que ocurre en la mayoría de las plantas, pudiendo conservar el agua durante el día que es cuando la temperatura es más alta. (Winter y Smith, 1996)

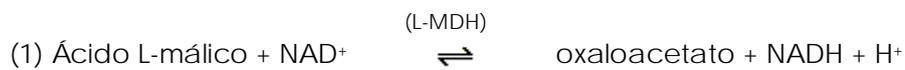
La acumulación vacuolar del CO₂ a manera de ácidos orgánicos, específicamente ácido málico, permite cuantificar su contenido y de este modo valorar la presencia de aloe total. El contenido de ácido málico en el gel de aloe fresco se encuentra, aproximadamente, entre 409 - 656 μ mol/g de peso seco. (Paez et al., 2000).

Por tanto un parámetro indicativo de calidad para el producto es el contenido de ácido málico que se encuentra de manera natural en los tejidos del aloe.

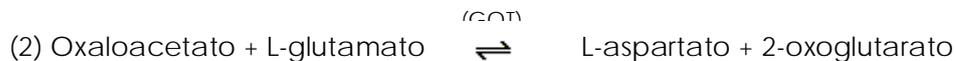
En la determinación del contenido en ácido málico de las dispersiones de AGS y de las muestras de hortalizas impregnadas, se utilizó un análisis enzimático aprobado por la AOAC. El método se incluye en la legislación sobre alimentos de muchos países y en la normativa europea.

7.1. Principio

La detección del ácido L-málico requiere dos reacciones enzimáticas. En la primera reacción, catalizada por L-malato deshidrogenasa (L-MDH), el ácido L-málico se oxida en oxaloacetato por la nicotinamida-adenina dinucleotido (NAD⁺) (1).



Sin embargo, dado que el equilibrio de la reacción (1) cae en favor del ácido L-málico y NAD⁺, se requiere una reacción adicional para “atrapar” el NADH, lo cual se consigue convirtiendo el oxaloacetato en L-aspartato y 2-oxoglutarato, en presencia de un exceso de L-glutamato, por glutamato-oxaloacetato transaminasa (GOT) (2).



La cantidad de NADH que se forma en la doble reacción anterior es estequiométricamente proporcional con la cantidad de ácido L-málico. Por lo tanto lo que se mide es el NADH, a través del aumento de la capacidad de absorción a 340 nm.

7.2. Materiales y equipos

- Tubos de ensayo
- Cubetas de plástico desechables (paso de luz de 1 cm, 3 mL)
- Micropipetas (20 µL y 100 µL)
- Pipetas 2,0 mL

- Balanza de precisión
- Espectrofotómetro DU 730 spectro - photometer UV/Vis (Beckman Coulter, EEUU) a 340 nm
- Agitador vibrador de tubos Vortex
- Papeles filtro Whatman No.1 (9 cm)

7.3.Preparación muestra: Dispersión AGS

Las dispersiones de AGS, a las distintas concentraciones, se elaboraron según se explica en el apartado III.1.2. Se obtuvo una alícuota de 0,1 mL para la determinación.

7.4.Preparación de la muestra: Hortalizas

Para la determinación de contenido de ácido málico de las muestras de hortalizas frescas e impregnadas (~ 25 g) se realizó a una extracción previa mediante el método descrito para la determinación de ácido L-málico de Boehringer Mannheim (R-Biopharm test 10 139 068 035). Cada muestra de hortaliza, previamente pesada, se homogenizó en un tubo de extracción de 50 mL con adición de agua a 60° C. Posteriormente se aforó en un matraz a 100 mL, enrasando con agua destilada. Luego se filtró con papel filtro cualitativo Whatman nº 1, 150 mm diámetro de poro, separando un extracto limpio del cual se obtuvo una alícuota de 0,1 mL.

7.5.Procedimiento

El procedimiento fue idéntico para las dispersiones de AGS y para las hortalizas frescas e impregnadas, se indica a continuación:

- Adicionar:

- ✓ Tampón glicilglicina (pH 10)
- ✓ Nicotinamida-adenina dinucleotido (NAD⁺)
- ✓ Suspensión de Glutamato-oxaloacetato transaminasa (GOT)
- ✓ Alícuota de muestra y luego agua bidestilada
- Mezclar e incubar a temperatura ambiente durante 3 minutos
- Obtener la absorbancia A₁
- Adicionar la suspensión de L-Malato deshidrogenasa
- Mezclar e incubar a temperatura ambiente durante 5 minutos y
- Obtener la absorbancia A₂

7.6. Cálculo

Para determinar la concentración de las muestras se utilizó la siguiente ecuación:

$$c = \frac{V \times PM}{\epsilon \times d \times v \times 1000} \times \Delta A \quad \text{Ec. III. 23}$$

donde:

c;	Concentración de L-ácido málico (g/l)
V;	Volumen final (mL)
v;	Volumen muestra (mL)
PM;	Peso molecular de la sustancia analizada (g/mol)
d;	Paso de luz (cm)
ε;	Coefficiente de extinción del NADH a 340 nm (6.3 l×mmol ⁻¹ ×cm ⁻¹)
ΔA;	(A ₂ -A ₁)

En las muestras sólidas la concentración se calculó según su masa inicial, con la ecuación siguiente:

$$\text{Contenido}_{L\text{-ácido málico}} = \frac{c}{M} \times 100 \quad \text{Ec. III. 24}$$

donde:

Contenido L-ácido málico; Sustancia analizada en la muestra sólida (g/100g)
c; Concentración de L-ácido málico (g/l)
M; Masa de la muestra (g/l)

Como un estándar interno, a fin de verificar la correcta realización de la determinación (error bruto) y descartar la presencia de sustancias interferentes en la muestra, se utilizó la disolución de control, determinando el porcentaje de recuperación mediante la ecuación III.25.

$$\% \text{ Recuperación} = \frac{2 \times \Delta A_{\text{muestra+estándar}} - \Delta A_{\text{muestra}}}{\Delta A_{\text{estándar}}} \times 100 \quad \text{Ec. III. 25}$$

8. Cuantificación de minerales por cromatografía

8.1. Preparación de las muestras

Para determinar calcio en las distintas muestras, se pesó gel de aloe vera en polvo (~1g), se obtuvo una alícuota de 10 mL de las dispersiones de AGS (5 y 30) y se pesó aproximadamente 10 g de muestra de hortalizas frescas e impregnadas.

Todas las muestras fueron incineradas en crisoles de porcelana en una placa calefactora de cerámica (P-SELECTA mod. Ceramic-plac) a 250 °C. Una vez carbonizadas, las muestras, se introdujeron en un horno mufla eléctrico de 9 L de capacidad (P-SELECTA mod. Select-Horn), a 550 °C

durante 4 horas, hasta confirmar la completa destrucción de la materia orgánica (cenizas blancas).

Las cenizas blancas se disolvieron con 0.5 mL de ácido nítrico extra puro al 65% (Scharlau Chemie, S.A., España) trasladándolas a un matraz de 100 mL y enrasando con agua bidestilada. Se tomaron alícuotas de 5 ml y se llevaron a un matraz de 25 mL, se usó agua bidestilada para enrasar. De esta forma se obtuvieron concentraciones comprendidas en el rango de medida del equipo (0-50 ppm).

8.2. Equipo y procedimiento

El contenido en calcio de las muestras de AGS y hortalizas frescas e impregnadas se determinó mediante un cromatógrafo líquido de intercambio iónico para la detección de aniones y cationes por supresión química y diálisis (Metrohm Ltd. modelo MIC-7 Compact).

El cromatógrafo líquido de intercambio iónico empleado en la determinación del contenido en calcio de las muestras consta de dos módulos independientes (mod. 761 Compact IC) para la medida de aniones y cationes, además de un inyector de muestras automático (mod. 838 Advanced Sample processor). Tanto el módulo de cationes como el de aniones están provistos de un detector de conductividad, una bomba de alta presión para impulsar la fase peristáltica y una columna con la matriz específica para cada caso. Como fase estacionaria en la determinación de cationes se empleó una columna de polieteretercetona, específica para la separación con tiempos cortos de retención de metales alcalinos y alcalinotérreos en medio acuoso (Metrosep C 2-150), de 150 mm de longitud y 4 mm de diámetro interno, rellena de partículas de gel de sílice

carboxilado de 7 μm de tamaño. Como fase móvil en la determinación de cationes se empleó una disolución acuosa de ácido tartárico (4 mmol/L) y ácido dipicolínico (0.75 mmol/L) (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Alemania) con un flujo de 1 mL/min. En todos los casos, el volumen de muestra inyectada fue de 20 μL , la presión de trabajo 10.2 MPa y la conductividad de 573 $\mu\text{S}/\text{cm}$.

8.3. Rectas de calibrado

Se representaron rectas de calibrado en un intervalo de concentraciones comprendido entre 5 y 50 mg/L, para el estándar de referencia. La figura IV.3.12 corresponde a una muestra de los cromatogramas obtenidos en la separación de los minerales presentes el Aloe vera.

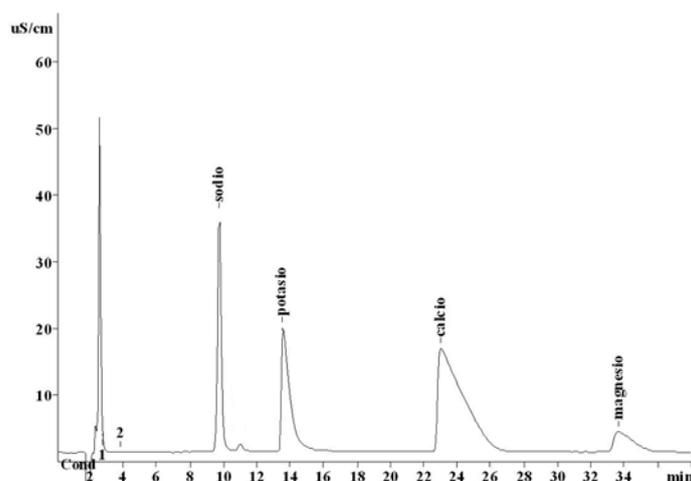


Figura III. 6. Cromatograma de separación de iones de Na^{2+} , K^+ , Ca^{2+} y Mg^{2+} .

La figura IV.3.13, corresponde a las rectas de calibración de los estándares de referencia, y las ecuaciones IV.3.2 a IV.3.5, modelizan (con un ajuste significativo al 99%) la respuesta del cromatógrafo (área: Y) con respecto a la concentración del componente (X: mg/ml).

Na ²⁺	$Y = 4,729 \cdot X - 0,4208$	(R2 = 0,999)	EC. IV. 3.2
K ⁺	$Y = 2,2395 \cdot X - 4,0634$	(R2 = 0,997)	EC. IV. 3.3
Ca ²⁺	$Y = 5,1597 \cdot X + 13,371$	(R2 = 0,994)	EC. IV. 3.4
Mg ²⁺	$Y = 8,3778 \cdot X + 18,287$	(R2 = 0,997)	EC. IV. 3.5

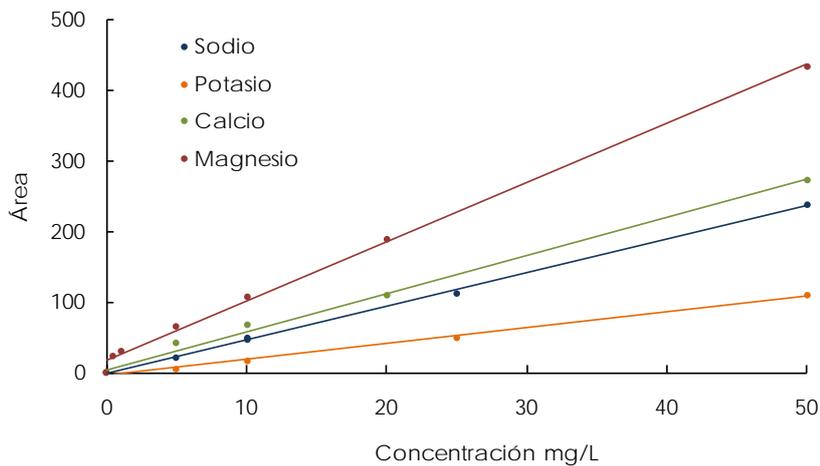


Figura III. 7. Rectas de calibrado de Na²⁺, K⁺, Ca²⁺ y Mg²⁺.

Se determinó para el gel de Aloe vera en polvo la presencia de los minerales antes señalados con el fin de compararlos con los publicados y completar un perfil de calidad de la materia prima usada (AGS).

En el caso de las hortalizas impregnadas con dispersión de AGS 5 y 30, se cuantificó el Ca^{2+} puesto que su alta concentración se detectó sin interferencias en las muestras.

8.4. Cálculo

El contenido en calcio se obtuvo directamente, mediante un programa informático, por integración del área bajo el pico obtenido al tiempo de retención correspondiente a dicho catión (24 min). A partir de las áreas obtenidas para concentraciones conocidas del patrón de calcio se obtuvo, mediante un ajuste lineal por mínimos cuadrados, la ecuación que relaciona éstas con el contenido en calcio expresado en ppm.

9. Microscopia electrónica de barrido a bajas temperaturas (CryoSEM). Preparación de las muestras y métodos de observación.

Muestras de las hortalizas estudiadas frescas e impregnadas fueron observadas por la técnica de microscopia electrónica de barrido a bajas temperaturas (CryoSEM). En la preparación de las muestras se cortó, de las muestras frescas e impregnadas, una pequeña sección perpendicular al eje, de unos 3 mm de anchura y 9 mm de longitud. Esta sección se montó sobre un porta-muestras de acero inoxidable y se congeló rápidamente utilizando nitrógeno en punto de nieve. A continuación se transfirió la muestra a una cámara a -180°C y se fracturó a nivel del porta-muestras. Posteriormente la muestra se introdujo en el microscopio electrónico (JEOL JSM-5410 microscope), y con la finalidad de

sublimar el hielo formado se sometió a una presión de vacío y a una temperatura de -85°C durante 15 minutos. Finalmente se recubrió con una capa de oro con el fin de transformarla en conductora. Se realizaron observaciones en zonas localizadas al azar por todo lo largo y ancho de la muestra.

10. Evaluación sensorial

El éxito de un alimento depende básicamente de su aceptación por parte de los consumidores, y por tanto de su calidad organoléptica, la cual se determina mediante una valoración sensorial, por ser ésta, la respuesta de los sentidos (Ibañez y Barcina, 2001).

La evaluación de las características sensoriales de las muestras de hortalizas impregnadas con AGS 5 y 30 se realizó mediante un test de preferencia. Se eligió este tipo de test por ser una herramienta eficaz y sencilla que permite establecer preferencias entre las muestras y distinguir alguna diferencia organoléptica, general o específica. El test consistió en una prueba hedónica para determinar si existieron diferencias entre las muestras presentadas (Murray et al., 2000).

La prueba de escala hedónica es un método para medir preferencias, además permite medir estados psicológicos. En este método la evaluación del alimento resulta hecha indirectamente como consecuencia de la medida de una reacción humana.

Se usa para estudiar a nivel de *Laboratorio* la posible aceptación del alimento. Se pide al juez que luego de su primera impresión responda cuánto le agrada o desagrada el producto, esto lo informa de acuerdo a una escala numérico-verbal que va en la ficha, en este caso de 9 puntos (Wittig de Penna, 2001).

Participó un total de 15 jueces semientrenados, realizando la prueba en duplicado. En todos los casos se realizaron un total de 30 evaluaciones por muestra; que es igual al número de respuestas mínimas que se consideran necesarias para tomar una decisión apropiada. (Ibañez y Barcina, 2001)

Las muestras de coliflor y brócoli se sometieron a cocción a vapor por 2 minutos en microondas, introducidas en bolsas de polipropileno de uso alimentario (marca Albal), a una potencia de 800 W. Se presentaron las muestras como inflorescencias con tallo de unos 4 cm de longitud y se sirvieron, para su degustación, a temperatura ambiente.

Las muestras de endibia y zanahoria se presentaron frescas, las endibias en trozo de hojas de 3 cm y las zanahorias en rodajas de 5 mm de espesor.

Los resultados obtenidos para cada atributo se analizaron mediante un ANOVA y utilizándose el método LSD (mínimas diferencias significativas) como método de comparaciones múltiples, con un nivel de significación del 95% ($\alpha=0.05$). Este análisis fue realizado con el paquete estadístico Statgraphics Centurion XV (StatPoint Technologies Inc., USA).

11. Análisis estadístico

Los resultados obtenidos en los diferentes estudios, se analizaron estadísticamente a través del programa informático Statgraphics Centurion XV (StatPoint Technologies Inc., USA).

En el caso de los modelos de predicción se compararon los valores predichos obtenidos de las ecuaciones con los valores experimentales mediante una regresión lineal simple:

$$y = a + b \cdot X \quad \text{Ec. III. 26}$$

Después de comprobar que el parámetro "a" no difiere significativamente de 0. Se realizó una segunda regresión del tipo:

$$y = c \cdot X \quad \text{Ec. III. 27}$$

Si el valor del parámetro "c" no se diferenciaba significativamente de 1, se concluyó que los valores predichos y experimentales no diferían significativamente.

IV.RESULTADOS

Buen alimento, mejor pensamiento

IV.1. CARACTERIZACIÓN DE BRÓCOLI, COLIFLOR, ENDIBIA Y ZANAHORIA

Con huerta y verdura alejas la sepultura

1. Introducción

Aunque existen estudios previos sobre la viabilidad de las hortalizas, para desarrollo de alimentos funcionales frescos, la elección de matrices vegetales inéditas como brócoli, coliflor y endibia, amplían el desarrollo de nuevos productos en este campo.

Se incluyó en el estudio a la zanahoria, debido a que cuenta con antecedentes comprobados como matriz apta para la IV (Arroyave, 2006; Gras *et al.*, 2002; Gras, 2001), y permitió referenciar de manera práctica los valores obtenidos.

De este modo, se consideró el análisis de diferentes tipos tejidos vegetales (inflorescencias, hoja y raíz) en la investigación del acoplamiento entre HDM y los DRP. Analizando la viabilidad del uso de la IV en la modificación de la composición y la estructura de las mismas.

2. Diseño de experiencias

Las experiencias se llevaron a cabo siguiendo la metodología descrita en el apartado de materiales y métodos.

Caracterización fisicoquímica de las matrices vegetales

Se determinaron los parámetros fisicoquímicos: actividad del agua (a_w), densidad (kg/m^3), sólidos solubles ($^\circ\text{Brix}$), pH, humedad y porosidad. Siguiendo los procedimientos descritos en el apartado 2.1, del capítulo materiales y métodos.

Las hortalizas estudiadas se acondicionaron homogeneizándolas en Ultraturrax T-25 a 8000 rpm para su posterior análisis.

Las determinaciones se realizaron por triplicado.

Estudio y caracterización de las matrices vegetales durante la IV

Se estudió la viabilidad del uso de la IV para modificar la composición de endibia, brócoli, coliflor y zanahoria. El estudio incluyó para cada hortaliza, el tratamiento siguiente:

- Presión de 50 mbar y atmosférica.
- Tiempo de 10 minutos en ambas etapas.

Siguiendo los procedimientos descritos en los apartados 1 y 3 de materiales y métodos, se prepararon las muestras las cuales se impregnaron con una disolución isotónica de sacarosa, con la finalidad de obtener los parámetros característicos de la IV (deformaciones, impregnaciones y porosidad efectiva).

En el caso de la endibia se estudió, además, la influencia del material vegetal (hoja o pella) sobre la operación de IV para modificar su composición, considerando la forma habitual de presentación.

Se determinó además la tasa respiratoria de las hortalizas estudiadas y su coeficiente de respiración a 5 y 20 °C, para establecer si el proceso de IV causó algún tipo de modificación sobre el mismo.

Análisis estadístico

Para el análisis de resultados se utilizó el programa Statgraphics Centurion XV. Las determinaciones fisicoquímicas, se analizaron mediante la aplicación de un ANOVA unifactorial, para cada parámetro por separado y para cada hortaliza en estudio

Se analizó el efecto de la IV sobre los parámetros de HDM – DRP, utilizando un diseño que consideró cada parámetro de forma independiente aplicando un análisis de la varianza (ANOVA) de factores categóricos.

La TR y CR, para muestras frescas e impregnadas, se analizó para cada hortaliza y cada temperatura de ensayo mediante un análisis de la varianza unifactorial.

3. Caracterización fisicoquímica de las hortalizas

Un factor muy importante en el proceso de impregnación a vacío lo representa el tipo, forma y estado de la matriz vegetal (Gras, 2001; Fito et al., 2001). El presente trabajo, identifica desde su inicio los parámetros físicos característicos de las hortalizas objeto de estudio, seleccionadas a criterio visual de la investigadora tratando de que siempre presentaran un estado y grado de madurez similar.

Los valores medios (\pm desviación estándar) de las propiedades fisicoquímicas de las hortalizas estudiadas se observan en la tabla IV.1.1. En la mayoría de los casos los valores de la desviación estándar son bajos, reflejando la homogeneidad de las muestras utilizadas.

Tabla IV.1.1. Caracterización fisicoquímica de las matrices vegetales.

Parámetros	Endibia	Brócoli	Coliflor	Zanahoria
Humedad ⁽¹⁾	96,1 \pm 0,2	90,3 \pm 0,3	90,4 \pm 0,3	88,7 \pm 0,3
aw	0,995 \pm 0,003	0,990 \pm 0,003	0,993 \pm 0,003	0,993 \pm 0,003
pH	5,85 \pm 0,02	6,50 \pm 0,09	6,56 \pm 0,03	6,31 \pm 0,04
Brix ⁽²⁾	3,93 \pm 0,06	9,1 \pm 0,5	9,0 \pm 0,13	8,6 \pm 0,3
Densidad real ⁽³⁾	1015 \pm 7	1037 \pm 4	1037 \pm 5	1044 \pm 7
Densidad aparente ⁽³⁾	1011 \pm 3	866 \pm 2	995 \pm 5	1030 \pm 2
Porosidad(%)	n.d.	16 \pm 2	n.d.	n.d.

(1) en % base húmeda; (2) porcentaje p/p; (3) kg/m³ a 20 °C; n.d.= no detectable

Respecto a la determinación de humedad, la endibia presentó un mayor valor respecto de las otras hortalizas estudiadas; debido a que está formada por una sección media ancha o limbo, abundante en

parénquima acuífero (Figura IV.1.1) y una pequeña hoja de estructura similar, lo cual le provee de un aspecto succulento.

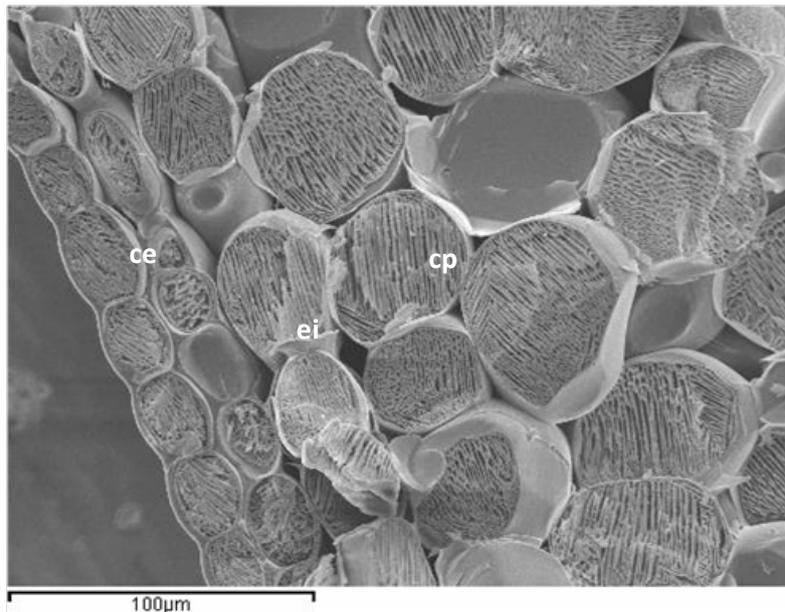


Figura IV.1. 1. Tejido de endibia fresca, limbo de la hoja, se observa la zona externa con células epidérmicas (ce) y en la zona interna células parenquimáticas (cp) y espacios intercelulares (ei).

Los valores de actividad de agua son bastante homogéneos y acordes a los esperados en tejidos vegetales, puesto que la disponibilidad de agua en ellos es elevada.

Coliflor y brócoli morfológicamente, presentan una estructura de corimbo, que corresponde a un conglomerado de tallos preflorales, cortos, gruesos, y ápices vegetativos indiferenciados que se hacen succulentos. En el caso del primero, compacta esférica, formada por pedicelos y botones florales apelmazados; en el brócoli tiene una

disposición menos densa con pedúnculos más largos, como se observa en la figura IV.1.2. Así mismo, la zanahoria, es una raíz suculenta, especializada como órgano de almacenamiento por la abundancia de parénquima, almacena sacarosa y otros azúcares de reserva en su floema y su xilema secundarios. Por tanto presentaron un mayor contenido en sólidos solubles ($^{\circ}$ Brix), debido a su función de acumular sustancias de reserva.



Figura IV.1.2. Inflorescencias de brócoli (izquierda) y coliflor (derecha).

La densidad real de las hortalizas (ρ_r) que es la que presenta el producto una vez eliminado el aire de los poros, no pudo ser determinada por la metodología descrita en el apartado de materiales y métodos debido a la alta compactación natural de los tejidos. Por tanto, se calculó a partir de la fracción másica de agua (X_w) de cada matriz vegetal con la ecuación IV.1.1 (Lewis *et al.*, 1993).

$$\rho_r = 1590 \cdot (1 + 0,590 \cdot X_w)^{-1} \quad \text{Ec. IV. 1.1}$$

Los valores obtenidos de porosidad, una propiedad importante de destacar, indicaron que el brócoli es la única hortaliza, de las estudiadas, con espacios vacíos susceptibles de impregnar. Las demás hortalizas poseen una estructura porosa vacía no significativa; por tanto los niveles de impregnación obtenidos en ellas se deberán a la sustitución de líquido nativo por disolución externa.

La figura IV.1.3 (superior) corresponde a tejido obtenido del tallo floral del brócoli fresco, en ella se observan numerosos espacios intercelulares en toda la estructura, entre las células parenquimatosas. La situación se repitió al observar tejido del componente floral los espacios intercelulares aparecen vacíos, es decir, se encontrarían llenos de gas. Se puede confirmar el valor de porosidad obtenido experimentalmente para esta hortaliza, debido a la presencia de estos numerosos espacios o huecos.

En la figura IV.1.3 (inferior) se observa tejido del tallo de la coliflor fresca, las células parenquimáticas se disponen en una estructura compacta, dejando lugar a espacios intercelulares diminutos o inexistentes.

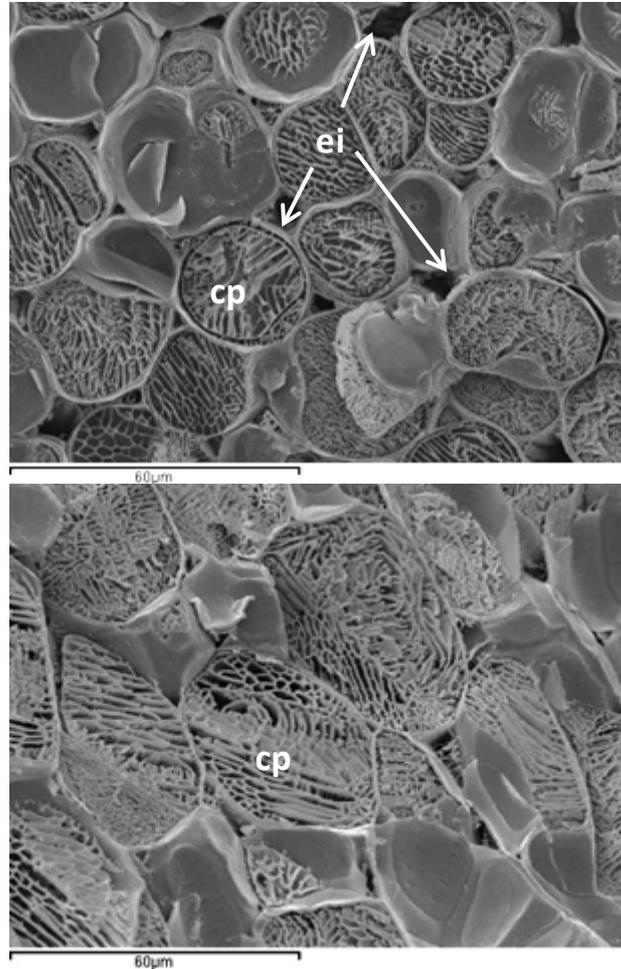


Figura IV.1.3. En la parte superior, tejido de brócoli fresco zona interna del tallo floral se diferencia claramente los espacios intercelulares (ei) entre las células parenquimatosas (cp).En la parte inferior tejido de coliflor fresca, cp empaquetadas no se observan ei.

En el proceso de caracterización del material vegetal se consideró observar y cuantificar la tasa de respiración de las hortalizas en estudio, para valorar la vida útil del producto vegetal y, a través del coeficiente respiratorio, su estado metabólico. Los valores obtenidos fueron la

referencia para estudiar el efecto de la IV sobre la respiración de las matrices vegetales.

Se determinó, por tanto, la tasa de respiración (TR) en base al oxígeno consumido y la TR en base al dióxido de carbono producido, expresando los resultados en mL O₂/kg·h y mL CO₂/kg·h para cada caso.

Este parámetro (TR) se ve afectado por factores internos tales como, estado de madurez y patologías preexistentes, y factores externos siendo el más importante la temperatura. Por tanto, se observó el comportamiento de las muestras a 5 y 20 °C. En la figura IV.1.4 se representa la tasa de respiración para las distintas hortalizas en función del consumo de oxígeno y producción de dióxido de carbono, a las temperaturas estudiadas (5 y 20 °C).

Para analizar la TR de las hortalizas frescas en estudio, se siguieron los pasos descritos en el apartado 5 de material y métodos. Se introdujo en el sistema cerrado las muestras frescas (alrededor de 50 g), manteniendo los frascos de cristal herméticos a dos temperaturas durante el ensayo, 5 y 20 °C. En base a los valores obtenidos para la producción de CO₂ (TR CO₂) y consumo de O₂ (TR O₂), se obtuvo el cociente respiratorio.

Las hortalizas, como cualquier organismo vivo, mantienen actividad respiratoria aún después de haber sido cosechadas, sobre esta actividad influyen factores entre ellos la temperatura. La temperatura ejerce una influencia importante sobre el consumo de oxígeno y la producción de dióxido de carbono, se observó un aumento,

estadísticamente significativo, de la TR al mantener las muestras a temperatura ambiente durante el ensayo ($P < 0,01$) (Anexo 3).

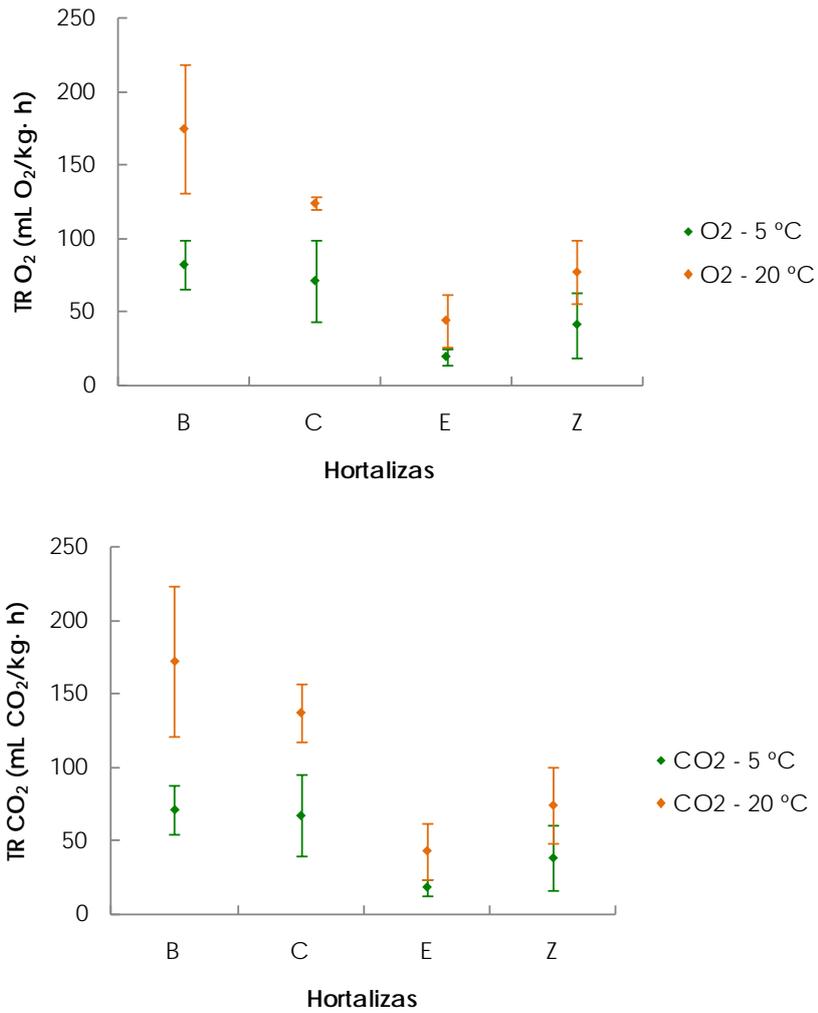


Figura IV.1. 4. Tasa respiratoria en función del consumo de O₂ y la producción de CO₂ para brócoli (B), coliflor (C), endibia (E) y zanahoria (Z).

Las matrices vegetales elegidas para el estudio presentaron diferencias, estadísticamente significativas ($P < 0,01$), en los valores de TR; derivadas de las diferencias propias de la estructura vegetativa u órgano que pertenecen. Los diversos órganos ó estructuras botánicas, se especializan en cuanto a su capacidad para almacenar los productos de la fotosíntesis (fotosintatos).

El origen y naturaleza de los tejidos (meristemático o vegetativo) del producto determina el mayor o menor incremento de la tasa respiratoria en función del aumento de temperatura. Así por ejemplo los tallos tendrán una mayor tasa respiratoria que las hojas cuando hay un incremento de temperatura.

Brócoli y coliflor, ambas inflorescencias ricas en fibra y con abundante tejido meristemático, poseen una alta TR. De ellos, el brócoli ha reportado valores entre 109 – 164 mL CO₂/kg h, mantenidos a 20 °C. Presentan un período inicial, 48 hrs después de la cosecha, muy activo que va disminuyendo al transcurrir los días de almacenamiento (Brash y Liu, 1998; King y Morris, 1994).

La endibia que se consume como hoja, es una particularidad dentro de estos órganos puesto que su producción es forzada y sometida a condiciones específicas, entre ellas la falta de luz y temperatura controlada de 8 a 14 °C para limitar el crecimiento del ápice, y posteriormente conservadas entre 1 y 10 °C. Esto influye en el desarrollo de sus procesos metabólicos, se observó, en el ensayo realizado, que de las hortalizas estudiadas, es la que presenta menor TR debido principalmente a la inmadurez de sus órganos fotosintéticos y por ende falta de fotosintatos (Leteinturier *et al.*, 1999; Mazliak, 1976).

La zanahoria, como estructura subterránea especializada en el almacenaje de sustancias, presentó una TR menor en comparación a las inflorescencias debido a que los órganos de reserva respiran menos activamente que los demás tejidos presentes en los vegetales y son tejidos de reserva de compuestos sintetizados en otros órganos de la planta.

Las variaciones de la tasa de respiración que se observaron de una hortaliza a otra, también se pueden deber a su contenido de agua, ya que el agua de imbibición es una materia inerte que no respira (Esau, 1976; Mazliak, 1976).

El cociente respiratorio (CR), valor adimensional, indica cualitativamente qué tipo de metabolito se emplea para la obtención de energía y la mantención de vida en la matriz vegetal. Considera valores para los ácidos orgánicos mayores que 1, para los hidratos de carbono iguales a 1 y para los lípidos menores que 1.

Los CR para las distintas hortalizas estudiadas a las dos temperaturas de ensayo (figura IV.1.5), se aproximaron a 1, dado la naturaleza de las hortalizas cuyo contenido principal son los carbohidratos. Se debe considerar que una hortaliza, así como cualquier planta, rara vez consume sólo un tipo de sustrato respiratorio, pero este indicativo experimental permite valorar la situación desarrollada durante el proceso específico en estudio y bajo las condiciones establecidas.

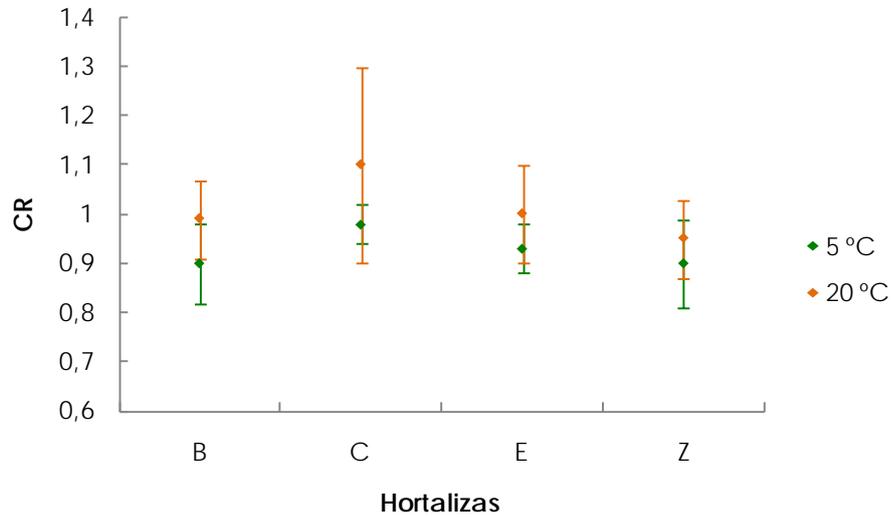


Figura IV.1. 5. Coeficiente respiratorio para brócoli (B), coliflor (C), endibia (E) y zanahoria (Z).

Respecto a la temperatura se comprobó la influencia de este factor sobre la respiración de las hortalizas en estudio, los valores de la TR (O_2 y CO_2) obtenidos a 20 °C mostraron diferencias estadísticamente significativas de los obtenidos a 5 °C ($P < 0,05$ zanahoria; $P < 0,01$ brócoli, coliflor y endibia).

Muchas de las reacciones enzimáticas que tienen lugar durante el proceso de respiración aumentan exponencialmente al aumentar la temperatura. Toda reducción de la temperatura se traduce en un descenso de la velocidad de respiración. Por tanto los valores del ensayo concuerdan con este efecto, un aumento de 15 °C aceleró prácticamente al doble los valores de la TR.

Los valores de CR no se vieron afectados, sólo el brócoli presentó diferencias significativas para el coeficiente respiratorio entre 5 y 20 °C ($P>0,05$). En general, se obtuvieron valores muy próximos a 1, lo que se traduce en un comportamiento metabólico normal.

4. Estudio y caracterización de las hortalizas

Se caracterizó la respuesta a la impregnación a vacío, mediante la determinación de los parámetros HDM-DPR definidos en el apartado III.2.5.

La tabla IV.1.2. presenta los valores medios y desviaciones estándar de los parámetros característicos de los fenómenos de HDM-DPR obtenidos en la IV para las hortalizas.

Tabla IV.1.2. Valores medios (\pm desviación estándar) de los parámetros característicos de los fenómenos de HDM-DPR obtenidos durante la IV de las hortalizas estudiadas (en %).

Producto	γ_1^{**}	γ_2^{**}	γ^{**}	X_1^{**}	X^{**}	X_2^{**}	ε_{ef}^{**}
Brócoli	-0,6 \pm 0,2 ^a	-2,4 \pm 0,7 ^c	-2,9 \pm 0,6 ^g	-26 \pm 3 ^j	15 \pm 4 ^l	43 \pm 2 ^o	46 \pm 5 ^q
Coliflor	0,6 \pm 0,5 ^a	-3,2 \pm 0,7 ^c	-2,6 \pm 0,6 ^f	-14 \pm 2 ⁱ	-1 \pm 2 ^k	13 \pm 2 ⁿ	16 \pm 2 ^p
Endibia							
• hoja	4 \pm 2 ^b	-4,9 \pm 0,6 ^c	-0,6 \pm 0,6 ^e	-19 \pm 3 ^h	-1 \pm 2 ^k	17 \pm 2 ^m	20 \pm 4 ^p
• pella	3 \pm 0,4 ^c	-3,9 \pm 0,7	-0,8 \pm 0,6	-13 \pm 5	0,4 \pm 2	13 \pm 3	21 \pm 5
Zanahoria	0,7 \pm 0,4 ^a	0,8 \pm 0,8 ^d	-1,5 \pm 0,7 ^g	-11 \pm 3 ⁱ	0 \pm 3 ^k	11 \pm 2 ⁿ	10 \pm 1 ^r

^{*}Dif. Sig. 95% ^{**}Dif. Sig. 99%

a,b,c... letras diferentes señalan diferencias significativas entre los valores

Durante el período de vacío se produce una expansión y salida de gas ocluido en el interior de la estructura vegetal; si existe alguna resistencia del material a esa salida de gas, aumenta el volumen de la muestra si la resistencia mecánica de la estructura lo permite. La endibia experimentó durante la etapa de vacío un aumento de volumen promedio de 4% en hojas y 3% en pella, según la presión utilizada, esto se explicaría por la rápida salida de un volumen importante de líquido nativo (19 y 13% para hoja y pella respectivamente) junto con la expansión del gas, las diferencias entre hoja y pella se puede deber a la estructura rígida y agregada de la pella, la cual no sufre deformación.

En el caso de los otros vegetales estudiados no hay diferencias entre ellos, siendo sus variaciones de volumen más moderadas, a pesar de las importantes salidas de líquido nativo, debido, probablemente a una mayor resistencia del material vegetal a las deformaciones; únicamente en el caso del brócoli se produjo un ligero encogimiento del 0,6% en promedio, justificado por las importantes pérdidas de líquido nativo (26%) y una baja resistencia de la estructura vegetal a esa salida.

Se produjeron pérdidas de líquido nativo muy importantes (valores negativos de X_1). Esto se explica porque en todos los casos el material vegetal está formado, entre otros tejidos, por sistema vascular, lo que implica, además de abundancia de líquido nativo (savia bruta y elaborada), mucha facilidad en la circulación de éste por dicho sistema, lo que posibilita importantes salidas de líquido antes de que se equilibren las presiones.

En la endibia, además, existe una serie de células unidas (laticíferos) del tipo articuladas anastomosadas, es decir consta de tubos

combinados con cadenas similares formando una estructura reticular dentro de los cuales abunda un líquido matriz (látex), los vasos leñosos se observan claramente en la figura IV.1.6 (Esau, 1976).

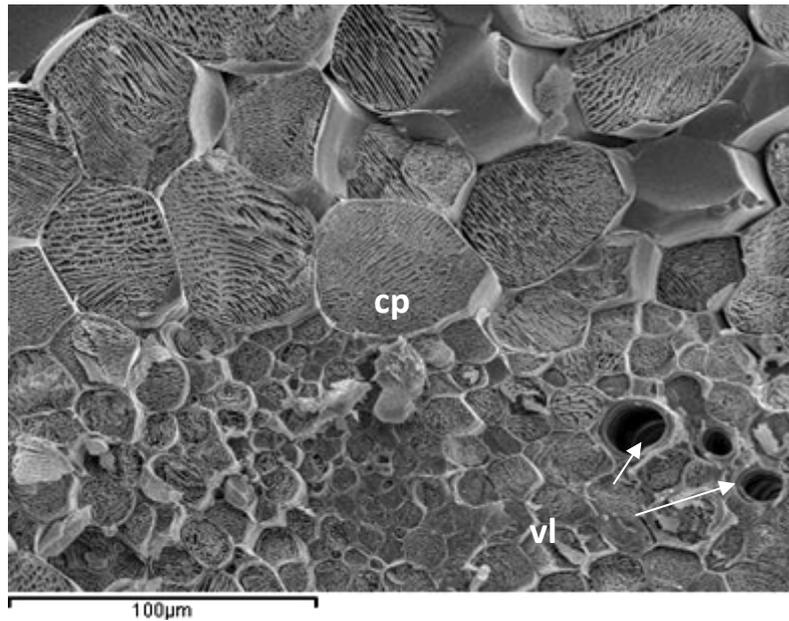


Figura IV.1. 6. Tejido de endibia fresca, zona interna con células empaquetadas sin espacios intercelulares y elementos de los vasos leñosos

La impregnación total con disolución externa (X_2) alcanza un valor promedio de 14% confirman un alto nivel de impregnación, se observó que la elección de endibia en hojas o cogollos muestra una diferencia en los valores de impregnación, esto se explica porque las hojas desprendidas del cogollo tienen expuestos los haces vasculares lo cual facilita la salida de líquido nativo y la posterior entrada de disolución.

La porosidad efectiva ϵ_{ef} , (fracción del volumen inicial) presentada por la endibia es de 21% en cogollo y 15% en hoja.

La coliflor y el brócoli presentaron diferencias significativas, duplicando el brócoli en salida de líquido nativo a la coliflor, pese a tener (al menos aparentemente) una morfología muy similar. Las diferencias entre ambos puede deberse tanto a la porosidad presentada por el brócoli, el grosor de la membrana epidérmica y la distribución de los parénquima en empalizada y esponjoso, la proporción de vasos, como al estado fisiológico, ó más bien al grado de llenado de los vasos, como pasa con la zanahoria (Arroyave, 2006; Gras, 2001). El brócoli posee, además, un meristemo (floral e inflorescencia) menos compacto que la coliflor (ver figura IV.1.2).

Esta salida de líquido nativo es la que permite la impregnación de las muestras con disolución externa pues la matriz vegetal original no tiene, en estas hortalizas, porosidad significativa (es decir huecos llenos de gas), la disolución externa impregna las muestras al ocupar los espacios inicialmente llenos de líquido nativo.

Así, desde el punto de vista del enriquecimiento, el parámetro más importante es esta impregnación "real" con disolución externa (X_2). Los valores obtenidos (brócoli 43%, endibia 17%, coliflor 13%, y zanahoria 11%) confirman un alto nivel de impregnación, en general comparables con la manzana, una matriz altamente porosa, (11,2% a 19%) (Salvatori *et al.*, 1998). Los valores de la zanahoria coinciden con los obtenidos por Gras(2001) y Arroyave(2006). En la figura IV.1.7 se puede observar cómo se agrupan las hortalizas estudiadas en función de la relación los parámetros de impregnación-deformación.

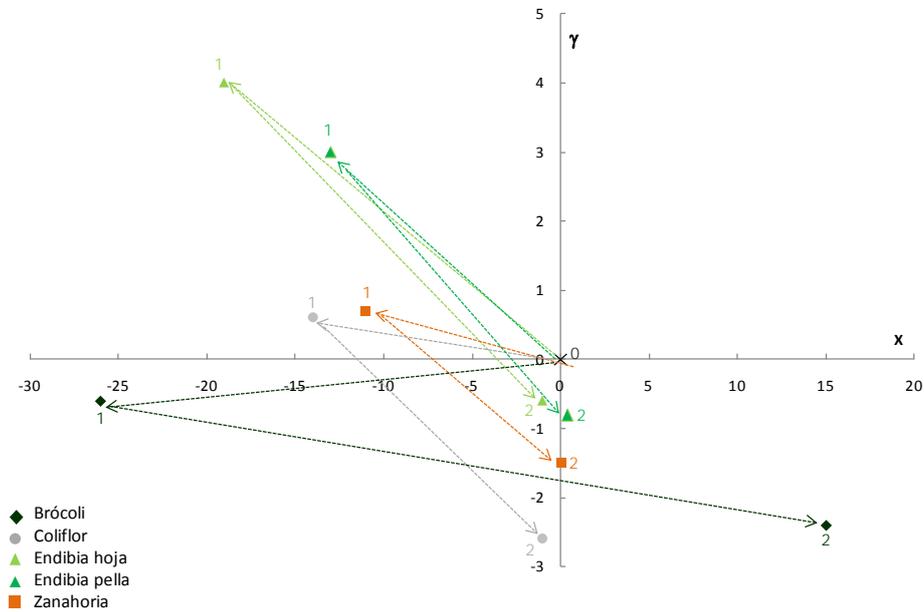


Figura IV.1. 7. Relación entre impregnación y deformación para brócoli, coliflor, endibia y zanahoria, al final de la etapa de vacío (1), al final de la IV (2) y durante la etapa a presión atmosférica (1→2).

La mayor porosidad efectiva ϵ_{ef} , (fracción del volumen inicial accesible a la IV) la presentó el brócoli (46%), seguida de la endibia (20%), coliflor (16%) y zanahoria (10%). La porosidad efectiva es la propiedad que determina la eficacia del proceso de IV ya que evalúa el % en volumen de muestra accesible y/o generado por la IV, si consideramos un producto poco poroso como la papaya ($\epsilon_e = 4\%$), y otro altamente poroso como la manzana ($\epsilon_e = 33\%$) (Mujica-Paz *et al.*, 2003), se observó que el brócoli presentó una porosidad eficaz muy alta. Las demás hortalizas estudiadas presentaron una porosidad efectiva promedio por lo tanto es posible aplicar la IV.

5. Influencia de la IV sobre la tasa respiratoria y coeficiente de respiración del material vegetal

Las hortalizas sometidas al proceso de impregnación pueden sufrir una alteración estructural y fisiológica. Debido a que en el proceso se intercambia el gas presente en los poros por líquido de impregnación, lo que puede afectar los niveles requeridos en la respiración, por tanto, influir en la vida útil de los productos.

La figura IV.1.8 presenta la tasa de respiración, obtenida a 5 °C y expresada en mL O₂/kg h y mL CO₂/kg h para las distintas muestras de hortalizas frescas e IV con disolución de sacarosa.

La tasa de respiración del brócoli se vio afectado significativamente ($P < 0,01$) por la aplicación de la técnica de impregnación a vacío, incrementando su valor aproximadamente al doble. Esta situación indica que el ingreso de la disolución de sacarosa (en sustitución del gas presente en los espacios intercelulares y al líquido nativo, perdido en la etapa de vacío), no favoreció el normal desarrollo de la respiración. Tal hecho se puede explicar por un deterioro en la estructura celular provocado por este intercambio gaseoso y el posterior llenado de los espacios huecos con líquido.

IV. 1. CARACTERIZACIÓN DE BRÓCOLI, COLIFLOR, ENDIBIA Y ZANAHORIA

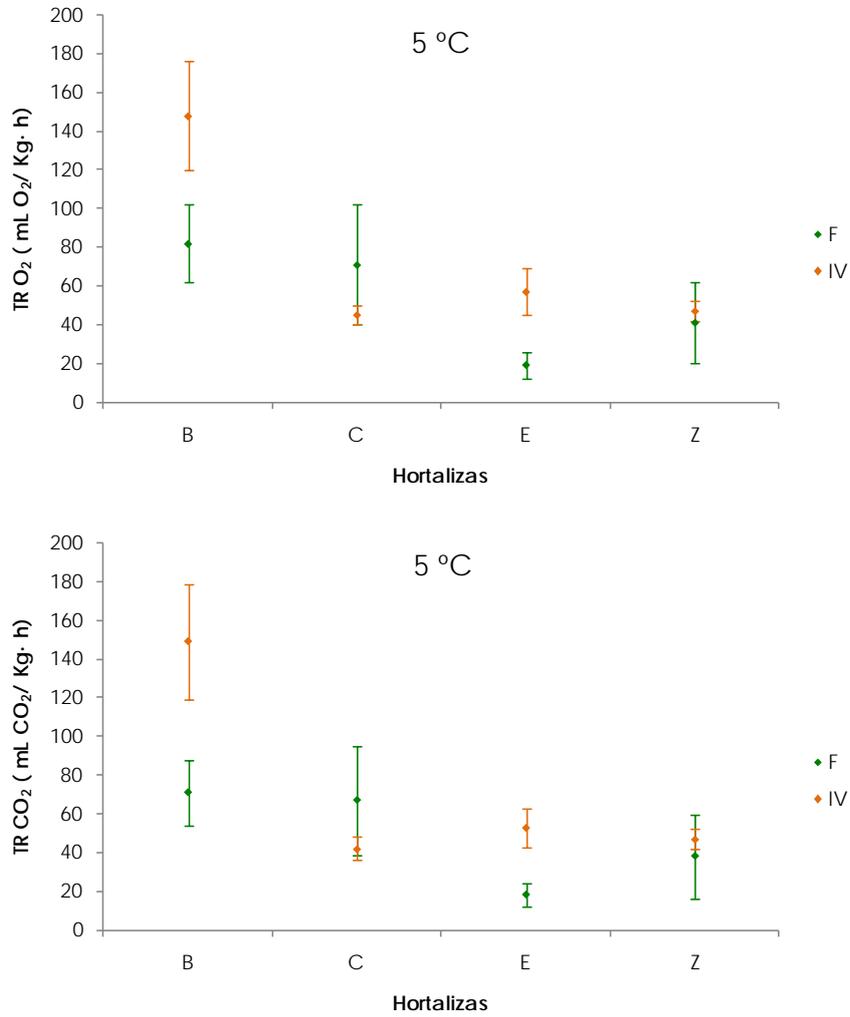


Figura IV.1. 8. Tasa respiratoria en función del consumo de O₂ y la producción de CO₂ para brócoli (B), coliflor (C), endibia (E) y zanahoria (Z), muestras frescas (F) e impregnadas (IV) conservadas a 5 °C durante el ensayo.

Una situación similar se observó en las muestras de endibia, que sufrieron un incremento de aproximadamente 2 veces en las TR de las muestras impregnadas comparadas con las TR de las muestras frescas.

Se deduce que el cambio de líquido nativo por la disolución de impregnación generó un estrés en la estructura de la hoja, por tanto, la sustitución de líquido en los vasos leñosos provocó que TR de esta hortaliza aumentara significativamente ($P < 0,01$).

Coliflor y zanahoria no presentaron diferencias significativas en los valores de las TR para las muestras frescas e impregnadas. La coliflor experimentó disminución del 37% en el valor de la TR, la aplicación de la técnica de impregnación a vacío no afectó la estructura de la hortaliza y además favoreció la conservación de los procesos respiratorios. Para este caso el intercambio de líquido nativo, puesto que la porosidad de la coliflor es despreciable, no generó reacciones adversas en la estructura vegetal y sus funciones.

De las matrices vegetales estudiadas, la zanahoria, no presentó diferencias en el proceso de respiración entre las muestras frescas e impregnadas, la sustitución del líquido nativo, constituido principalmente por azúcares, por la disolución impregnación (sacarosa) no afectó el normal desarrollo de sus procesos metabólicos. Además la estructura rígida de la zanahoria pudo otorgarle resistencia ante la aplicación de vacío y evitar así daños celulares.

En el caso de las muestras conservadas a 20 °C (figura IV.1.9), se observó en las muestras IV un incremento en los valores de la TR, excepto en las muestras de zanahoria. Al parecer la rigidez de la matriz vegetal de la raíz concede una protección adicional a la estructura puesto que no se vio afectada por la aplicación de vacío, la sustitución de líquidos tampoco tiene un efecto negativo puesto que contienen ambos hidratos de carbono simples (azúcares).

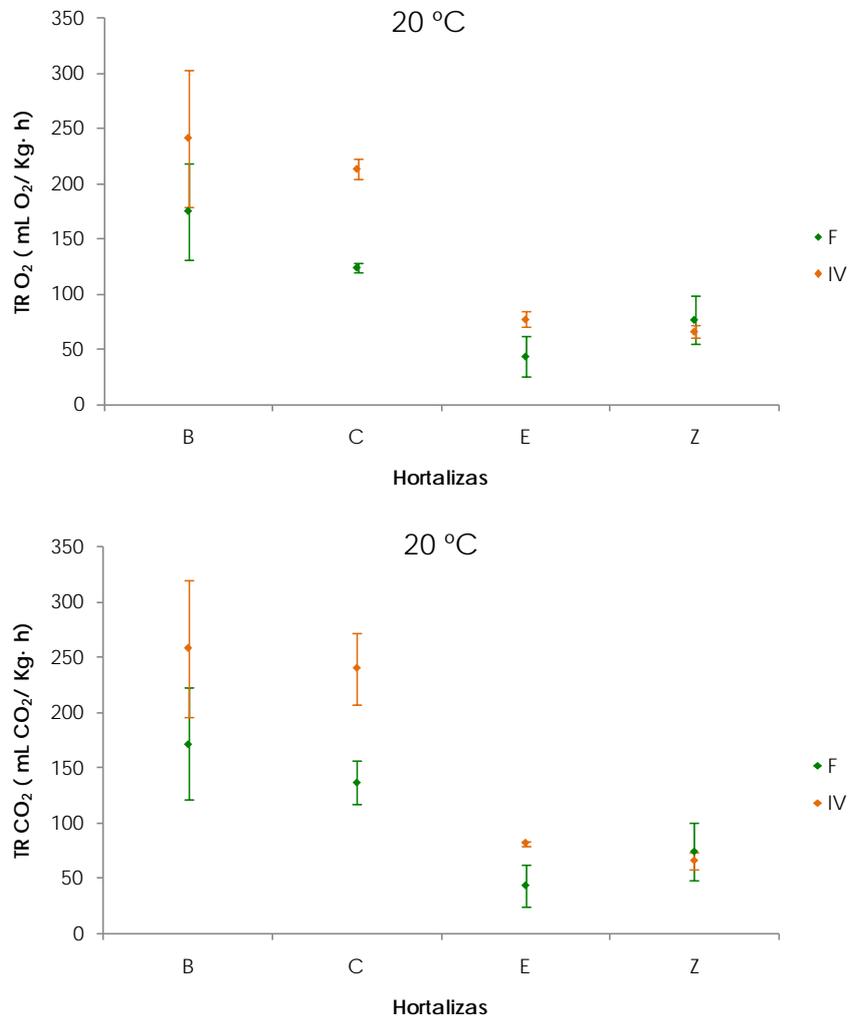


Figura IV.1. 9. Tasa respiratoria en función del consumo de O₂ y la producción de CO₂ para brócoli (B), coliflor (C), endibia (E) y zanahoria (Z), muestras frescas (F) e impregnadas (IV) conservadas a 20 °C durante el ensayo.

La sustitución del gas o líquido nativo por líquido de impregnación, generaron sobre los tejidos un efecto limitante en el intercambio gaseoso, y bajo este principio, la IV represento una barrera a la

respiración. Conclusión aplicable a los tejidos de brócoli y endibia pues mostraron el mismo comportamiento a las dos temperaturas de ensayo.

En el caso de la coliflor el incremento de la TR en las muestras impregnadas a 20 °C pudo deberse a procesos metabólicos propios incrementados por la temperatura, y no concretamente a la aplicación de vacío.

Se observó, en general, que en las muestras refrigeradas se obtuvo una menor TR, para cada hortaliza en estudio, con valores consistentes entre ambos tratamientos, resultado esperado debido al retardo fisiológico que causa la disminución de temperatura en los organismos vivos, como se explico en el apartado 3 de este capítulo.

En la figura IV.1.10 muestra la tasa respiratoria en función del consumo de O₂ y la producción de CO₂ para muestras frescas de brócoli, coliflor, endibia y zanahoria a 5 y 20 °C. Se observó que la temperatura influyó significativamente en la producción de CO₂ y el consumo de O₂, las tasas respiratorias más elevadas las presentaron brócoli y coliflor. Así mismo las muestras impregnadas se vieron influenciadas por la temperatura, la TR aumentó significativamente a 20 °C, además se observó que la IV, en general, aumentó la TR (figura IV.1.11).

IV. 1. CARACTERIZACIÓN DE BRÓCOLI, COLIFLOR, ENDIBIA Y ZANAHORIA

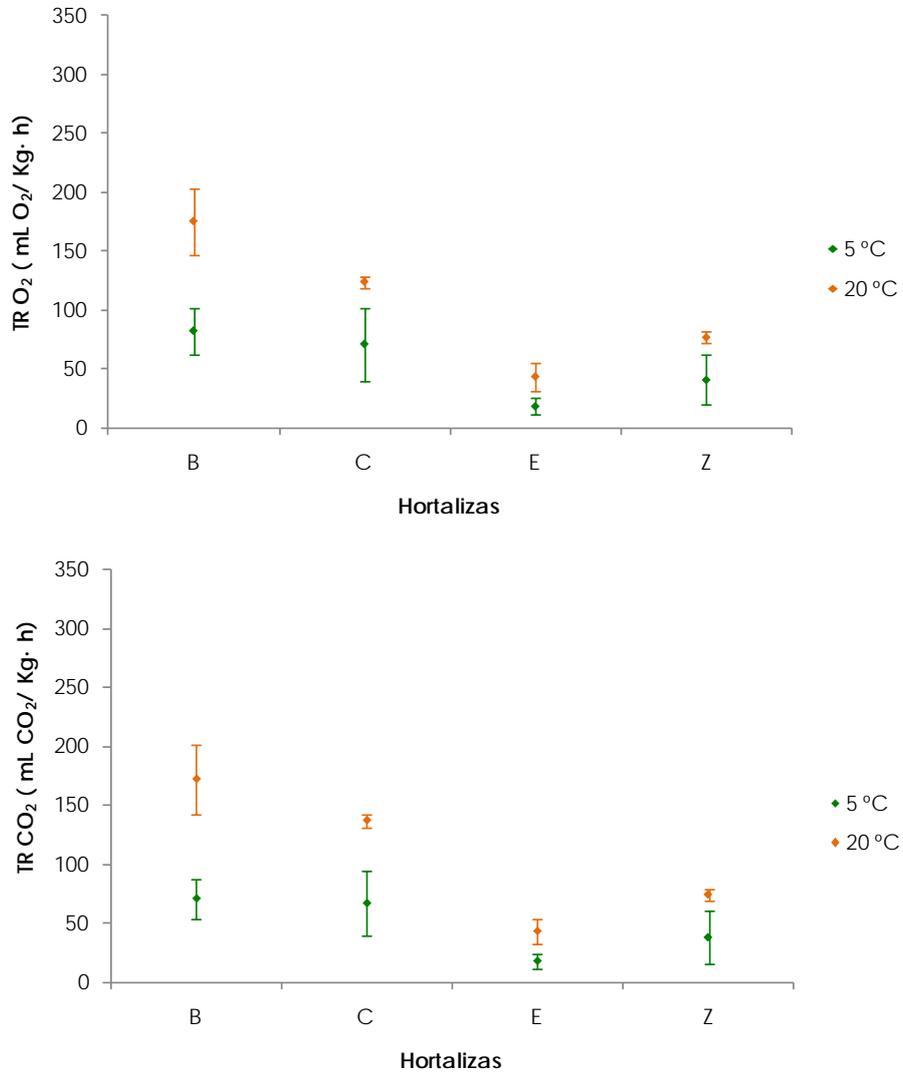


Figura IV.1. 10. Tasa respiratoria en función del consumo de O₂ y la producción de CO₂ para muestras frescas de brócoli (B), coliflor (C), endibia (E) y zanahoria (Z).

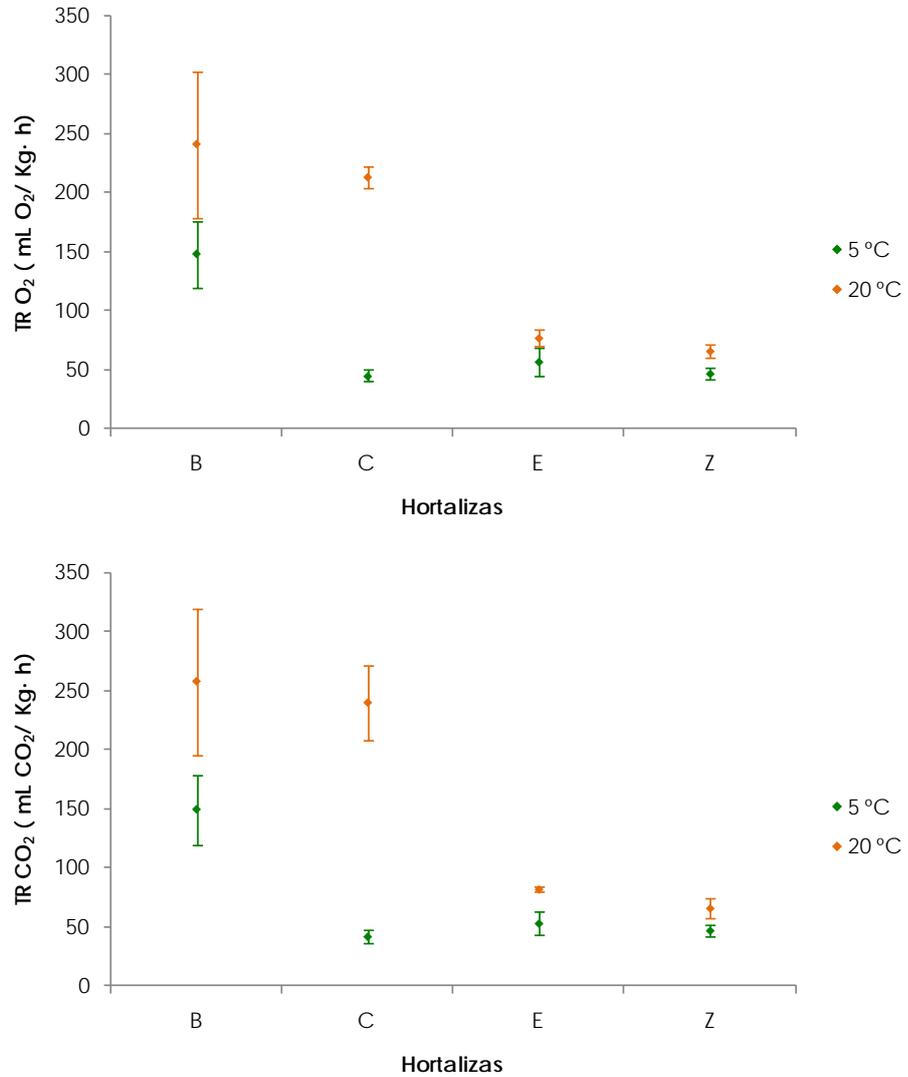


Figura IV.1. 11. Tasa respiratoria en función del consumo de O₂ y la producción de CO₂ para muestras impregnadas de brócoli (B), coliflor (C), endibia (E) y zanahoria (Z).

El cociente entre el dióxido de carbono producido y el oxígeno consumido (CR), se muestra en la figura IV.1.12, para cada hortaliza y a las dos temperaturas de ensayo. Los valores se ubicaron muy próximos a 1, con valores similares para las hortalizas almacenadas a 5 °C durante el ensayo. Para las muestras conservadas a 20 °C se presentó mayor variabilidad, aunque estas diferencias no fueron significativas.

Destacó el caso de la coliflor que presentó una TR elevada a 20 °C para las muestras IV, no siendo así al mantenerlas a 5 °C; el análisis del valor de CR para esta hortaliza se acercó a 1,1 indicando el comienzo de la degradación de ácidos orgánicos. Por tanto, el factor que más influye sobre la respiración parece ser la temperatura y no la aplicación de vacío.

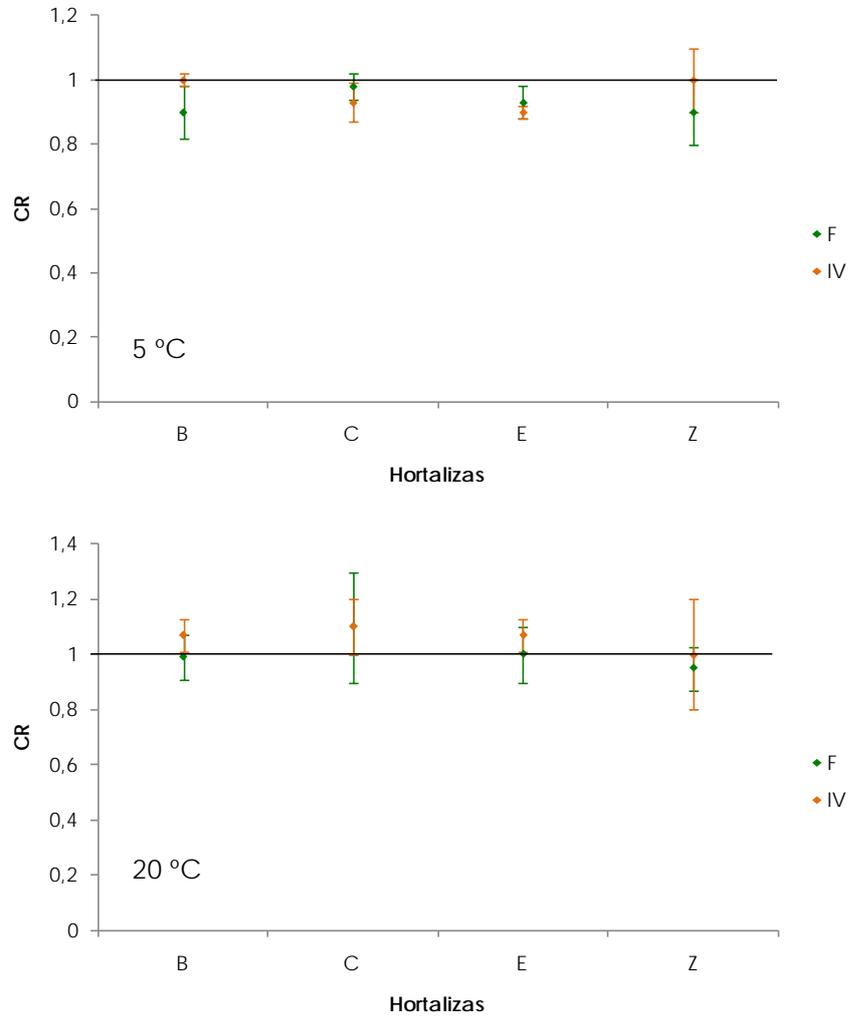


Figura IV.1. 12. Coeficiente respiratorio (CO_2 producido/ O_2 consumido) para brócoli (B), coliflor (C), endibia (E) y zanahoria (Z), muestras frescas (F) e impregnadas (IV). Imagen superior conservadas a 5 e inferior a 20 °C.

En general se observó que la aplicación de vacío sobre la respiración de las estructuras en estudio, afectó significativamente a aquellas que pierden mayor cantidad de líquido nativo (brócoli y

endibia), lo que puede indicar que el cambio de líquidos internos por disolución de impregnación, bajo vacío, provocó un estrés que pudo dañar la estructura celular alterando el normal desarrollo de los procesos de respiración. En el brócoli, además su estructura altamente porosa incrementa la entrada de líquido de impregnación lo que aumentó, al parecer, el nivel de alteración sufrido por las células.

Se verificó la influencia de la temperatura sobre el valor de la TR, efecto ampliamente descrito en diversos estudios (Castelló *et al.*, 2006; Artés *et al.*, 1999; Watada y Qi, 1996; Wiley, 1994).

IV.2. ESTUDIO DE DISPERSIONES ACUOSAS DE GEL DE ALOE VERA EN POLVO

“Las fuerzas que me sostuvieron durante mis largos ayunos, fueron mi inquebrantable fe en Dios, mi estilo de vida simple y frugal, y el Aloe, cuyos beneficios descubrí a mi llegada a Sudáfrica al final del siglo XIX”

Mahatma Gandhi

1. Introducción.

El estudio de la operación de IV requiere el conocimiento de algunas propiedades del medio de impregnación utilizado.

El trabajo de caracterización del comportamiento de un alimento durante la IV se realiza utilizando disoluciones (de sacarosa) isotónicas con el alimento, con el fin de poder asegurar por una parte que el soluto no interacciona con el material vegetal y que el mecanismo hidrodinámico (HDM) es el único responsable de los fenómenos de transferencia de materia que tienen lugar.

En la fabricación de hortalizas enriquecidas en aloe, se van a utilizar dispersiones cuyas propiedades no han sido generalmente determinadas, es por ello que en este capítulo se plantea obtener valores y ecuaciones de predicción de las mismas, en función de su concentración.

Se plantea por tanto el estudio de dispersiones de gel de Aloe vera en polvo (AGS), en concentraciones desde 5 a 100 g/L. en disolución acuosa, a 20 °C. Estudiándose:

La actividad de agua influye sobre los mecanismos de transferencia de masa en la operación de impregnación a vacío. Si la disolución utilizada es isotónica con el material vegetal, sólo la presión aplicada actuará como fuerza impulsora.

La densidad, es fundamental con vistas al planteamiento de los correspondientes balances de materia.

El comportamiento reológico está directamente relacionado con el mecanismo hidrodinámico.

El pH puede afectar a la interacción entre la disolución y la materia prima y a la estabilidad de los medios de impregnación.

La determinación de los grados Brix es muy rápida y sencilla, mientras que la determinación del contenido en aloe es compleja. Por ello, se consideró interesante intentar hallar una ecuación de predicción del contenido en aloe a partir de la determinación de sus grados Brix.

La distribución del tamaño de las partículas de las dispersiones se estudió, ya que buena parte de las propiedades funcionales del aloe están relacionadas directamente con el tamaño de sus moléculas y también con el fin de evaluar las posibilidades de recuperación de los medios de impregnación mediante tecnologías de membrana, donde este conocimiento es fundamental para el diseño de la operación.

Se obtuvieron resultados basados en el volumen y en el número de las partículas presentes en la dispersión, en el intervalo de 2 a 2000 μm en tamaño (diámetro) de esfera equivalente. Los primeros datos (volúmenes) entregaron información sobre las partículas de mayor tamaño, mientras los segundos sobre el número de partículas de un tamaño determinado.

El potencial zeta de la dispersión, pues su valor puede estar relacionado con la estabilidad de la misma. Mediante las características de la suspensión al conocer las interacciones de un coloide, su carga eléctrica y las fuerzas de repulsión electrostática que produce, se determina si la carga es suficientemente elevada para que el coloide permanezca discreto, disperso y en suspensión.

2. Diseño de experiencias

Las dispersiones fueron preparadas siguiendo los pasos descritos en el apartado 1.2 del capítulo materiales y métodos, y sus diferentes características determinadas siguiendo los protocolos descritos en el apartado 2 del capítulo de materiales y métodos.

Las concentraciones de gel de Aloe vera en polvo (AGS) estudiadas fueron: 5, 10, 15, 30, 50 y 100 g/L.

3. Resultados experimentales.

Los valores obtenidos para las propiedades fisico-químicas estudiadas se presentan en la tabla IV.2.1.

Tabla IV.2.1. Valores medios (\pm desviación estándar) para propiedades fisicoquímicas de dispersiones acuosas de AGS a 20 °C.

AGS	Parámetros					
	g/L	a_w	Densidad (1)	°Bx (2)	pH	Parámetros reológicos ⁽³⁾
	**	**	**	**	*	
5	0,996 \pm 0,003 ^a	1001,1 \pm 0,2 ^a	0,55 \pm 0,05 ^a	4,08 \pm 0,02 ^a	$\mu=1,27\pm 0,04^a$	
10	0,993 \pm 0,003 ^b	1002,5 \pm 0,4 ^b	1,00 \pm 0,05 ^b	3,95 \pm 0,02 ^b	$\mu=1,29\pm 0,03^a$	
15	0,991 \pm 0,003 ^{bc}	1004,4 \pm 0,3 ^c	1,48 \pm 0,04 ^c	3,73 \pm 0,02 ^c	$\mu=1,31\pm 0,03^a$	
30	0,990 \pm 0,003 ^c	1011,7 \pm 0,2 ^d	2,74 \pm 0,05 ^d	3,66 \pm 0,02 ^d	$\mu=1,45\pm 0,02^a$	
50	0,987 \pm 0,004 ^d	1021,3 \pm 0,2 ^e	4,43 \pm 0,05 ^e	3,26 \pm 0,03 ^e	$\mu=1,99\pm 0,02^b$	
100	0,984 \pm 0,003 ^d	1044 \pm 2 ^f	8,7 \pm 0,2 ^f	3,17 \pm 0,02 ^f	$m=(7,1\pm 0,3)\cdot 10^{-3}$ $n=0,89\pm 0,01$	

(1) kg/m³ a 20 °C; (2) porcentaje p/p; (3) mPa·s = (cP), a 20°C

a,b,c... letras diferentes en la misma columna representan diferencia estadísticamente significativas a *95%; ** 99%

3.1. Actividad del agua (a_w)

Los valores de actividad de agua de las distintas disoluciones estudiadas presentaron diferencias significativas a un nivel de confianza de 99%, excepto los valores de AGS 10 y AGS 15 y los valores de AGS 15 y AGS 30.

La figura IV.2.1 presenta los valores medios de actividad de agua para las dispersiones de AGS en las concentraciones estudiadas.

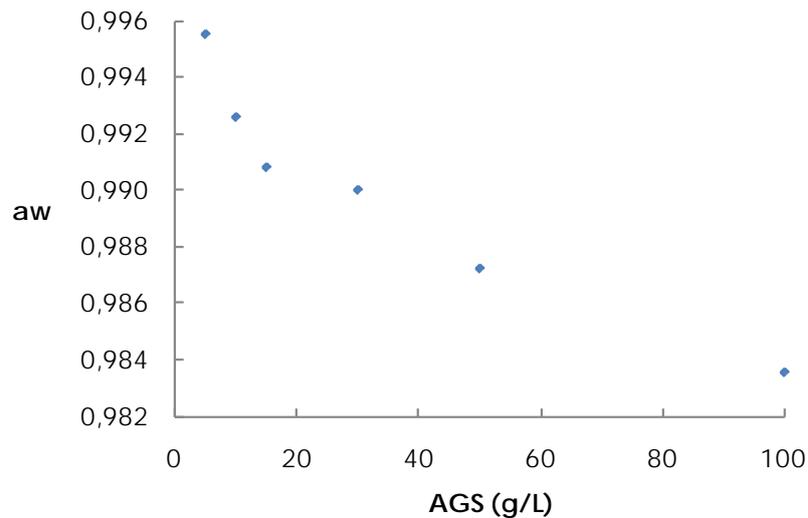


Figura IV.2. 1. Relación de a_w - concentración de dispersiones acuosas de AGS.

a). Modelo lineal general

Para analizar la forma en que la concentración de AGS afecta los valores de a_w , se utilizó el método de mínimos cuadrados, mediante una regresión lineal simple del tipo:

$$a_w = a + b \cdot (C_{AGS}) \quad \text{Ec. IV. 2.1}$$

El programa estadístico Statgraphics Centurion XV, nos permitió evaluar los parámetros "a" y "b" de la regresión. Obteniéndose los valores siguientes:

$$\left| \begin{array}{l} a = 0,994 \pm 0,001 \\ b = -0,00011 \pm 0,0002 \\ C_{AGS} = \text{Concentración AGS g/L} \end{array} \right.$$

La relación fue estadísticamente significativa para un nivel de confianza del 99%, con un coeficiente de determinación $R^2=0,839$, y un error estándar de la estimación de 0,002, valor menor al error atribuible al equipo de medida. El coeficiente de correlación es igual a -0,916, indicando una relación relativamente fuerte entre las variables.

Para disponer de una relación entre las diferencias entre los valores predichos y experimentales, se calculó el error relativo de la predicción con la expresión:

$$\% \text{ Error} = \frac{a_w \text{ predichho} - a_w \text{ experimental}}{a_w \text{ experimental}} \cdot 100 \quad \text{Ec. IV. 2.2}$$

En la figura IV.2.2 se observan los resultados del %error, y señala que en todos los casos es inferior a $\pm 0,3\%$.

La diferencia entre los valores predichos y los valores experimentales se observa en la figura IV.2.3, alcanza un valor de 0,003, equivalente al error inherente al equipo experimental.

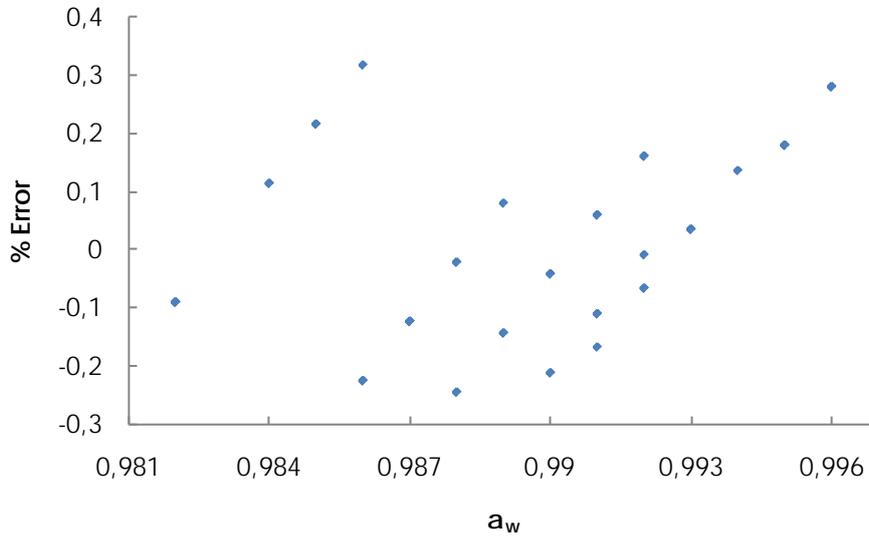


Figura IV.2. 2. Ajuste de la regresión lineal. % Error.

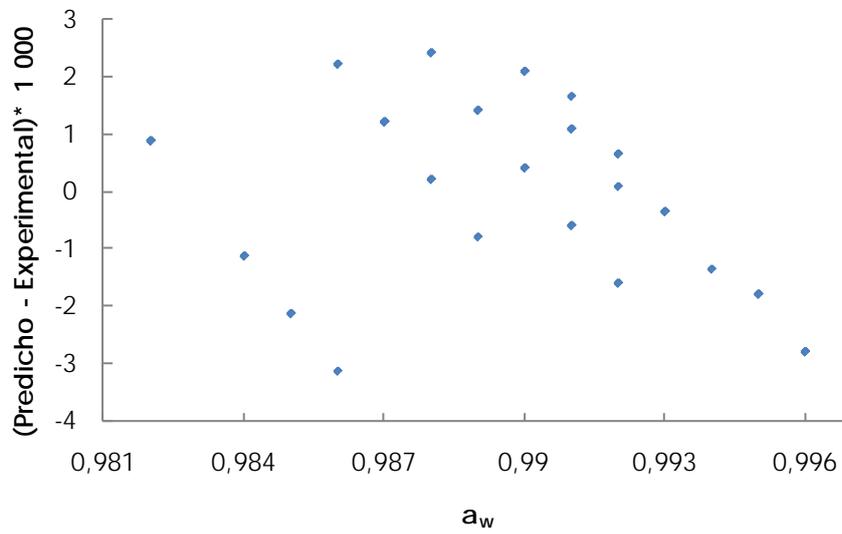


Figura IV.2. 3. Ajuste de la regresión lineal. a_w Predicho - a_w Experimental.

b). Modelo de Raoult

El modelo de Raoult puede utilizarse en disoluciones binarias diluidas que se comportan idealmente. Para este modelo la a_w coincide con su fracción molar de agua, como se describe en la ecuación IV.2.3:

$$a_w = \frac{P_w}{P_w^0} = X_w = \frac{n_w}{n_w + n_s} \quad \text{Ec. IV. 2.3}$$

$$a_w = X_w \quad \text{Ec. IV. 2.4}$$

Se ha comprobado que permite predecir con precisión la a_w de disoluciones diluidas de solutos de bajo peso molecular, por ejemplo, disoluciones hasta 4 molar de glucosa, 2 molar de sacarosa y hasta 1 molar de electrolitos.

El error relativo de la predicción oscila entre 0,4 y 1,8%. Sin embargo el test de la 1ª bisectriz demuestra que los valores predichos por la ecuación IV.2.4 difieren significativamente ($P < 0,01$) de los valores experimentales (figura IV.2.4), por lo que este modelo no se considera adecuado.

La concentración de AGS, en la dispersión, no sobrepasa los $1,22 \cdot 10^{-06}$ molar, aunque su peso molecular es de 1 562 kDa. Se comprobó que aunque este modelo se ajusta adecuadamente a disoluciones acuosas de comportamiento ideal, en este caso el tamaño del soluto pudo influir en la falta de ajuste observado.

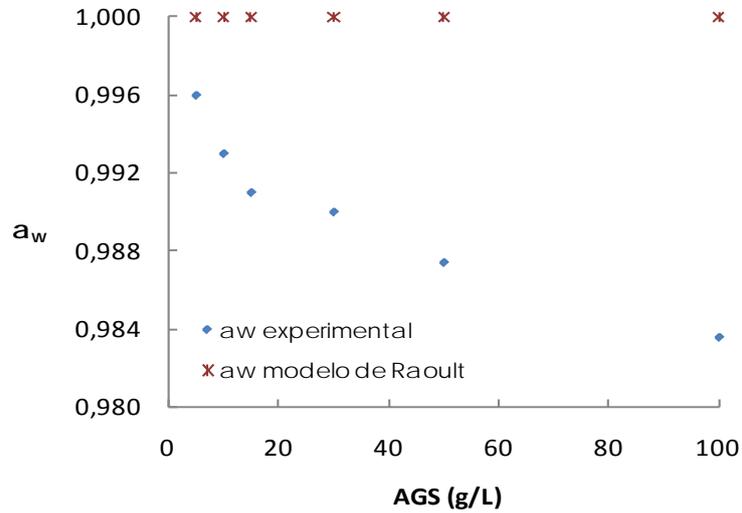


Figura IV.2. 4. Comparación de valores medios de a_w experimentales y a_w obtenidos por el modelo de Raoult.

c). Modelo de Norrish

El modelo de Norrish (1996) supone una modificación del modelo de Raoult, considerando el comportamiento no ideal de los sistemas mediante el coeficiente de actividad de agua, y_w :

$$a_w = y_w \cdot X_w \quad \text{Ec. IV. 2.5}$$

El modelo predice el valor de y_w a partir de la fracción molar de soluto (X_s) mediante la siguiente relación:

$$y_w = \exp(-k \cdot X_s^2) \quad \text{Ec. IV. 2.6}$$

Por tanto la ecuación de Norrish queda:

$$a_w = X_w \cdot \exp(-k \cdot X_s^2) \quad \text{Ec. IV. 2.7}$$

Donde k es un parámetro característico del soluto de la disolución. Es un modelo aplicable a disoluciones de no electrolitos.

Se determinó el valor del parámetro k para el AGS, por regresión lineal, mediante la ecuación:

$$\ln a_w = \ln(1 - X_s) - k \cdot X_s^2 \quad \text{Ec. IV. 2.8}$$

Obteniendo:

$$k = 5 \cdot 10^{12}$$

El error estándar de la asíntota fue de $0,6 \cdot 10^{12}$. El error estándar de la estimación muestra la desviación típica de los residuos que es 0,004. El estadístico $R^2 = 0,704$. El coeficiente de correlación es igual a -0,843, El error absoluto medio (MAE) de 0,003.

Los valores experimentales difieren de los predichos (test 1ª bisectriz). El error relativo oscila entre -0,46 y 1,03. El error absoluto no sobrepasa 0.003.

d). Regresión polinómica general de 2º grado

Se utilizó una ecuación de segundo grado del tipo:

$$a_w = a + b \cdot X_{AGS} + c \cdot X_{AGS}^2 \quad \text{Ec. IV. 2.9}$$

Los valores para los distintos coeficientes con su respectiva desviación estándar, son los siguientes:

$$\left| \begin{array}{l} a = 0,9953 \pm 0,0005 \\ b = - 337352 \pm 41670 \\ c = 2,4 \cdot 10^{12} \pm 0,6 \cdot 10^{12} \end{array} \right.$$

La relación fue estadísticamente significativa para un nivel de confianza del 99%, con un coeficiente de determinación ajustado $R^2 = 0,880$. Con un error estándar de la estimación de 0,001.

El error absoluto medio (MAE) de 0,001. El test de la 1ª bisectriz señala que los valores predichos y experimentales no difieren significativamente con un nivel de confianza del 99%, y el porcentaje de error oscila entre 0,2 y -0,2.

Conclusión: Modelo propuesto

La interacción entre el agua y los componentes del AGS, mayoritariamente hidratos de carbono de gran tamaño, se unen químicamente disminuyendo la presión de vapor de la disolución.

Las disoluciones no ideales, como es el caso, requieren de un coeficiente de actividad de agua que corrija la desviación de la idealidad.

Considerando lo anteriormente expuesto, bondad de ajuste y facilidad de cálculo se propone la ecuación lineal general IV. 2.1 para predecir la a_w de las disoluciones de AGS en el intervalo estudiado.

En la tabla IV. 2. 2 aparecen los datos experimentales junto a los predichos por la ecuación. IV.2.1.

Con posterioridad al análisis de resultados se obtuvo experimentalmente la a_w para disoluciones de AGS 200, se comprobó que a pesar de no intervenir en estos datos en la obtención del modelo de predicción, éste los evalúa con precisión.

Tabla IV.2.2. Valores experimentales y valores predichos calculados con el Modelo Lineal General (a_w a 25 °C).

AGS g/L	Fracción molar AGS g/g agua	a_w		
		Experimental	F. molar	Predicho g/L
5	5,78498e-008	0,996	0,993	0,993
10	6,46696e-007	0,993	0,993	0,993
15	9,73966e-007	0,991	0,992	0,992
30	1,96382e-006	0,990	0,990	0,990
50	3,30673e-006	0,987	0,988	0,988
100	6,80981e-006	0,984	0,983	0,983
200	2,59571e-006	0,973	0,973	0,972

3.2. Densidad

Las densidades relativas de las dispersiones acuosas se obtuvieron siguiendo la metodología descrita en el apartado III.2.1. Los valores se multiplicaron por la densidad del agua a 20 °C (0,998204 g/cm³) para obtener las densidades absolutas de las disoluciones a esta temperatura (tabla IV.2.1).

La figura IV.1.5 muestra la relación entre la densidad y la concentración de las dispersiones de AGS estudiadas.

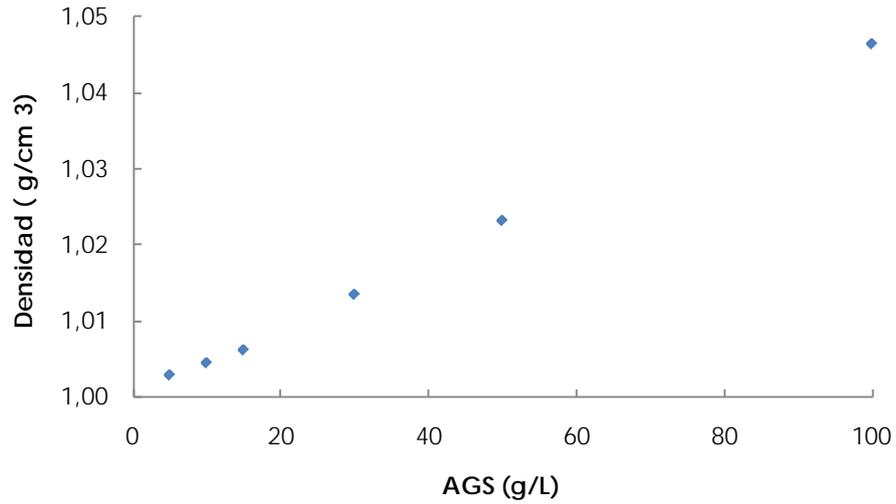


Figura IV.2. 5. Densidad de las dispersiones de AGS a 20 °C.

Para analizar y cuantificar la influencia de la concentración de AGS sobre la densidad de las dispersiones, se realizó una regresión simple con los valores medios de las mismas del tipo:

$$\rho_{predicha} = a + b \cdot C_{AGS} \quad \text{Ec. IV. 2.10}$$

El ajuste realizado permitió estimar los coeficientes de esta regresión.

$$\left| \begin{array}{l} a = 0,9997 \pm 0,0002 \\ b = 0,000466 \pm 0,000004 \\ C_{AGS} = \text{Concentración AGS g/L} \end{array} \right.$$

Ambas estimas resultaron significativas al 95%. El valor obtenido para el coeficiente "a" coincide con el valor del disolvente utilizado (agua a 20 °C).

El estadístico ajustado $R^2 = 0,9980$, el error estándar de la estimación muestra que la desviación típica de los residuos fue 0,0007 y un error absoluto medio (MAE) de 0,0005 (valor medio de los residuos). El coeficiente de correlación es igual a 0,9990, indicando una relación relativamente fuerte entre las variables.

Para disponer de una indicación más práctica de las diferencias entre estos valores, se calculó el valor del % error, según la siguiente expresión:

$$\%Error = \frac{\rho_{predicha} - \rho_{experimental}}{\rho_{experimental}} \cdot 100 \quad \text{Ec. IV.2.11}$$

La figura IV.2.6 muestra que el % de error está acotado entre $\pm 0,10$, lo que resulta totalmente satisfactorio en el contexto de este estudio.

Las diferencias entre $|\rho_{predicha} - \rho_{experimental}|$ son inferiores a $0,002 \text{ g/cm}^3$, como se aprecia en la figura IV.2.7.

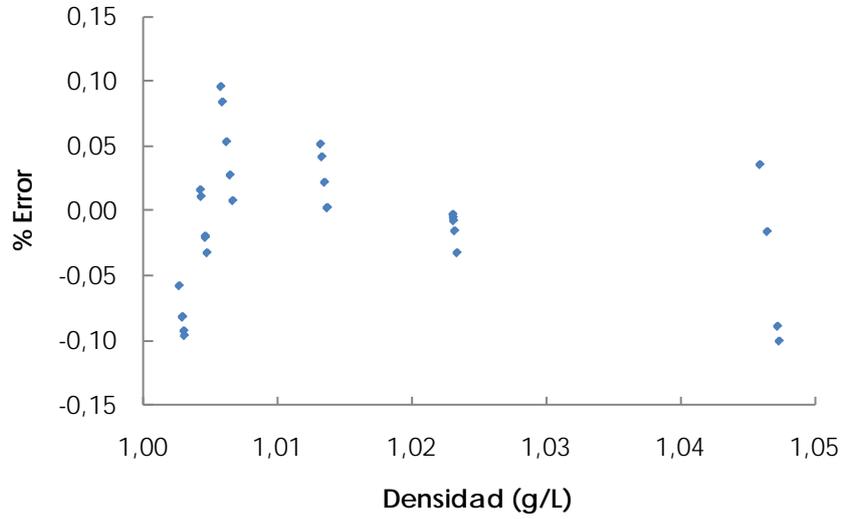


Figura IV.2. 6. % Error para valores de densidad predichas.

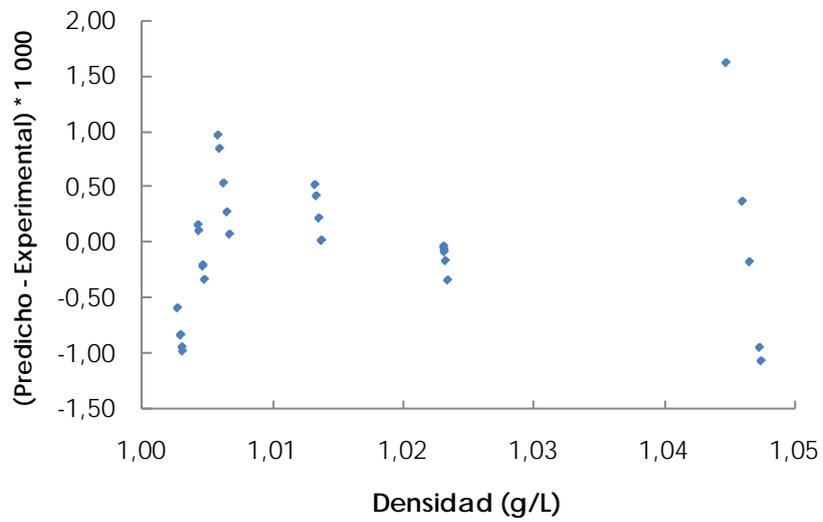


Figura IV.2. 7. Ajuste de la regresión lineal. Densidades Predichas - Experimentales.

Conclusión: Modelo propuesto

La ecuación IV.2.10 es una ecuación de predicción aceptable para el cálculo de densidad de disoluciones de AGS en los niveles de concentración estudiados.

3.3. Comportamiento reológico

Hasta 50 g AGS/L, las dispersiones acuosas de AGS presentan un comportamiento reológico newtoniano, es decir, una relación lineal significativa entre el esfuerzo cortante aplicado (τ) y el gradiente de velocidad producido ($\dot{\gamma}$) como muestra la figura IV.2.8. La constante de proporcionalidad de esa relación es la viscosidad dinámica o absoluta (μ) recogida en la tabla IV.2.1. Cuanto mayor es la concentración en AGS, mayor es la viscosidad absoluta. A 100 g AGS/L, el comportamiento es pseudoplástico, y puede ser descrito mediante el modelo potencial (o de Ostwald de Waele), con dos parámetros, la consistencia m y el índice de comportamiento al flujo n , que toma un valor <1 (Muller, 1978; Sahin y Sumnu, 2006).

El comportamiento reológico de la dispersión podría influir en la resistencia con la que se encuentre el mecanismo hidrodinámico (HDM), pudiendo repercutir sobre la variación de volumen de la muestra durante el proceso de impregnación y sobre el nivel de impregnación.

El comportamiento al flujo de las dispersiones de AGS a diferentes concentraciones se presenta en la figura IV.2.8 (puntos), valores de esfuerzo de corte experimentales obtenidos a 20 °C frente a gradiente de velocidad entre 0 y 75 s⁻¹.

Los datos de comportamiento al flujo obtenidos a todas las concentraciones de trabajo fueron ajustados al modelo de Ostwald de Waele o ley de potencia (Ec.III.7). La Tabla IV.2.8 muestran los valores de los parámetros obtenidos del ajuste de dicho modelo.

Cuando el parámetro n no difiere significativamente de 1, el comportamiento es newtoniano.

Es posible que el comportamiento pseudoplástico se produzca a concentraciones de AGS inferiores a 100 g/L (y superiores a 50 g/L), por lo que sería interesante completar este estudio en el intervalo 50-10 g/L.

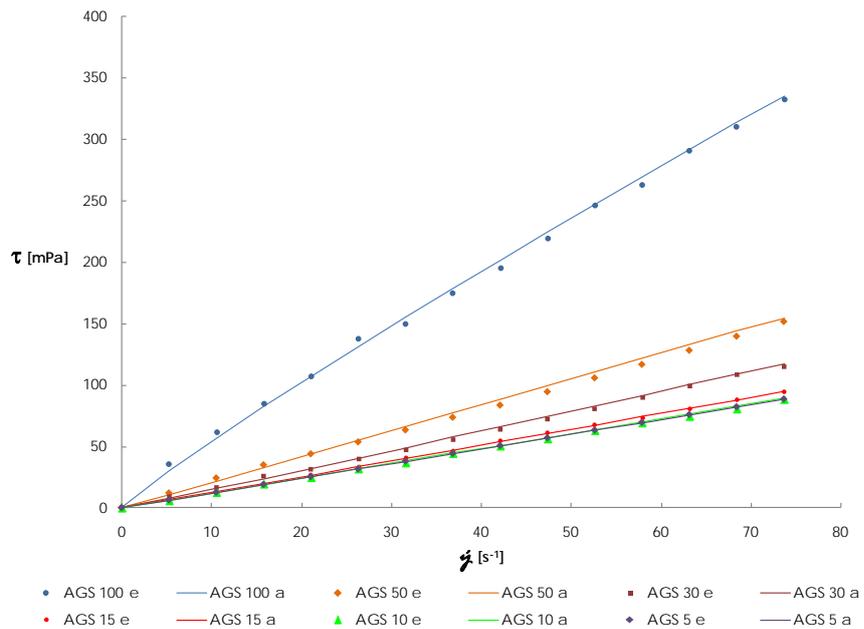


Figura IV.2. 8. Curvas de flujo y ajuste de disoluciones de AGS (e= experimental; a= ajustado).

Tabla IV.2.3. Parámetros del modelo Ostwald de Waele para las dispersiones de AGS las concentraciones estudiadas (g/L disolución) a 20 °C.

AGS g/L	m Pa s ⁿ	n	R ² %
5	0,0012±0,0002	1,00±0,03	99,17
10	0,00121±0,00005	1,00±0,02	99,65
15	0,00123±0,00008	1,01±0,02	99,45
30	0,0014±0,0002	1,03±0,03	98,70
50	0,0021±0,0002	1,00±0,02	99,62
100	0,0071±0,0004	0,89±0,02	99,65

Considerando la viscosidad dinámica del agua, calculada experimentalmente a 20 °C, cuyo valor fue de $(0,9\pm 0,2)\cdot 10^{-3}$ Pa·s se obtuvo el índice de variación (I_{μ}) de μ_{AGS} respecto μ_{H_2O} , expresado en porcentaje. Para las dispersiones de AGS 5, 10, 15, 30, 50 (tabla IV.2.4), se observó un aumento del índice de variación a medida se incremento la concentración de AGS en la dispersión.

Para las dispersiones de AGS 5, 10, y 15 el índice de variación correspondió a aproximadamente al 35%; sin embargo esta variación es mayor al incrementar la concentración de AGS en la dispersión (AGS 30 y 50). Esto se puede explicar por la composición de la dispersión, principalmente de polisacáridos, los cuales absorben agua de la fase acuosa de la dispersión incrementando la viscosidad de la misma, por tanto, es lógico esperar este incremento en I_{μ} al aumentar la concentración de AGS.

Tabla IV.2.4. Índice de variación de μ AGS respecto a μ H₂O (%)

AGS g/L	μ AGS Pa s ⁻¹ · 1000	I_{μ}
5	1,27±0,2	29,1
10	1,29±0,05	30,2
15	1,31±0,008	31,3
30	1,45±0,2	37,9
50	1,99±0,2	54,8

En el caso de la dispersión AGS 100, es decir concentración 100 g/L, se observó un comportamiento pseudoplástico ($0 < n < 1$), lo que implica un decremento de la viscosidad aparente ($\mu = \tau/\dot{\gamma}$) al aumentar el gradiente de velocidad aplicado. Este comportamiento suele estar relacionado con un fenómeno de orientación de las partículas sólidas o macromoléculas en el sentido del flujo tanto más intenso cuanto mayor es el gradiente de velocidad aplicado.

Conclusión: Modelo propuesto

Además de obtener una caracterización del comportamiento de AGS para diferentes concentraciones, el ánimo de este estudio era obtener una ecuación de predicción en función de la composición de las disoluciones; se realizó un análisis de regresión no lineal cuyo objetivo fue encontrar un ajuste de mínimos cuadrados para un modelo no lineal, dado el comportamiento observado en la curva de viscosidad (figura IV.2.9).

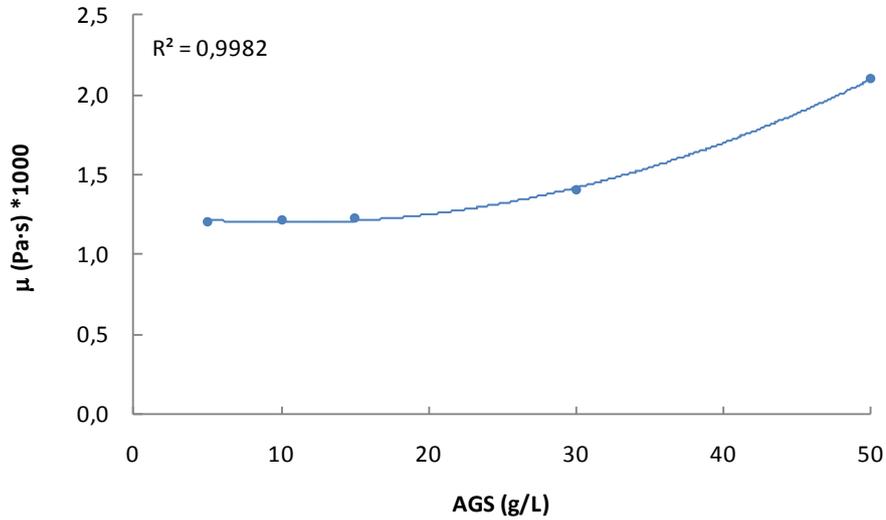


Figura IV.2. 9. Viscosidad dinámica de las disoluciones de AGS 5; 10; 15; 30 y 50 g/L a 20°C, valores experimentales (puntos) y ajuste (línea continua).

Considerando la dependencia de la viscosidad en función de la concentración de AGS se estimó la función siguiente:

$$\mu = A \cdot [AGS]^2 + B \cdot [AGS] + C \quad \text{Ec. IV. 2.12}$$

Donde

- μ = viscosidad dinámica, [Pa·s].
- A,B,C = coeficientes del modelo ajustado
- A = 0,57 (± 0,05) · 10⁻³
- B = - 0,012 (± 0,003)
- C = 1,26 (± 0,03)
- [AGS]= concentración de AGS [g/L], entre 0 y 50 g/L.

El estadístico R² indica que el modelo así ajustado explica 99,82% de la variabilidad en la viscosidad dinámica [Pa·s] de las disoluciones de

AGS. El error estándar de la estimación muestra la desviación normal de los residuos de 0,02.

Los resultados indicaron un % de error acotado en el intervalo $\pm 1,6\%$, y los valores para $|\mu_{\text{predicho}} - \mu_{\text{experimental}}|$ son inferiores a $0,02 \cdot 10^{-3}$ Pa-s, lo que resulta satisfactorio en el contexto de este estudio.

El test de la 1ª bisectriz señala que los valores predichos y experimentales no difieren significativamente con un nivel de confianza del 99%, y el porcentaje de error oscila entre $-1,8 \cdot 10^{-3}$ y $1,2 \cdot 10^{-3}$.

3.4. pH

El valor medio del pH de la planta en estado natural es de 4,5 (Atherton, 1998); por tanto los valores obtenidos en las dispersiones acuosas se distribuyeron en un rango ácido disminuyendo el pH al aumentar la concentración de AGS.

Como se observa en la figura IV.1.15, el pH disminuye conforme aumenta la concentración del soluto. Es un comportamiento esperado ya que el valor de pH declarado por el proveedor se encuentra en el rango de 3,5 a 5,0. Es decir, se trata de un soluto ácido.

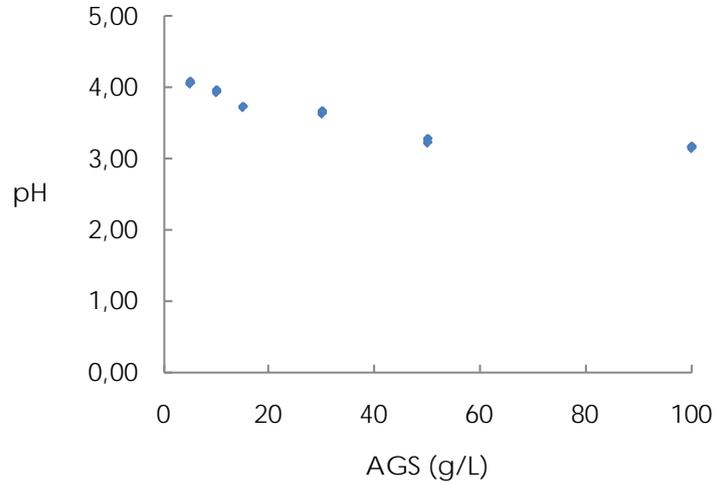


Figura IV.2. 10. Valores medios de pH para disoluciones de AGS.

a). Ajuste de la curva

Utilizando el programa estadístico Statgraphics Centurion XV, se realizó un ajuste de la curva comparando los modelos alternativos que concordaban con el comportamiento descrito para el pH en función de la variación de concentración de AGS, expresada en g/L. El ajuste al modelo logaritmo-X, describe dicha relación. La ecuación del modelo ajustado es:

$$pH = - 0,319508 \cdot \ln C_{AGS} + 4,63428 \quad \text{Ec. IV. 2.13}$$

El estadístico R-cuadrado indica que el modelo explica un 94,312% de la variabilidad en pH. El coeficiente de correlación es igual a - 0,971144, indicando una relación relativamente fuerte entre las variables. El error estándar de la estimación muestra la desviación típica

de los residuos que es 0,08. El error absoluto medio (MAE) de 0,064945 es el valor medio de los residuos.

Conclusión

La expresión del modelo ajustado obtenido por el estadístico Statgraphics coincide con la ecuación que se deduce de la definición de pH de una disolución acuosa (Ec. IV.2.14).

$$pH = \pm a \cdot \text{Log} [H^+] + b \quad \text{Ec. IV. 2.14}$$

Al comparar los valores obtenidos por el ajuste y los valores experimentales, mediante una regresión lineal simple, se comprobó que existe una relación estadísticamente significativa entre pH_{predicho} y $pH_{\text{experimental}}$, para un nivel de confianza del 99%.

En la tabla IV.1. se presenta una comparación de los datos obtenidos experimentalmente y los predichos por la ec.IV.1.17.

Los resultados señalan que el % de error está acotado en el intervalo $\pm 4\%$, y los valores para $|pH_{\text{predicho}} - pH_{\text{experimental}}|$ son inferiores a 0,12 unidades de pH.

Por tanto se propone la ecuación IV.1.17 para la predicción del pH de las disoluciones de AGS en las concentraciones estudiadas.

Tabla IV.2.5. Valores experimentales y predichos con el % de error correspondiente para disoluciones de AGS (pH a 25 °C).

AGS	X _{AGS}	pH Experimental	pH Predicho	% Error
5	5,78498e-008	4,08	4,12	1,16
10	6,46696e-007	3,95	3,90	-1,39
15	9,73966e-007	3,737	3,769	0,85
30	1,96382e-006	3,66	3,55	-3,10
50	3,30673e-006	3,26	3,38	3,59
100	6,80981e-006	3,17	3,16	-0,32

3.5. Sólidos solubles (Brix)

Los sólidos solubles de las disoluciones se obtuvieron siguiendo la metodología descrita en el apartado III.2.1. Los valores medios se observan en la figura IV.2.11. La relación entre °Brix e IR de las disoluciones es lineal, por lo cual se comentaran los resultados obtenidos expresados en °Brix, estos conducirán a conclusiones similares para IR.

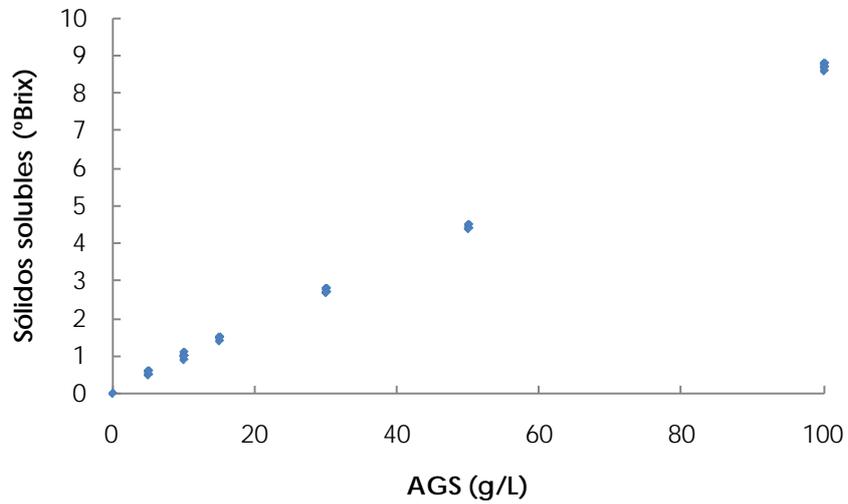


Figura IV.2. 11. Valores medios de sólidos solubles para disoluciones de AGS.

El análisis y cuantificación de la influencia de la concentración del AGS (g/L) sobre los °Brix se realizó mediante una regresión lineal simple, del tipo:

$$^{\circ}Brix = b \cdot AGS \quad \text{Ec. IV. 2.15}$$

El resultado fue el siguiente:

$$^{\circ}Brix = 0,0880 \cdot AGS(g/L) \quad \text{Ec. IV. 2.16}$$

Se comparó los valores obtenidos por este modelo con los experimentales mediante una regresión simple, el análisis comprobó que existe relación estadísticamente significativa entre °Brix Predicho y °Brix Experimental para un nivel de confianza del 99% (figura IV.2.12).

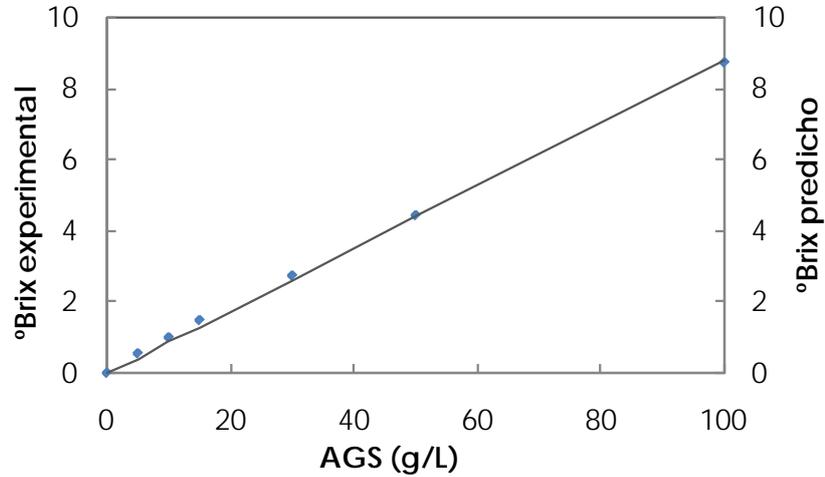


Figura IV.2. 12. Grados Brix para las disoluciones de AGS experimentales (puntos) y ajuste (línea continua).

La figura IV.2.13 muestra los porcentajes de error en función de los resultados experimentales. Se observa que para las concentraciones de AGS estudiadas, los valores de % de error obtenidos, en valor absoluto, se distribuyeron entre 3,5 y 12%. La diferencia $|\text{°Brix}_{\text{est}} - \text{°Brix}_{\text{exp}}| \cdot 100$ es inferior a 0,16 °Brix, como se observa en la figura IV.2.13.

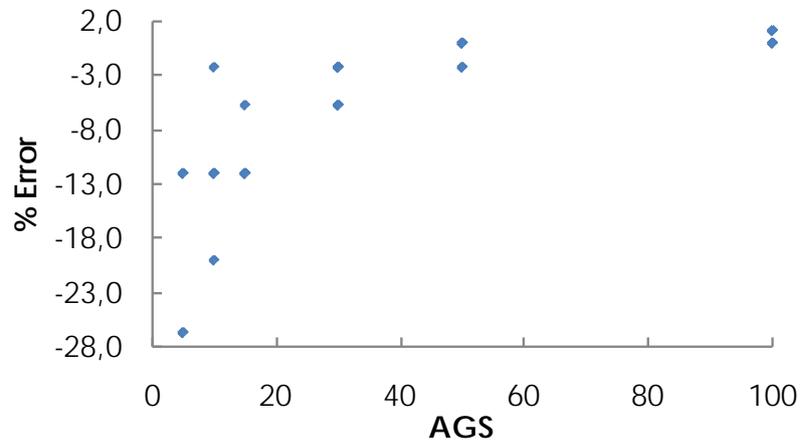


Figura IV.2. 13. % error para los valores predichos de sólidos solubles.

Se propone la Ec. IV.2.16 para obtener valores de °Brix predichos en las disoluciones de AGS en las concentraciones estudiadas.

4. Distribución del tamaño de partícula

Cuando se habla de polisacáridos de aloe, es importante definir el rango de tamaño relacionado con el tamaño de la molécula que se relaciona con su peso molecular. Cada tipo de polisacáridos presentes en el aloe, desde 50 kDa a mas de 1 000 kDa, poseen características y beneficios de salud asociadas, individual y conjuntamente. Las cuatro categorías de tamaño de cadena de polisacáridos y los beneficios que aportaría a la salud se muestran en la figura IV.2.16.

Polisacáridos	Muy grandes >1 000 000 Da			
	Grandes 150 000 - 1 000 000 Da			
	Medianos 50 000 - 150 000 Da			
	Pequeños < 50 000 Da			
		Beneficios		
	Diabetes tipo I y II, reducción de niveles de azúcar en sangre	Antioxidante y, beneficios asociados a polisacáridos pequeños	Impulsor de actividad antibacteriana y, beneficios asociados a polisacáridos pequeños y medianos	Refuerzo del sistema inmune y, beneficios asociados a polisacáridos pequeños, medianos y grandes
	Antiinflamatorio			
	Colitis, revierte y protege contra inflamaciones de colon			

Figura IV.2. 14. Categorías de polisacáridos de aloe vera y beneficios sobre la salud asociados y acumulados. Adaptado de Terry Laboratories (2010).

La distribución del tamaño de partículas (en el rango de 0,2 a 2000 μm) expresado como volumen de esfera equivalente para tres muestras, analizadas en quintuplicado, de AGS se presenta en la Figura IV.2.14. En esta se observan 3 curvas de distribución cuyo máximo se encuentra, aproximadamente, en torno a: 480 μm . Esto revela la presencia de una suspensión de partículas con una distribución de tamaño unimodal y, por lo tanto, indica una alta homogeneidad en el rango de medición.

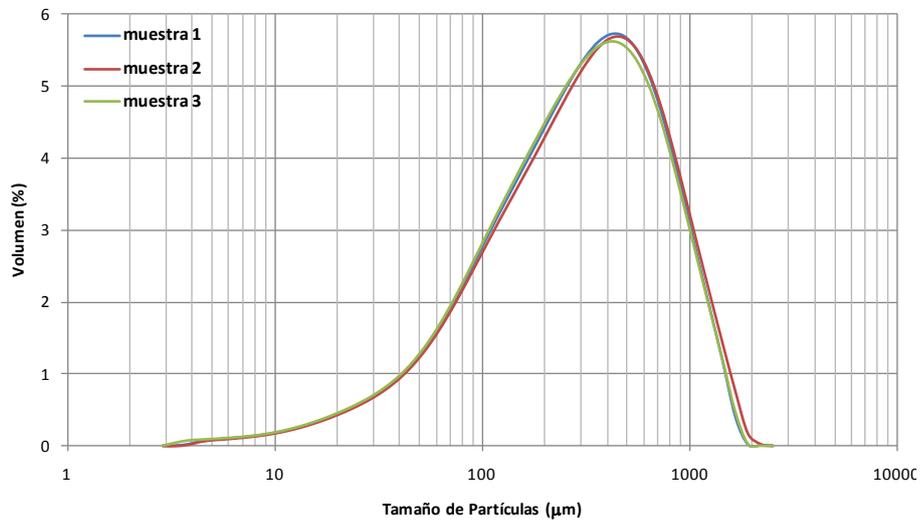


Figura IV.2. 15. Distribución del tamaño de partículas en muestras de AGS (% volumen).

Se representan los resultados basados en el número que muestra el porcentaje de partículas con un tamaño determinado, como se observa en la figura IV.2.15 el mayor porcentaje en número de partículas se encuentra aproximadamente entre 3,8 y 5 μm . Este resultado nos indicó que el mayor número de partículas en la dispersión tenía un tamaño menor a 5 μm , se destaca que los valores obtenidos se refieren a un rango entre 2 y 2 000 μm . La existencia de partículas de mayor tamaño no queda descartada.

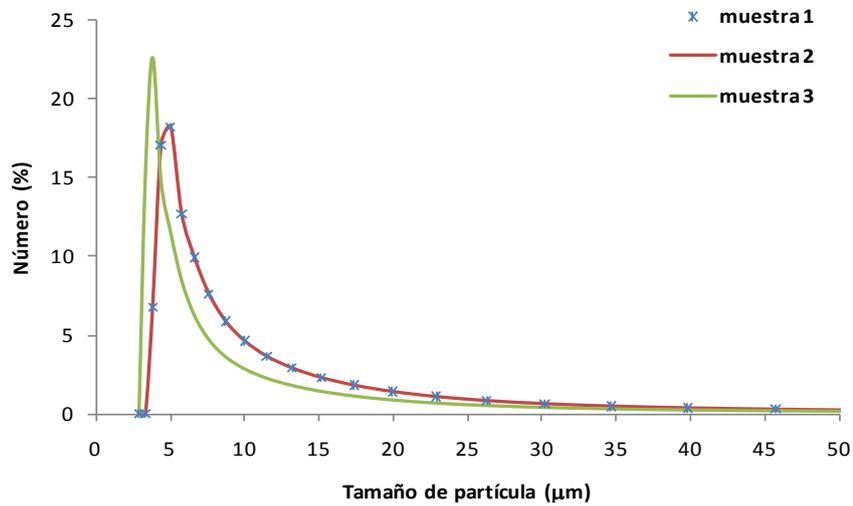


Figura IV.2. 16. Distribución de tamaño de partículas en muestra de AGS (% número)

Los percentiles característicos 10, 20, 50, 80 y 90, y su variabilidad en las tres muestras estudiadas se muestran en la tabla IV.2.6.

Tabla IV.2.6. Percentiles medios (10, 20, 50, 80 y 90) y sus desviaciones estándar en las tres muestras estudiadas. Las letras en las filas indican grupos homogéneos en las muestras en el respectivo percentil (para $\alpha < 0,01$)

Percentil	Muestra 1 μm	Muestra 2 μm	Muestra 3 μm
10	60,4±0,5 ^a	61±1 ^a	58,3±0,7 ^b
20	107,3±0,9 ^{ab}	109±2 ^a	104±1 ^b
50	284±4 ^{ab}	294±8 ^a	278±5 ^b
80	598±17 ^a	623±19 ^a	592±11 ^a
90	813±29 ^a	853±31 ^a	810±20 ^a

Los valores medios y desviaciones obtenidas para cada percentil muestran variabilidad en las partículas de menor tamaño. En forma general para las tres muestras, la distribución de tamaños nos señala la presencia de partículas en suspensión con un tamaño superior a 800 μm .

Tabla IV.2.7. Valores medios de distribución (D[4,3]) y diámetro correspondiente al máximo pico (D[3,2]).

Parámetro	Muestra 1 μm	Muestra 2 μm	Muestra 3 μm
D[4,3]	369,601 \pm 10a	385,994 \pm 12b	365,566 \pm 7a
D[3,2]	120,125 \pm 2a	121,864 \pm 3a	112,482 \pm 1b

Los valores de diametro medio de distribución (D[4,3]) y el diametro correspondiente al valor de máximo pico (D[3,2]) señalan valores homogéneos para las tres muestras estudiadas (tabla IV.2.7).

Discusión

Los valores medios y desviaciones obtenidas para cada percentil muestran variabilidad en las partículas de menor tamaño ($< 285\pm 6 \mu\text{m}$) lo que se confirmó al analizar las curvas de la figura IV.2.14, se observó dispersión entre curvas para partículas de tamaños menores a 5 μm . Las partículas de mayor tamaño ($> 485\pm 6 \mu\text{m}$), que representan el 50% en volumen, no presentaron variabilidad, es probable que se deban a agregaciones de estos polisacáridos, con tendencia a flocular debida al bajo grado de repulsión de las partículas en suspensión.

La presencia de polisacáridos de alto peso molecular, ver anejo X, cuyo tamaño lineal oscila 0,002-0,01 μm , se confirmó con la proporción en número de las partículas presentes en la dispersión, figura IV.2.15.

Al enriquecer las matrices vegetales en estudio con toda la gama de polisacáridos contenidos en las dispersiones de AGS, se considera la inclusión de moléculas del orden de 10^6 Da (y menores), con dimensiones aproximadas a 0,01 μm (Mulder, 1996). En trabajos anteriores se reporta enriquecimiento de diversas matrices vegetales con iones minerales (Ca^{2+}) cuyo tamaño aproximado corresponde a 0,0004 μm y hasta inclusión de bacterias lácticas con un tamaño aproximado de 10 μm (Arroyave, 2006; Betoret *et al.*, 2003; Gras, 2001; Gras *et al.*, 2003); considerando estas observaciones, la inclusión de polisacáridos, en toda su gama, en las matrices en estudio no reportaría dificultad.

En forma general conocer el tamaño de las partículas presentes en la dispersión de AGS, permite considerar la evaluación y posible gestión medio ambiental de esta dispersión residual mediante la tecnología de membranas.

5. Potencial zeta

La importancia del potencial zeta es que su valor puede estar relacionado con la estabilidad de disoluciones coloidales. El potencial zeta indica el grado de repulsión entre las partículas adyacentes de igual carga en la dispersión. Para moléculas y partículas que son lo

suficientemente pequeños, un alto potencial zeta conferirá la estabilidad, es decir, la solución o dispersión se resistirá a la agregación. Cuando el potencial es bajo, la atracción supera a la repulsión, la dispersión se rompe y flocula. Así, los coloides con alto potencial zeta (negativo o positivo) son estables, mientras que los coloides con potencial zeta bajo tienden a coagular o flocular como se indica en la tabla IV.2.8 (ASTM, 1985; Sincero y Sincero, 2003).

Tabla IV.2.8. Estabilidad de disoluciones respecto a valores de potencial zeta. (Sincero, 2003)

Potencial Zeta	Estabilidad
Desde 0 a ± 5	Rápida coagulación o floculación
Desde ± 10 a ± 30	Inestabilidad incipiente
Desde ± 30 a ± 40	Estabilidad moderada
Desde ± 40 a ± 60	Estabilidad buena
Mayor a ± 61	Estabilidad excelente

Los valores obtenidos en la determinación del potencial zeta de la disolución de AGS, en una concentración de 5 g/L, indican que se trata de una dispersión inestable, con tendencia a sedimentar. Según se observa en los valores presentados en la tabla IV.2.9, la variación de pH, por adición de NaOH ó HCl 1 M, no reporta efectos en la estabilidad de la misma, debido a que sus componentes son principalmente hidratos de carbono, unidos por enlace C-H, por tanto tiene un comportamiento apolar.

Tabla IV.2.9. Valores medios de potencial zeta de la disolución de AGS a distintos pH.

Muestra	Temperatura °C	ZP mV	pH
1	20	-5,63±0,376	3,80
2	20	-0,577±1,01	7,06
3	20	-9,22±0,962	10,58

El problema de sedimentación presentado por la dispersión para los casos prácticos, se resolvió aplicando agitación.

IV.3. EFECTOS DE LA DISPERSIÓN DE GEL DE ALOE VERA SOBRE LA MATRIZ VEGETAL

Beber aloe a diario, mantiene al médico alejado

Bruce Eric Hedendal

1. Introducción

En este capítulo se presenta el estudio de la viabilidad del uso de la IV, utilizando dispersiones de gel de Aloe vera, para modificar la composición de endibia, coliflor, brócoli y zanahoria y obtener hortalizas "frescas" funcionales enriquecidas.

El producto obtenido conserva sus características de alimento fresco (alta a_w) y a la vez incorpora las propiedades beneficiosas del aloe, lo que potencia la funcionalidad intrínseca de las hortalizas en estudio.

Se estudió el efecto de la incorporación de gel de aloe vera en polvo (AGS), en concentración es de 5 ó 30 g/L, en el medio de impregnación. La dispersión de 5 g/L simula la concentración del gel encontrado en la planta de aloe de forma natural, y la de 30 g/L permite concentrar más cantidad de componentes beneficiosos en las matrices vegetales, conservando las características de un medio de impregnación isotónico con las hortalizas a impregnar.

Con la finalidad de conocer el efecto del ingreso de aloe en las matrices vegetales, se determinó la tasa respiratoria, dato importante a la hora de determinar la mejor manera de conservar estas hortalizas y primer paso en el desarrollo de una línea futura en la investigación de este tipo de productos.

Se cuantificó el aloe impregnado en brócoli, coliflor, endibia y zanahoria, a través de tres métodos analíticos experimentales, que consideraron la presencia de elementos claves en el gel de aloe (polisacáridos, ácido málico y Ca^{2+}). Se estimó de esta forma la

concentración de aloe, comparándola con la calculada usando modelo teórico matemático.

Finalmente, para conocer la respuesta del consumidor a este alimento funcional fresco, que incluye las características beneficiosas de un producto natural, se realizó una evaluación sensorial aplicando un test del tipo afectivo mediante una escala hedónica de 9 puntos.

2. Caracterización fisicoquímica de las hortalizas en estudio

2.1. Diseño de experiencias

Siguiendo los procedimientos descritos en el apartado 2.1, del capítulo materiales y métodos se determinó: actividad del agua (a_w), densidad (kg/m^3), sólidos solubles ($^\circ\text{Brix}$), pH, viscosidad ($\text{mPa}\cdot\text{s} = \text{cP}$) a 20°C , humedad y porosidad.

Las hortalizas estudiadas se acondicionaron, homogeneizándolas en Ultraturrax T-25 a 8000 rpm, para su posterior análisis. Las determinaciones se realizaron tanto en muestras frescas como impregnadas, en este último caso con AGS 5 ó 30 g/L. Los análisis se efectuaron por triplicado.

Para el análisis de resultados se utilizó el programa Statgraphics Centurion XV (StatPoint Technologies Inc., USA), analizando el efecto de la concentración de AGS presente en el material vegetal a través de un ANOVA simple, evaluando el factor de estudio concentración de AGS y su efecto sobre las variables respuestas: a_w , densidad, $^\circ\text{Brix}$, pH, viscosidad, humedad y porosidad.

2.2. Resultados

La tabla IV.3.1 recoge los valores de las propiedades fisicoquímicas determinadas en las hortalizas estudiadas, tanto frescas como impregnadas con las dispersiones de AGS 5 y 30. Los valores del error estándar reflejan la homogeneidad de las hortalizas utilizadas. Los resultados muestran un mayor contenido en sólidos solubles (°Brix) en las hortalizas impregnadas con disolución de AGS 30. Esta ganancia modificó su actividad de agua, reduciéndola en todos los caso.

Del mismo modo, la impregnación a vacío afectó los valores de humedad de las hortalizas impregnadas con AGS. Esto se explicaría tanto por el ingreso de los sólidos presentes en la dispersión, mayor cuanto más concentrado el medio de impregnación, así como por la dispersión que queda adherida a la superficie de la hortaliza.

El pH de las hortalizas impregnadas sufrió una leve modificación debido a la naturaleza ácida de la dispersión utilizada, la diferencia de las disoluciones utilizadas y las hortalizas estudiadas fue de aproximadamente 2 unidades de pH. Una mayor concentración de AGS en la dispersión conllevó un menor valor del pH (tabla IV.3.1).

Los valores obtenidos confirmaron que ni las hortalizas frescas ni las impregnadas con dispersión de AGS (5 ó 30) presentaron una porosidad (porcentaje de huecos respecto del volumen total) no significativa, exceptuando el caso del brócoli, que presenta espacios susceptibles de ser llenados con líquido de impregnación, como ya se vio en el capítulo de caracterización de hortalizas.

Tabla IV.3.1. Características fisicoquímicas (promedio±desviación estándar) de las muestras de hortalizas frescas e impregnadas con dispersiones de AGS 5 y 30.

Parámetros	Humedad ⁽¹⁾	aw	pH	Brix	Densidad real ⁽²⁾	Densidad aparente ⁽²⁾	Porosidad (%)
Endibia	Sin IV	94,8±0,2	0,995±0,003	5,85±0,02	1015±7	1011±3	n.d.
	IV AGS 5	94,3±0,2	0,992±0,003	5,88±0,02	1022±5	1007±5	n.d.
	IV AGS30	93,7±0,2	0,985±0,003	5,2±0,2	1016±2	1009±5	n.d.
Brócoli	Sin IV	90,3±0,3	0,990±0,003	6,50±0,09	1037±4	866±2	15±2
	IV AGS 5	90±2	0,992±0,003	6,25±0,08	1040±4	959±2	8±4
	IV AGS30	86±2	0,979±0,003	6,1±0,2	1056±6	970±4	8±4
Coliflor	Sin IV	90,4±0,3	0,993±0,003	6,56±0,03	1007±5	995±5	n.d.
	IV AGS 5	92,8±0,9	0,992±0,003	6,64±0,04	1007±4	946±5	n.d.
	IV AGS30	89,1±0,3	0,981±0,003	5,85±0,04	1000±4	989±7	n.d.
Zanahoria	Sin IV	88,7±0,3	0,993±0,003	6,31±0,04	1044±7	1042±2	n.d.
	IV AGS 5	90±2	0,990±0,003	6,2±0,2	1039±7	1031±4	n.d.
	IV AGS30	87,8±0,2	0,987±0,003	5,7±0,2	1024±8	1023±4	n.d.

(1) % base húmeda; (2) kg/m³ a 20 °C; n.d.= no detectable
a,b,c... letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas

3. Comportamiento del material vegetal durante la IV con aloe

3.1. Diseño de experiencias

En este apartado se estudió el efecto de la presencia del AGS en la disolución de impregnación sobre el comportamiento del material vegetal durante la IV. Las experiencias se llevaron a cabo siguiendo la metodología descrita en materiales y métodos apartado 3.

Para analizar mejor la influencia de la disolución con aloe sobre la operación de impregnación se introdujo el material vegetal como uno de los factores controlados del diseño de experimentos.

Endibia: Para las pruebas de IV se seleccionaron las hojas de la parte central de las endibias. Se utilizaron 9 muestras con disolución de AGS 5; 9 muestras con disolución de AGS 30 y 9 con disolución isotónica de sacarosa. Las experiencias se realizaron por triplicado, procesando en total 81 muestras.

Brócoli y coliflor: En este caso se trabajó con inflorescencias de brócoli y coliflor con un pequeño tallo (largo total promedio 4 cm). Se impregnaron a vacío 9 muestras con disolución de AGS 5; 9 muestras con disolución de AGS 30 y 9 con disolución isotónica de sacarosa. Considerando los ensayos por triplicado, en total se procesaron 81 muestras de brócoli y 81 muestras de coliflor.

Zanahoria: Se emplearon rodajas de zanahorias de 5 mm de espesor. Se impregnaron al vacío en total 9 muestras con disolución de AGS 5; 9 muestras con disolución de aloe 30 y 9 con disolución isotónica de

sacarosa. Las experiencias se realizaron pro triplicado, procesando en total 81 muestras.

Para el análisis de resultados se utilizó el programa Statgraphics Centurion XV (StatPoint Technologies Inc., USA). A través de ANOVA multifactorial se analizó el efecto de la disolución, del material vegetal y de la interacción entre ambos factores controlados en cada parámetro HDM-DRP.

3.2. Resultados

3.2.1. Brócoli

La tabla IV.3.2. resume los resultados del ANOVA realizado para estudiar el efecto de la presencia de aloe en el medio de impregnación, en concentraciones de 5 ó 30 g/L, sobre los valores de los parámetros característicos de la IV del brócoli (deformaciones, impregnaciones y porosidad efectiva).

Tabla IV.3.2. IV de brócoli. Influencia de la presencia de aloe, en concentraciones de 5 y 30 g/L, en la disolución de impregnación y de la variabilidad propia del material vegetal utilizado sobre los parámetros característicos de la IV de brócoli (en %).

Factores y niveles	γ_1	γ_2	γ	X_1	X	X_2	ϵ_{ef}
A: Medio de IV	**	n.s.	**	**	*	**	**
Sac	-0,6±2 ^a		-2±2 ^c	-25±2 ^f	15±1 ^h	40±1 ^j	45±2 ^m
AGS 5	8±1 ^b		13±2 ^d	-35±2 ^g	10±1 ⁱ	46±1 ^k	34±2 ⁿ
AGS 30	3±2 ^a		6±2 ^e	-25±2 ^f	11±1 ⁱ	37±1 ^j	32±2 ⁿ
B: Brócoli (B1, B2, B3)	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Interacción A-B	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Global	5,9±0,2 ^e						

*: significativo al 95%; **: significativo al 99%; n.s.: no significativo

a,b,c... letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas

La deformación de las muestras durante la etapa de vacío (γ_1) estuvo afectada por la concentración de AGS utilizada en el medio de impregnación: con 5 g/L, las muestras presentaron un aumento de volumen de 8%, mientras que las muestras impregnadas con disolución isotónica de sacarosa o las impregnadas con AGS 30 no presentaron diferencias estadísticamente significativas, aunque se observó una leve contracción en las muestras impregnadas con disolución de sacarosa.

La disolución utilizada como líquido de impregnación afectó la resistencia mecánica de la matriz vegetal: el brócoli sólo experimentó variaciones de volumen significativas a lo largo de la IV al utilizar la disolución de 5 g/L de AGS, que ocasionó un hinchamiento final del tejido vegetal de un 13%.

La pérdida de líquido nativo (X_1) fue importante (entre 25 y 35%), la concentración de AGS en el medio de impregnación afectó significativamente esta pérdida, durante la etapa a presión atmosférica la matriz vegetal absorbió un volumen que compensó y sobrepasó dicha salida.

En la figura IV.3.1 se observa, de forma más clara, la evolución de las muestras de brócoli desde el estado inicial hasta el final del período a vacío (0→1) y hasta el final de la etapa a presión atmosférica (1→2). Al final de la etapa a vacío las muestras de brócoli impregnadas con dispersión de AGS, tanto 5 g/L como 30 g/L, sufrieron un aumento de volumen; a diferencia de las muestras impregnadas con disolución isotónica de sacarosa. Tanto si se deformaron como si no, las muestras experimentaron pérdidas de líquido nativo durante la etapa de vacío (X_1), que se vieron favorecidas por una concentración de 5 g/L de AGS en el medio de impregnación.

Al restituir la presión atmosférica, la entrada de líquido de impregnación estuvo acompañada de un aumento de volumen de las muestras impregnadas con AGS (5 ó 30) en torno al 5%, mientras que las muestras impregnadas con disolución isotónica de sacarosa se encogieron un 2%. Estas muestras (IV Sac), ingresaron 15% de líquido, en tanto las impregnadas con dispersiones de AGS ingresaron en torno al 10%.

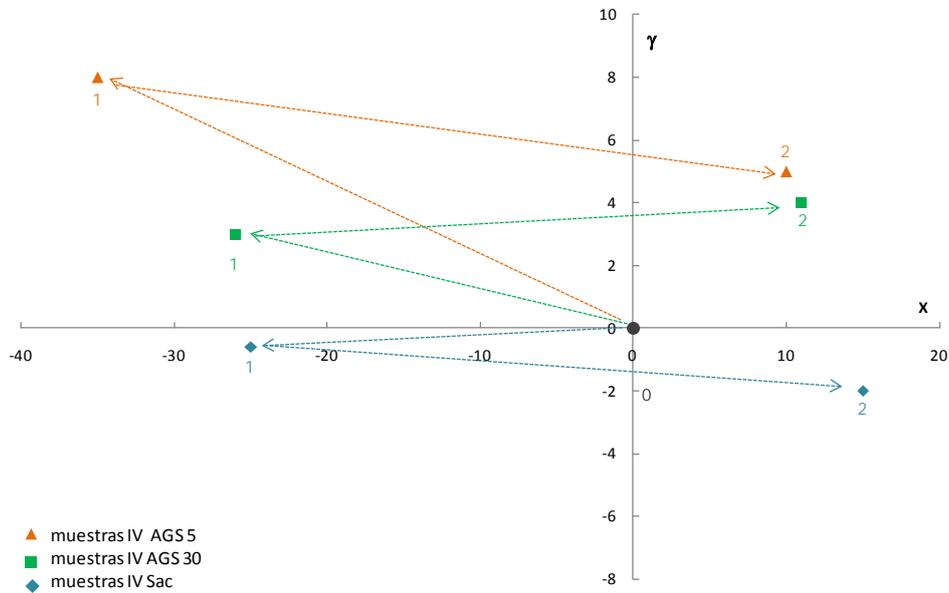


Figura IV.3. 1. IV de brócoli. Relación entre deformación e impregnación para las muestras de brócoli impregnadas con disolución isotónica de sacarosa, dispersión de AGS 5 o AGS 30, al final de la etapa de vacío (0 → 1) y al final de la etapa a presión atmosférica (1 → 2).

El parámetro más relevante, desde el punto de vista del enriquecimiento, es la impregnación al final de la etapa de IV con líquido externo, X:

$$X_2 = X - X_1$$

Si $X_1 < 0$, entonces:

$$X_2 = X + |X_1|$$

La impregnación con disolución externa (X_2) se vio afectada por la presencia de una alta concentración de aloe en la disolución (AGS 30), presentando estas muestras igual porcentaje de impregnación que las impregnadas con disolución isotónica de sacarosa, con un valor de impregnación con disolución externa entorno al 40% del volumen inicial, confirmando el valor obtenido en la caracterización de esta hortaliza (43%). Sin embargo la disolución con AGS 5 logró aumentar significativamente ese volumen de impregnación a un 46%. Considerando que ésta sufrió las pérdidas más elevadas de líquido nativo, se justifica la inclusión de una cantidad mayor de volumen en la matriz vegetal.

Se puede inferir, a partir de los valores obtenidos, que la presencia de concentraciones bajas de AGS, similar a la encontrada en forma natural, afectaron el valor de estos parámetros, generando valores de impregnación significativamente más elevados que los que se obtienen cuando se trabaja con disolución isotónica de sacarosa o AGS en concentración de 30 g/L, cuya viscosidad es mayor. En todos los casos los valores obtenidos se aproximan a los obtenidos en la caracterización de esta hortaliza (43%).

Las muestras presentaron una mayor porosidad efectiva (45%) impregnadas con las disoluciones de sacarosa. En las muestras impregnadas con AGS 5 o AGS 30 se observó una porosidad efectiva en torno de 30%. Esta situación se puede deber a que se incluye las variaciones de volumen en el cálculo de la porosidad.

El comportamiento de las muestras frente a las disoluciones de sacarosa y AGS 30 se corresponde, debido seguramente al comportamiento isotónico de la dispersión.

La matriz vegetal no presentó diferencias entre las muestras respecto a ningún parámetro de HDM-DRP. Del mismo modo, no hubo interacción entre el material vegetal y la presencia de aloe, en las concentraciones estudiadas, en el medio de impregnación. Esto ratifica la uniformidad de las muestras, confirmando que los efectos observados corresponden al medio de impregnación utilizado.

3.2.2. Coliflor

Los resultados del ANOVA del efecto de la influencia de la presencia de aloe en la disolución de impregnación, en concentraciones de 5 y 30 g/L, sobre los valores de los parámetros característicos de la IV (deformaciones, impregnaciones y porosidad efectiva), se observan en la tabla IV.3.3.

En la coliflor, la deformación de las muestras durante la etapa de vacío (γ_1) estuvo afectada por la presencia y concentración de AGS utilizada. La matriz vegetal experimentó variaciones de volumen significativas para las muestras impregnadas con AGS 5, las cuales se hincharon en torno al 3%. En cambio las muestras impregnadas con dispersión de AGS 30 o disolución isotónica de sacarosa no presentaron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,01$).

Al final del proceso de impregnación el factor "medio de IV" afectó de forma diferente según la concentración de AGS usada. En el caso de AGS 5 el material vegetal sufrió un hinchamiento de 2,8%, a diferencia de lo observado con AGS 30 o con disolución de sacarosa, en las cuales se advirtió un encogimiento.

Tabla IV.3.3. IV de coliflor. Influencia de la presencia de aloe, en concentraciones de 5 ó 30 g/L, en la disolución de impregnación, y de la variabilidad propia del material vegetal utilizado,

Factores y niveles	γ_1	γ_2	γ	X_1	X	X_2	ϵ_{ef}
A: Medio de IV							
Sac	0,6±0,4 ^a	-3,2±0,6 ^c	-2,6±0,5 ^e	-14±1 ^g	n.s.	13,0±0,4 ⁱ	16,4±0,5 ⁱ
AGS 5	3,2±0,4 ^b	-0,4±0,6 ^d	2,8±0,5 ^f	-14±1 ^g		15,0±0,4 ^j	13,1±0,5 ^m
AGS 30	1,8±0,4 ^{ab}	-4,1±0,6 ^c	-2,3±0,5 ^e	-8±1 ^h		7,1±0,4 ^k	9,6±0,5 ⁿ
B: Coliflor							
(C1, C2, C3)	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Interacción A-B							
Sac- C1	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	14,0±0,7	17,0±0,9
Sac- C2						11,0±0,7	14,0±0,9
Sac- C3						14,0±0,7	17,0±0,9
AGS 5-C1						18,0±0,7	14,0±0,9
AGS 5-C2						14,0±0,6	11,0±0,8
AGS 5-C3						14,0±0,7	14,0±0,9
AGS 30-C1						5,3±0,7	8,0±0,9
AGS 30-C2						9,1±0,7	12,0±0,9
AGS 30-C3						6,0±0,7	9,2±0,9
Global						-0,1±3	

*: significativo al 95%; **: significativo al 99%; n.s.: no significativo

a,b,c... letras diferentes en la misma columna indican diferencias

La pérdida de líquido nativo fue significativamente mayor en las muestras impregnadas con dispersión de AGS 5 o disolución de sacarosa. Durante la etapa a presión atmosférica la matriz vegetal absorbió un volumen que compensó dicha salida, no presentando diferencias significativas para las distintas disoluciones.

En la figura IV.3.2, se observa con detalle la evolución de las muestras impregnadas (IV Sac, AGS 5 ó 30) desde el estado inicial al final de la etapa de vacío (0→1) y hasta el final de la etapa a presión atmosférica (1→2). Durante la etapa a vacío todas las muestras se hincharon, siendo este aumento de volumen más evidente en las muestras impregnadas con dispersión de AGS (5 ó 30). Todas muestras experimentaron pérdidas de líquido nativo durante la etapa de vacío (X_1), las muestras impregnadas con disolución isotónica de sacarosa y dispersión de AGS 5 perdieron un 14%, disminuyendo significativamente está perdida en las muestras impregnadas con AGS 30 ($P < 0,01$).

En la etapa a presión atmosférica, la entrada de líquido de impregnación estuvo acompañada de una disminución de volumen de las muestras, la coliflor impregnada con AGS 5 ingresó alrededor de 1% de líquido de impregnación, mientras que las muestras impregnadas con disolución isotónica de sacarosa o las impregnadas con AGS 30 sólo compensaron la salida de líquido nativo ocurrida durante la etapa a vacío.

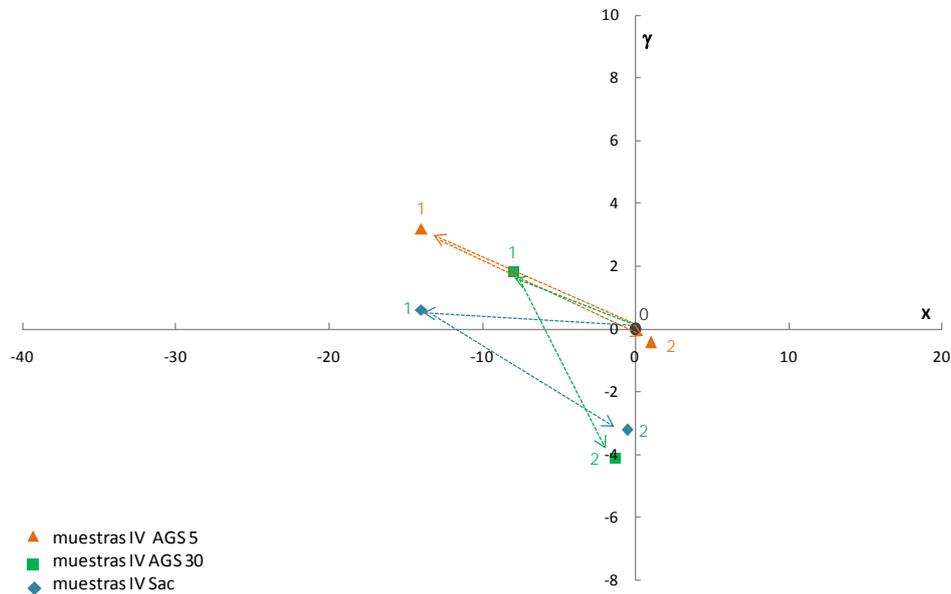


Figura IV.3. 2. IV de coliflor. Relación entre deformación e impregnación para las muestras de coliflor impregnadas con disolución isotónica de sacarosa, dispersión de AGS 5 o AGS 30, al final de la etapa de vacío (0 → 1) y al final de la etapa a presión atmosférica (1 → 2).

Una alta concentración de aloe en el medio de impregnación (AGS 30), disminuyó significativamente la impregnación efectiva (X_2) de las muestras en comparación a las impregnadas con disolución de sacarosa o AGS 5, las que ingresaron una cantidad de disolución externa equivalente, aproximadamente, al 14% del volumen inicial, confirmando el valor obtenido en la caracterización de esta hortaliza (13%). El menor volumen de impregnación observado en las muestras impregnadas con AGS 30 se puede explicar por la mayor viscosidad de la dispersión.

A partir de los valores obtenidos, se deduce que la presencia de concentraciones altas de AGS (30 g/L), generaron valores de

impregnación significativamente más bajos que los que se obtienen cuando se trabaja con disoluciones que no contienen AGS o en concentración de 5 g/L, todas ellas isotónicas con la matriz vegetal ($a_w=0,993$).

En estudios anteriores con frutas se observó que una variación de la viscosidad de disolución de sacarosa ejercía un efecto significativo sobre los parámetros de impregnación. Así a concentraciones elevadas de sacarosa se aumenta la viscosidad de la disolución, disminuyendo con esto la impregnación volumétrica (Betoret, 2002; Martínez-Monzó, Martínez, Chiralt, & Fito, 1998). Salvatori *et al.* (1998) comprobaron que los fenómenos de impregnación y deformación ocurren de forma acoplada en la operación de IV.

Existió interacción entre el material vegetal y la presencia de aloe, en la impregnación real de la coliflor y la porosidad efectiva. En la muestra 3 se observó una menor impregnación así como una menor porosidad comparadas con las muestras 1 y 2, situación que se puede deber a la variabilidad propia del material vegetal.

3.2.3. Endibia

Los resultados del ANOVA de la influencia de la presencia de aloe, y su concentración, en la disolución de impregnación sobre el comportamiento del material vegetal durante la IV, aplicado a los valores de los parámetros característicos de la IV (deformaciones, impregnaciones y porosidad efectiva) determinados en las experiencias realizadas con endibia, se observan en la tabla IV.3.4.

Tabla IV.3.4. IV de endibia. Influencia de la presencia de aloe en la disolución de impregnación y del material vegetal utilizado sobre los parámetros característicos (en %).

Factores y niveles	γ_1	γ_2	γ	X_1	X	X_2	ϵ_{ef}
A: Medio de IV	n.s.	n.s.	**	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Sac			1,2±0,9 ^a				
AGS 5			1,0±0,9 ^a				
AGS 30			-5±0,9 ^b				
B: Endibias (E1, E2, E3)	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Interacción A-B	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Global	3±2	-4±1		-18±1	-1±1	17±1	19±2

*: significativo al 95%; **: significativo al 99%; n.s.: no significativo

a,b,c... letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas

La resistencia mecánica de la matriz vegetal no se vio afectada por la composición de la disolución de impregnación. Del mismo modo las hojas no experimentaron variaciones de volumen significativas en el periodo de vacío, las muestras se hincharon en promedio 3%. En el periodo de presión atmosférica las hojas de endibia no sufrieron variaciones de volúmenes significativos.

Al final del proceso de IV las hojas de endibia impregnadas con AGS 30 se encogieron en promedio un 5%, diferenciándose estadísticamente del las impregnadas con disolución de sacarosa o dispersión de AGS 5 ($P < 0,01$), las que no sufrieron variaciones de volúmenes importantes.

La presencia de AGS, en las concentraciones estudiadas, no causó un efecto significativo, siendo la pérdida global de líquido nativo de un 18%. Durante la etapa a presión atmosférica las hojas absorbieron un volumen que compensó dicha salida. Además, las variaciones de volúmenes totales no se vieron afectadas por la variabilidad del material vegetal.

Una perspectiva completa de la evolución de las hojas de endibia sometidas al proceso de impregnación (IV Sac, AGS 5 ó 30), desde el estado inicial al final de la etapa de vacío ~~(0)~~ y hasta el final de la etapa a presión atmosférica (1→2) durante la etapa a vacío, se observa en la figura IV.3.3. Todas las muestras impregnadas se hincharon, este aumento de volumen fue más evidente en las muestras impregnadas con disolución isotónica de sacarosa. Las muestras impregnadas con dispersión de AGS (5 ó 30) experimentaron un aumento de volumen similar. Todas las muestras experimentaron pérdidas importantes de líquido nativo durante la etapa de vacío (X₁), no presentando diferencias significativas para los distintos medios de impregnación.

En la etapa a presión atmosférica, la entrada de líquido de impregnación estuvo acompañada de una disminución de volumen en las hojas de endibia, observándose que las muestras impregnadas con AGS 30 experimentaron una disminución mayor que las impregnadas con disolución de sacarosa o dispersión de AGS 5. Todas las muestras compensaron la salida de líquido nativo ocurrida durante la etapa a vacío.

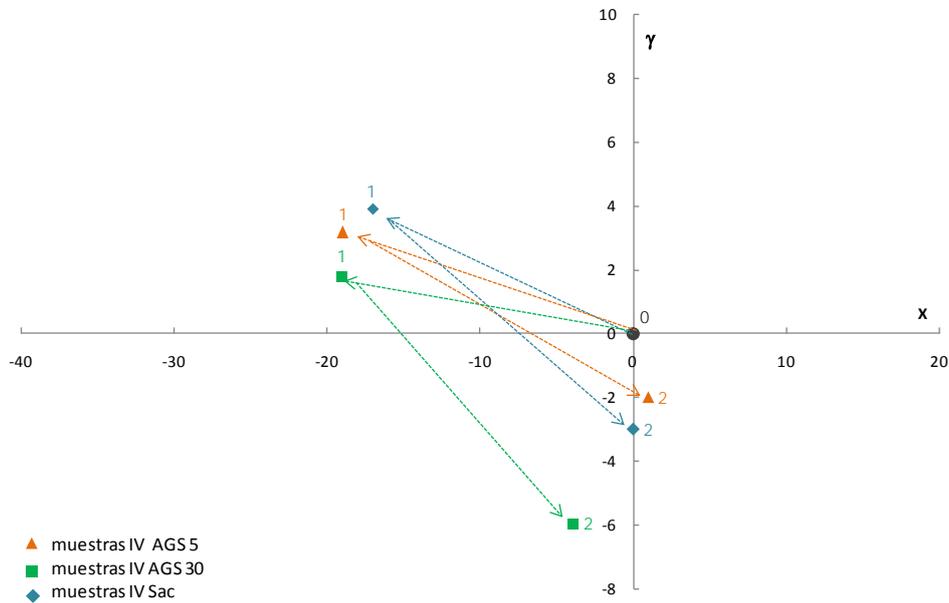


Figura IV.3. 3. IV de endibia. Relación entre deformación e impregnación para las muestras de endibia impregnadas con disolución isotónica de sacarosa, dispersión de AGS 5 o AGS 30, al final de la etapa de vacío (0 → 1) y al final de la etapa a presión atmosférica (1 → 2).

La impregnación con disolución externa (X_2) no se vio afectada por la presencia de aloe en la disolución, en promedio se impregnó con una cantidad de disolución externa equivalente al 17% del volumen inicial de las hojas, confirmando el valor obtenido en la caracterización de esta hortaliza.

Según se explicó anteriormente (capítulo IV.1 apartado 4), la salida de líquido de los tubos laticíferos permite el ingreso de la disolución de impregnación con relativa facilidad, lo cual permitió reemplazar el líquido interno por el líquido de impregnación, aloe.

Al igual que lo ocurrido con las muestras de coliflor, se observó que una variación de la viscosidad afecta la impregnación volumétrica disminuyéndola, de 18 a 15% v/v.

En este estudio, y para el caso de la endibia, se evidenció que al usar distintas concentraciones de AGS no se afectó la impregnación efectiva. La salida de líquido nativo(X_1) del sistema vascular de la endibia permitió la impregnación de las muestras con disolución externa, la que ocupó los espacios inicialmente llenos de líquido nativo.

La porosidad efectiva no se vio influenciada por la presencia o ausencia de aloe en la disolución, comprobando que para valores de porosidad efectiva similares se observó que, una disminución de la impregnación, se acompañó de un aumento en la deformación (Salvatori, *et al.*, 1998).

En cuanto al material vegetal, no se observó un efecto significativo sobre los parámetros relevantes de deformación e impregnación ni sobre la porosidad efectiva.

No hubo interacción entre el material vegetal y la presencia de aloe en disolución.

3.2.4. Zanahoria

Los resultados del ANOVA del efecto de la presencia de aloe, en concentraciones de 5 y 30 g/L, en la disolución de impregnación sobre el comportamiento del material vegetal, aplicado a los valores de los parámetros característicos de la IV (deformaciones, impregnaciones y porosidad efectiva), durante la IV se observan en la tabla IV.3.5.

Tabla IV.3.5. IV de zanahoria. Influencia de la presencia de aloe, en concentraciones de 5 y 30 g/L, en la disolución de impregnación y del material vegetal utilizado sobre los parámetros característicos de la IV (en %).

Factores y niveles	γ_1	γ_2	γ	X_1	X	X_2	ϵ_{ef}
A: Medio de IV	**	**	**	*	n.s.	**	*
Sac	1±1 ^a	0±1 ^c	1,3±0,3 ^e	-10±1 ^g		10,7±0,5 ⁱ	10,0±0,5 ^k
AGS 5	8±2 ^b	-5±1 ^d	3,7±0,4 ^f	-14±1 ^h		14,7±0,6 ^j	12,0±0,6 ^l
AGS 30	1±2 ^a	1±1 ^c	1,2±0,4 ^e	-10±1 ^g		10,4±0,6 ^j	9,7±0,6 ^k
B: Zanahoria (Z1, Z2, Z3)	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Interacción A-B	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Global					0±3		

*: significativo al 95%; **: significativo al 99%; n.s.: no significativo

a,b,c... letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas

El factor disolución afectó significativamente la mayoría de los parámetros HDM-DRP. La deformación en la etapa de vacío aumentó considerablemente al usar la disolución de AGS 5 ($\gamma_1 = 8$), mientras que al usar la disolución isotónica de sacarosa o dispersión de AGS 30, el aumento de volumen fue moderado (1%). La deformación a presión atmosférica mostró una contracción significativa de las muestras impregnadas con AGS 5, mientras que las muestras impregnadas con dispersión de sacarosa o dispersión de AGS 30 se comportaron de manera similar. La deformación global indicó un aumento de volumen de las muestras.

Las pérdidas de líquido nativo fueron importantes, observándose un 14% para disolución con AGS 5 y un 10% para la disolución isotónica de sacarosa y AGS 30. Al restablecer la presión se produjo una importante entrada de disolución externa, aproximadamente 11% para la disolución

de isotónica de sacarosa y AGS 30, mientras que la disolución de AGS 5 ingresó un volumen de líquido de impregnación de aproximadamente 15%. Es probable que la menor viscosidad de la disolución haya influido en la obtención de estos valores, al igual a lo observado en estudios realizados utilizando manzana (Martínez-Monzó, *et al.*, 1998).

En la figura IV.3.4 se observa una perspectiva completa de la evolución de las rodajas de zanahoria sometidas al proceso de impregnación (IV Sac, AGS 5 ó 30), desde el estado inicial al final de la etapa de vacío (01) y hasta el final de la etapa a presión atmosférica (1→2) durante la etapa a vacío. Las muestras impregnadas con dispersión de AGS 5 se hincharon significativamente ($P < 0,01$), en cambio las muestras impregnadas con disolución isotónica de sacarosa o las muestras impregnadas con dispersión de AGS 30 no experimentaron un aumento de volumen importante. Todas las muestras experimentaron pérdidas de líquido nativo durante la etapa de vacío (X_1), diferenciándose significativamente las muestras impregnadas con AGS 5.

En la etapa a presión atmosférica, la entrada de líquido de impregnación estuvo acompañada de una disminución de volumen de las muestras impregnadas con AGS 5. Las impregnadas con disolución de sacarosa no variaron respecto al volumen inicial, mientras que las impregnadas con AGS 30 se hincharon. Todas las muestras compensaron la salida de líquido nativo ocurrida durante la etapa a vacío.

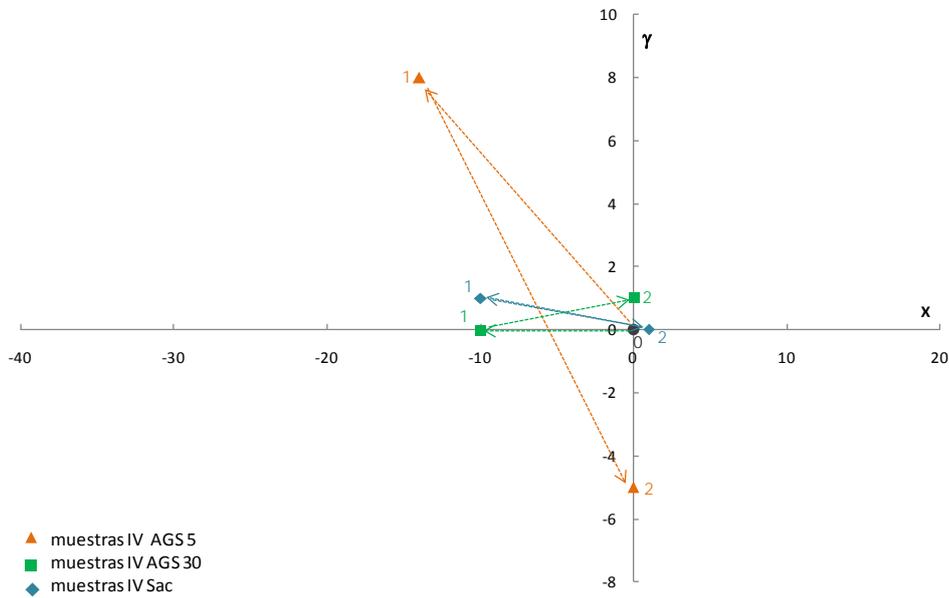


Figura IV.3. 4. Relación entre deformación e impregnación para las muestras de brócoli impregnadas con disolución isotónica de sacarosa, dispersión de AGS 5 o AGS 30, al final de la etapa de vacío (0→1) y al final de la etapa a presión atmosférica (1→ 2).

Los valores de impregnación confirman los obtenidos en la caracterización de la zanahoria. El ingreso de líquido de impregnación a la matriz vegetal concuerda con los valores de salida de líquido nativo, lo que coincide con lo reportado en estudios anteriores donde se comprobó que la impregnación de la zanahoria se produce mayoritariamente por llenado de los vasos leñosos (xilema central) más que en el tejido parenquimático, que es compacto y con pocos espacios intercelulares (figura IV.3.5)(Arroyave, 2006; Gras, 2001).

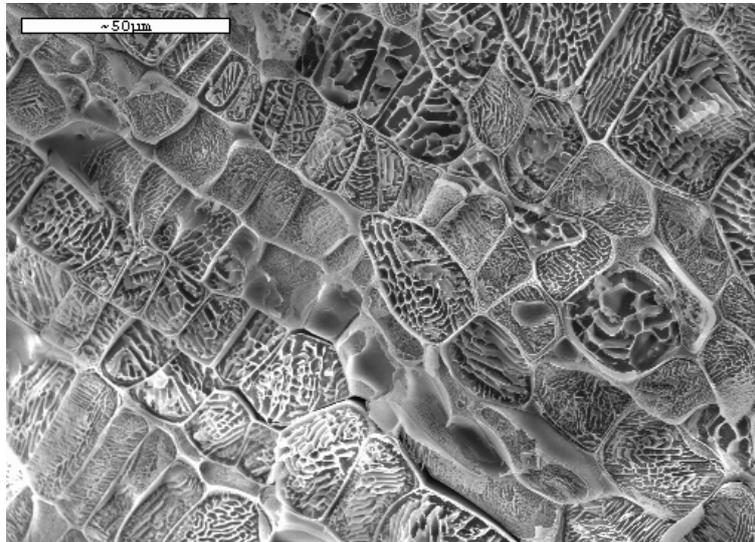


Figura IV.3. 5. Tejido fresco de zanahoria, se observan células parenquimáticas compactas, no se observan espacios intercelulares.

La disolución de AGS 5 afectó la porosidad efectiva ε_{ef} de las muestras 12%, para las tratadas con disolución de sacarosa o AGS 30 se aproximó al 10%.

El efecto del material vegetal no es significativo para ninguno de los parámetros de la IV y no se detecta interacción entre los factores.

3.2.5. Comparación del comportamiento de brócoli, coliflor, endibia y zanahoria durante la IV con aloe

La tabla IV.3.6 resume los resultados del ANOVA que analiza la influencia de 2 factores (A: la composición de la disolución de IV; B: el tipo de hortaliza) y sus interacciones sobre los parámetros (deformaciones, impregnaciones y porosidad eficaz) que caracterizan el comportamiento de los muestras (hortalizas) durante la operación de IV.

Tabla IV.3.6. Influencia de la presencia de aloe, en concentraciones de 5 y 30 g/L, en la disolución de impregnación y del material vegetal utilizado sobre los parámetros característicos de la IV de brócoli, coliflor, endibia y zanahoria.

Factores y niveles	γ_1	γ_2	γ	X_1	X	X_2	ϵ_{ef}
A: Medio de IV	**	n.s.	**	**	n.s.	**	**
Sac	1,2±0,5 ^a	-1,8±0,8	-0,6±0,6 ^e	-16,4±0,8 ^l	3,8±0,6	20,2±0,6 ^q	21,9±0,8 ^w
AGS 5	5,6±0,6 ^b	-0,4±0,8	5,2±0,6 ^f	-21,0±0,8 ^k	2,5±0,6	23,3±0,6 ^r	19,4±0,9 ^x
AGS 30	1,7±0,6 ^a	-1,6±0,8	0,2±0,6 ^e	-15,6±0,8 ^l	1,6±0,7	17,3±0,6 ^s	18,1±0,9 ^x
B: Hortalizas	n.s.	**	**	**	**	**	**
Brócoli	3,5±0,6	2,4±0,8 ^c	5,9±0,6 ^g	-28,8±0,8 ^l	12,3±0,7 ^o	41,1±0,6 ^t	37,2±0,9 ^y
Coliflor	1,7±0,6	-2,3±0,8 ^d	-0,6±0,7 ^h	-12,0±0,8 ^m	-0,4±0,7 ^p	11,6±0,6 ^u	13,0±0,9 ^z
Endibia	3,0±0,7	-4±1 ^d	-0,8±0,8 ^h	-18±1 ⁿ	-1,8±0,8 ^p	16,5±0,7 ^v	18±1 ^{ai}
Zanahoria	3,3±0,7	-1,2±0,9 ^d	2,1±0,8 ⁱ	-12±1 ^m	0,4±0,8 ^p	12,0±0,7 ^u	11±1 ^z
Interacción A-B	**	**	**	**	n.s.	n.s.	**
Sac-Brócoli	-1±1	-2±1	-2±1	-25±1	15±1	45±1	45±2
Sac-Coliflor	1±1	-3±1	-3±1	-14±1	0±1	16±1	16±2
Sac-Endibia	4±1	-3±2	1±1	-17±2	0±1	16±2	16±2
Sac-Zanahoria	1±1	0±1	1±1	-10±1	1±1	10±1	10±2
AGS 5-Brócoli	8,3±0,9	5±1	13±1	-35±1	1±1	-34±1	34±1
AGS 5-Coliflor	3±1	0±1	3±1	-14±1	1±1	13±1	13±2
AGS 5-Endibia	3±1	-2±2	1±1	-19±2	-10±1	18±2	18±2
AGS 5-Zanahoria	8±1	-5±2	4±1	-14±2	0±1	12±2	12±2
AGS 30-Brócoli	3±1	4±1	6±1	-26±1	11±1	32±1	32±2
AGS 30-Coliflor	2±1	-4±1	-2±1	-8±1	-1±1	10±1	10±2
AGS 30-Endibia	2±1	-6±2	-5±1	-19±2	-4±1	20±2	20±2
AGS 30-Zanahoria	1±1	0±2	1±1	-10±2	0±1	10±2	10±2
Global							

*: significativo al 95%; **: significativo al 99%; n.s.: no significativo

a,b,c... letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas

La deformación de las muestras durante la etapa de vacío (γ_1) estuvo afectada por la presencia y concentración de AGS utilizada. Las muestras de matriz vegetal, en todos los casos, experimentaron variaciones de volumen significativas ($P < 0,01$). Las muestras impregnadas con AGS 5 se

hincharon en torno al 6%. En cambio las muestras impregnadas con dispersión de AGS 30 o disolución isotónica de sacarosa experimentaron un aumento de volumen menor al 2%.

Al final del proceso de impregnación el factor "medio de IV" afectó de forma diferente según la concentración de AGS usada. En el caso de AGS 5 el material vegetal sufrió un hinchamiento de 5,2%, a diferencia de lo observado con AGS 30 o con disolución de sacarosa, en las cuales las variaciones fueron menores. La variabilidad de las diferentes matrices vegetales influyó en la deformación que experimentó cada muestra, así tanto el coliflor como la endibia se encogieron levemente, mientras que la zanahoria y el brócoli se hincharon. Este aumento de volumen fue más evidente en la muestra de brócoli.

La pérdida de líquido nativo fue significativamente mayor en las muestras impregnadas con dispersión de AGS 5 (21%). Las muestras impregnadas con disolución de sacarosa o dispersión de AGS 30 no presentaron diferencias significativas, perdiendo en torno del 16% de líquido nativo. Durante la etapa a presión atmosférica la matriz vegetal absorbió un volumen que compensó y sobrepasó dicha salida, siendo más evidente esta incorporación en las muestras impregnadas con AGS 5. La variabilidad de las matrices vegetales influyó en este parámetro, así el brócoli perdió una cantidad importante de líquido nativo, en torno al 30%, seguido de la endibia con un 18%, mientras que las muestras de coliflor y zanahoria perdieron 12% de líquido interno, lo que se puede explicar debido a que ambas hortalizas poseen una estructura compacta que se caracteriza por poseer pocos espacios intercelulares. En el caso de endibia, coliflor y zanahoria la pérdida de líquido nativo fue el referente de la cantidad de líquido de impregnación incluido en estos vegetales.

La impregnación efectiva (X_2) de las muestras impregnadas con disolución de sacarosa o AGS 5 ingresaron mayor cantidad de disolución externa equivalente, aproximadamente al 20% del volumen inicial, sin embargo la impregnada con dispersión de AGS 30 redujo el ingreso de medio externo. El menor volumen de impregnación se puede deber a la alta concentración de moléculas de gran tamaño (polisacáridos) presentes en la dispersión, los cuales presentan mayor resistencia al flujo.

Las distintas matrices vegetales impregnaron volúmenes de medio externo desde un 11 a un 40%, aproximadamente. El brócoli ingresó mayor cantidad de disolución, puesto que además del líquido nativo que pierde durante la etapa de vacío posee huecos (espacios intercelulares) factibles de ser llenados. Las otras matrices vegetales presentan valores de impregnación comparables a matrices porosas, como la manzana, aunque en este caso la impregnación se puede deber al vaciamiento de los vasos leñosos más que a la porosidad de la hortaliza.

A partir de los valores obtenidos, se deduce que la presencia de concentraciones altas de AGS (30 g/L), generaron valores de impregnación significativamente más bajos que los que se obtienen cuando se trabaja con disoluciones que no contienen AGS o en concentración de 5 g/L, todas ellas isotónicas con las matrices vegetales ($a_w=0,993$).

En la figura IV.3.6, se observa la evolución de las muestras de brócoli, coliflor, endibia y zanahoria impregnadas con disolución isotónica de sacarosa desde el estado inicial (0) al final de la etapa de vacío ($\theta \rightarrow 1$) y hasta el final de la etapa a presión atmosférica ($1 \rightarrow 2$). Durante la etapa a vacío todas las muestras se hincharon, excepto el brócoli que sufrió un leve encogimiento; el aumento de volumen fue más evidente en las muestras

de endibia. Todas las muestras, tanto si se hincharon como si no, experimentaron pérdidas de líquido nativo durante la etapa de vacío (X_1).

En la etapa a presión atmosférica, la entrada de líquido de impregnación estuvo acompañada de una disminución de volumen de las muestras. Las muestras de brócoli incorporaron un volumen significativo de líquido de impregnación (~12%), mientras que la coliflor, endibia y zanahoria compensaron la salida de líquido nativo ocurrido durante la etapa de vacío.

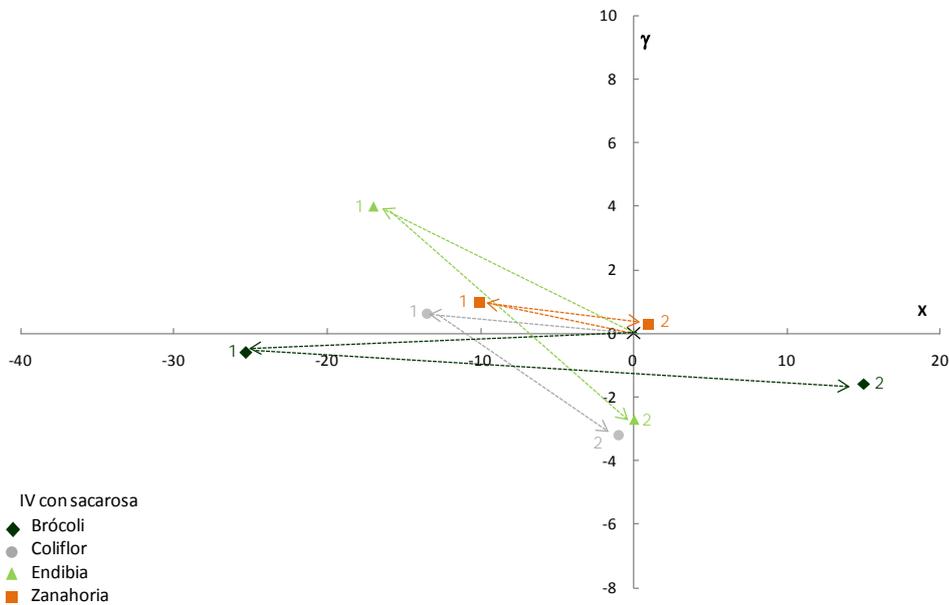


Figura IV.3. 6. Relación entre deformación e impregnación para las muestras de brócoli, coliflor, endibia y zanahoria impregnadas con disolución isotónica de sacarosa, al final de la etapa de vacío (0→1) y al final de la etapa a presión atmosférica (1→ 2).

En el caso las muestras impregnadas con dispersión de AGS 5 (figura IV.3.7), se observó que la variación desde el estado inicial (0) hasta el final de la etapa de vacío (0 → 1) en todas las muestras aumentaron significativamente su volumen. El aumento de volumen fue más evidente en las muestras de brócoli y zanahoria (8%), mientras que las muestras de coliflor y endibia aumentaron un 3%. Todas muestras experimentaron pérdidas de líquido nativo durante la etapa de vacío (X_1).

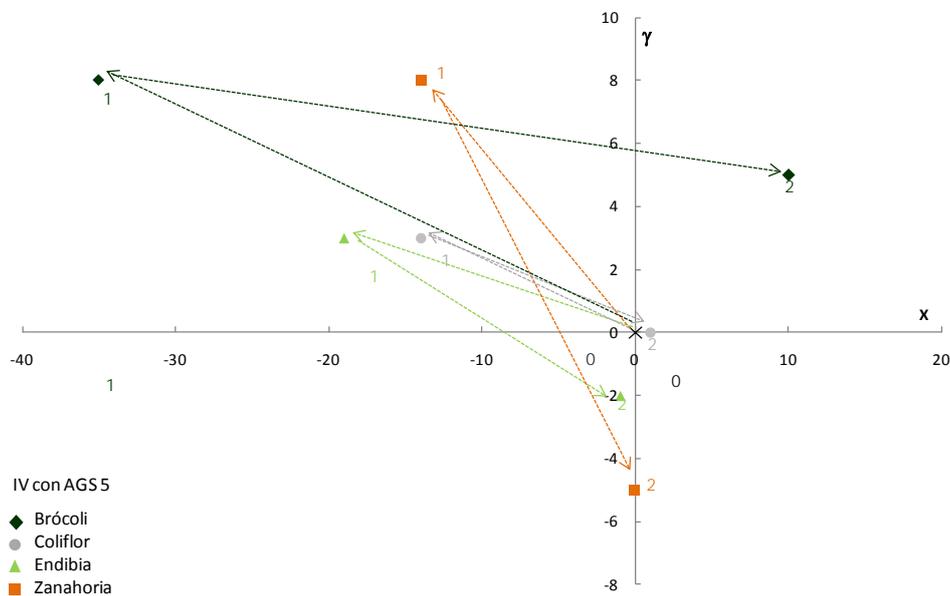


Figura IV.3. 7. Relación entre deformación e impregnación para las muestras de brócoli, coliflor, endibia y zanahoria impregnadas con dispersión de AGS 5, al final de la etapa de vacío (0→1) y al final de la etapa a presión atmosférica (1→ 2).

Al final de la etapa a presión atmosférica (1→2) las muestras disminuyeron su volumen siendo las muestras de zanahoria y endibia las que sufrieron un encogimiento más evidente. La entrada de líquido de impregnación compensó la pérdida de líquido interno perdido durante la

etapa a vacío. Las muestras de brócoli impregnaron un volumen significativo de líquido que compensó y sobrepasó la salida de líquido antes mencionada.

En la figura IV.3.8, se observa la evolución de las muestras de brócoli, coliflor, endibia y zanahoria impregnadas con dispersión de AGS 30 desde el estado inicial (0) al final de la etapa de vacío (0→1) y hasta el final de la etapa a presión atmosférica (1→2). Durante la etapa a vacío todas las muestras se hincharon y, aunque las muestras no presentaron diferencia significativas en el aumento de volumen, el brócoli tuvo un aumento levemente superior de un 2,8%. Todas las muestras experimentaron pérdidas de líquido nativo durante la etapa de vacío (X_1).

En la etapa a presión atmosférica, la entrada de líquido de impregnación estuvo acompañada de una disminución de volumen de las muestras. Las muestras de brócoli impregnaron un volumen significativo de líquido de impregnación (11%), mientras que las muestras de coliflor, endibia y zanahoria compensaron la salida de líquido nativo ocurrido durante la etapa de vacío.

En general se observó que la concentración de AGS de la dispersión, usada como medio de impregnación, tuvo un efecto significativo sobre los parámetros de HDM-DRP, comparados con los obtenidos al utilizar una disolución isotónica de sacarosa. La presencia de una cantidad mayor de moléculas de gran tamaño ($\sim 10^6$ Da) probablemente aumentó la resistencia al flujo de la dispersión, lo que dificultó su ingreso en las matrices vegetales.

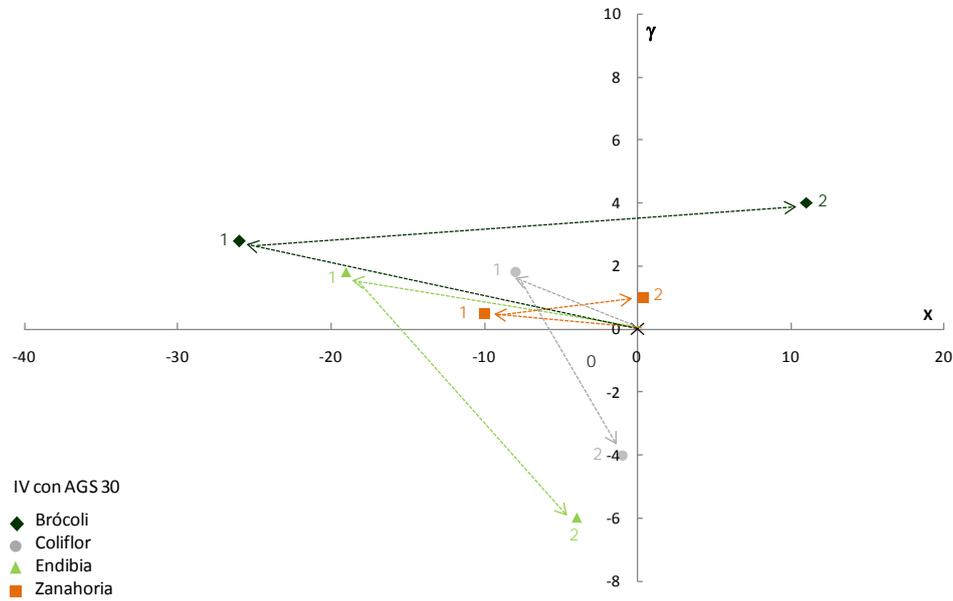


Figura IV.3. 8. Relación entre deformación e impregnación para las muestras de brócoli, coliflor, endibia y zanahoria impregnadas con dispersión de AGS 30, al final de la etapa de vacío (0→1) y al final de la etapa a presión atmosférica (1→ 2).

4. Efecto de la IV sobre la tasa respiratoria (TR) de las hortalizas

4.1. Diseño de experiencias

Para el estudio del efecto de la IV sobre la respiración del material vegetal se utilizaron tanto muestras frescas como muestras impregnadas con disolución isotónica de sacarosa, así como impregnadas con dispersiones de AGS (5 y 30). Las experiencias se llevaron a cabo siguiendo la metodología descrita en materiales y métodos apartado 5.

El ensayo se realizó, para dos temperaturas: 20°C (temperatura ambiente) y 5 °C (temperatura de refrigeración, y a la cual normalmente se conservan y exponen este tipo de productos para su venta). Todas las mediciones se realizaron por triplicado.

4.2. Resultados

La intensidad respiratoria, cantidad de O₂ absorbida o de CO₂ desprendido, por un órgano vegetal de un peso determinado durante un tiempo definido, es un buen indicador de la actividad metabólica de los tejidos y por tanto permite identificar la influencia del proceso de IV en las muestras.

Se realizaron dos ensayos independientes, a 5 y 20 °C, para determinar el efecto de la temperatura en las muestras impregnadas con dispersión de AGS. Dichos valores se expresaron como mL de O₂ consumido y CO₂ producido por kg de muestra en una hora. El CR es la relación entre el CO₂ producido y el O₂ consumido.

Todos los ensayos confirmaron el efecto de la temperatura sobre la activación de los enzimas que participan en los procesos metabólicos normales de las plantas. Muchos vegetales presentan una actividad respiratoria óptima entre los 30-40 °C, aunque la temperatura puede actuar como activadora de las velocidades de reacción, temperaturas muy elevadas tienen un efecto antagonista.

Una visión general de los valores obtenidos para cada hortaliza, según el tratamiento aplicado, se observa en la figura IV.3.9. La gráfica superior muestra los resultados a 5 °C y mientras que la inferior presenta los resultados a 20 °C. La comparación de las figuras muestra claramente un

aumento de la actividad respiratoria con el aumento de la temperatura. Se aprecia además que de todas las hortalizas estudiadas el brócoli presentó una tasa respiratoria más elevada, lo que concuerda con lo encontrado en bibliografía (Brash y Liu, 1998; FAO, 2006).

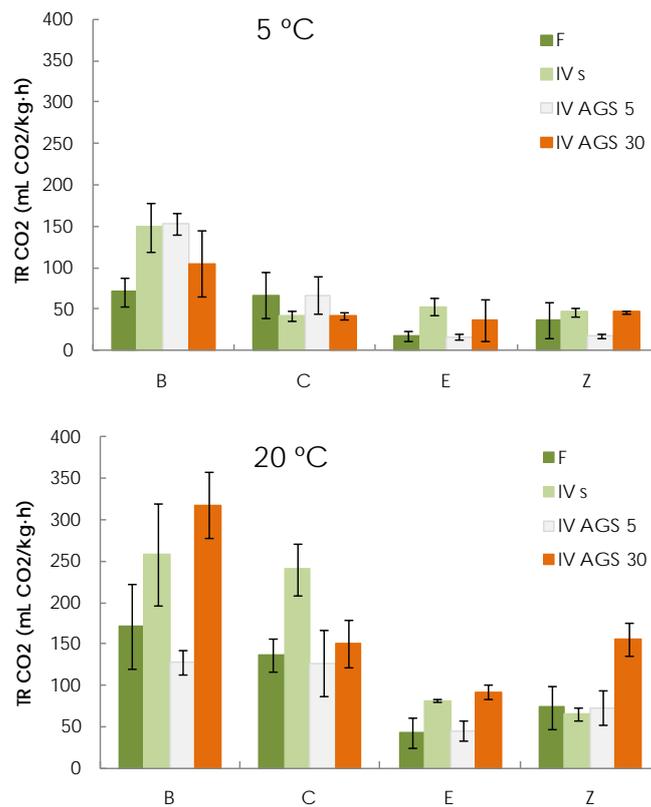


Figura IV.3. 9. TR CO2 para brócoli (B), coliflor (C), endibia (E) y zanahoria (Z), para las muestras frescas (F) e impregnadas con disolución isotónicas de sacarosa (IV s) e impregnadas con dispersión de AGS 5 y 30 (IV AGS 5 e IV AGS 30, respectivamente). Superior ensayo realizado a 5 °C e inferior a 20 °C.

Posteriormente se analizó cada hortaliza por separado, comprobando el efecto de la IV sobre la respiración, así como la presencia de aloe en las

dispersiones de impregnación. La figura IV.3.10, muestra los valores para el coeficiente respiratorio de las muestras frescas e impregnadas a las dos temperaturas de ensayo

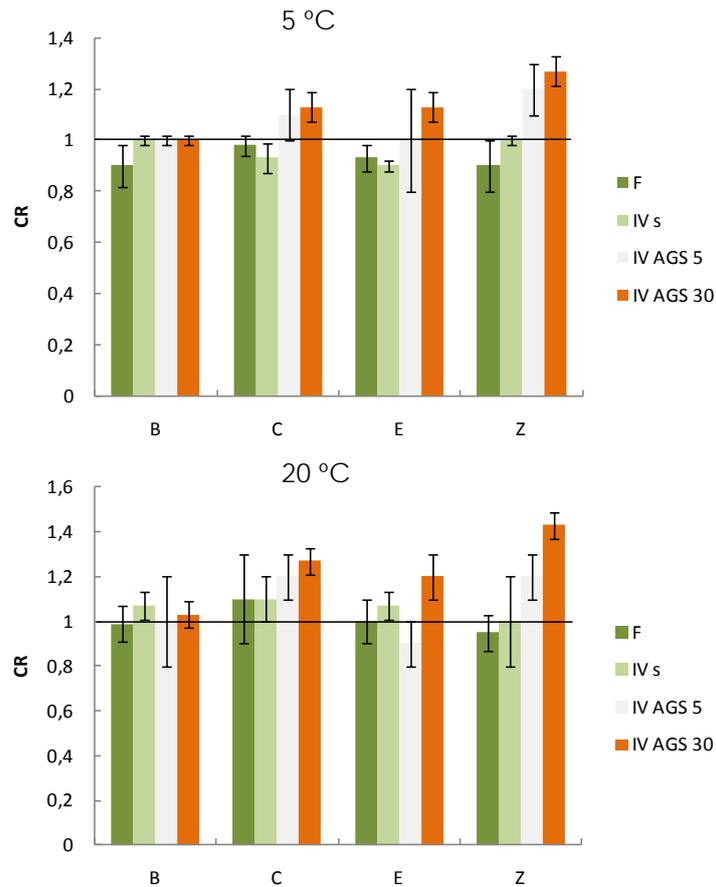


Figura IV.3. 10. CR para brócoli (B), coliflor (C), endibia (E) y zanahoria (Z), para las muestras frescas (F) e impregnadas con disolución isotónicas de sacarosa (IV s) e impregnadas con dispersión de AGS 5 y 30 (IV AGS 5 e IV AGS 30, respectivamente). Superior ensayo realizado a 5 °C e inferior a 20 °C.

Los valores obtenidos se acercaron a 1, sobrepasándolo en casi todas las muestras impregnadas con AGS 30. Las muestras mantenidas a 20 °C

incrementaron significativamente ese valor (B y C $P < 0,05$; E y Z $P < 0,01$, respectivamente). Es probable que la temperatura y la IV ejercieran un efecto sobre las células de las estructuras vegetales en estudio, provocando un descenso del O_2 consumido sin afectar la producción de CO_2 , lo cual puede ser relacionado con el desarrollo de procesos fermentativos como respuesta a la alteración celular (Castelló, Fito, & Chiralt, 2006).

4.2.1. Brócoli

Se debe considerar que en todo producto agrícola, una vez cosechado, comienza el uso de las sustancias de almacenamiento para formar productos derivados, como CO_2 (Hardenburg *et al.*, 1988; PTRIC, 2010). Un control efectivo sobre los cambios metabólicos se consigue con la disminución de la temperatura, por tanto este factor influirá en los valores de la TR.

Para el brócoli fresco la tasa de respiración es relativamente alta. La forma de controlar el deterioro que esto puede producir es aplicar un enfriamiento rápido y la posterior aplicación de temperaturas de refrigeración para almacenarlo (0-5 °C) (FAO, 2006).

Los valores medios ($\pm D.S.$) para la tasa respiratoria (TR O_2 y CO_2) y el coeficiente respiratorio de brócoli fresco e impregnado con disolución isotónica de sacarosa y dispersión de AGS en concentraciones de 5 y 30 g/L (AGS 5 y AGS 30 respectivamente), para los ensayos realizados a 5 y 20 °C, se exponen en la tabla IV.3.7.

Tabla IV.3.7. TR CO₂ y CR, para brócoli fresco e impregnado con disolución de sacarosa (IV Sac) y con dispersión de AGS (IV AGS 5 e IV AGS 30).

Tratamiento	TR O ₂		TR CO ₂		CR	
	(mL O ₂ kg ⁻¹ h ⁻¹)		(mL CO ₂ kg ⁻¹ h ⁻¹)			
	5 °C	20 °C	5 °C	20 °C	5 °C	20 °C
	**	**	**	**	*	
Fresco	82 ± 20 ^a	82 ± 20 ^a	71 ± 17 ^e	172 ± 51 ^h	0,90 ± 0,05 ^j	0,99 ± 0,08
IV Sac	148 ± 28 ^b	148 ± 28 ^b	149 ± 30 ^f	258 ± 62 ⁱ	1,00 ± 0,02 ^k	1,07 ± 0,06
IVAGS 5	152 ± 18 ^b	152 ± 18 ^b	153 ± 13 ^f	128 ± 15 ^h	1, ± 0,02 ^k	1,0 ± 0,2
IV AGS 30	106 ± 5 ^a	106 ± 5 ^a	105 ± 4 ^g	318 ± 40 ⁱ	1,00 ± 0,02 ^k	1,03 ± 0,06

*: significativo al 95%; **: significativo al 99%

a,b,c... letras distintas señalan diferencias significativas entre los valores

Como se observó en el apartado 5 del capítulo IV.1, la aplicación de vacío en las muestras de brócoli ejerció un aumento de la tasa de respiración, incrementando el consumo de oxígeno y la producción de dióxido de carbono, excepto para las muestras impregnadas con AGS 5 y mantenidas a 20 °C. En las muestras impregnadas con disolución isotónica de sacarosa y dispersión de AGS 5 y mantenidas a 5 °C, se observó un aumento significativo ($P < 0,01$) de la TR, comparados con los valores obtenidos en las muestras frescas o impregnadas con AGS 30.

En este caso, el ingreso de dispersión de AGS 30 no pareció causar alteración en el normal desarrollo del proceso respiratorio. La dispersión de aloe no causó alteraciones significativas en la matriz vegetal. Al parecer el ingreso de los solutos presentes en la dispersión de aloe compensó el daño causado por el efecto del vacío. Los polisacáridos, a esos niveles de concentración, pudieron dar firmeza a la estructura, pero no ser usados inmediatamente como solutos para la actividad respiratoria.

En cambio la actividad respiratoria se incrementó en las muestras impregnadas con disolución isotónica de sacarosa o con dispersión de AGS 5, al parecer la incorporación del líquido de impregnación incrementó la disponibilidad de sustratos para el desarrollo de las actividades metabólicas, y por ende para el intercambio gaseoso.

Considerando que no se apreció alteración de la estructura celular (Figura IV.3.11) y, que las células frescas contaban de espacios (gas) que posteriormente se apreciaron llenos del líquido de impregnación, sería factible que los solutos ingresados fueran usados en el desarrollo de las actividades metabólicas de la hortaliza.

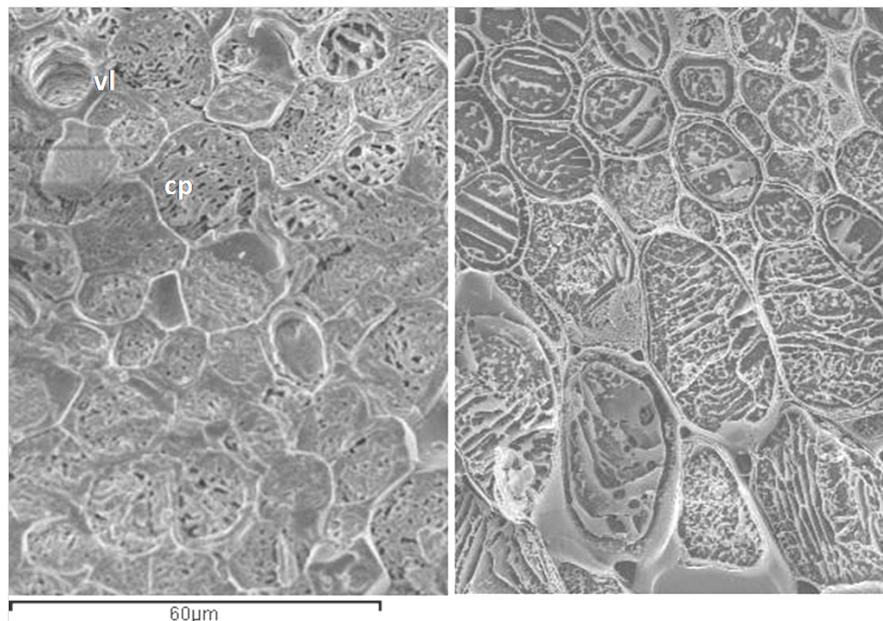


Figura IV.3. 11. Tejido de brócoli fresco (izquierda) se observan las células parenquimáticas (cp) esponjosas con paredes celulares diferenciadas y vasos leñosos (vl) vacíos. A la derecha, se observa el tejido impregnado con dispersión de AGS 5, la conformación interna más compacta y la pared celular engrosada.

Los valores obtenidos para la tasa de respiración del brócoli en las muestras mantenidas a 20 °C, como se esperaba, aumentaron al elevar la temperatura de almacenamiento de las muestras durante el ensayo debido a la activación de los enzimas que participan en las actividades biológicas, entre ellas la respiración. (Castelló, et al., 2006; Mazliak, 1976; Wiley, 1994).

Un caso especial se observó en la TR de las muestras impregnadas con AGS 5. Para estas muestras la TR disminuyó hasta valores similares al desarrollado por la hortaliza fresca. Si consideramos que el oxígeno es un sustrato de las oxidaciones respiratorias, la dispersión de AGS 5 contiene una parte de solutos mínima, por tanto su contenido en oxígeno (donado por la fase acuosa) es "elevado". La disponibilidad de este elemento ralentiza el intercambio con el medio. Dicha situación pudo tener un efecto limitante en el intercambio gaseoso; consideración que se fundamenta en el valor del CR, el cual no sobrepasó el valor 1, indicando que el proceso respiratorio se desarrolló con normalidad.

En las demás muestras sometidas a IV el efecto observado fue el aumento de la TR, efecto esperado puesto que se liga al aumento de la temperatura. En ambos casos, muestras IV con disolución isotónica de sacarosa o AGS 30, el contenido de sólidos limita el consumo de oxígeno. Por tanto el proceso de respiración se desarrolla con aporte de solutos del medio de impregnación y consumiendo oxígeno del entorno, necesario para las oxidaciones metabólicas.

Para evaluar el estado metabólico de las muestras estudiadas se calculó el coeficiente de respiración (CR). En todos los caso se obtuvo valores muy cercanos a 1, lo cual indica que el proceso metabólico se encuentra en el nivel de consumo de hidratos de carbono, sin que exista

hasta ese momento degradación de ácidos orgánicos. Del mismo modo se descarta la respiración anaeróbica de las muestras, las cuales, durante el desarrollo del ensayo, mantuvieron niveles normales de respiración.

La temperatura a la que se mantuvo las muestras y los efectos del vacío afectaron la tasa de respiración del brócoli, aumentando en ambos casos, con excepción de la muestra IV AGS5 a 20 °C.

4.2.2. Coliflor

Los valores para la tasa respiratoria de la coliflor y su coeficiente respiratorio (\pm D.E.) se muestran en la tabla IV.3.8. Se observó que el proceso de IV afectó significativamente la TR CO₂ ($P_{\text{valor}} < 0,01$) de las muestras. En cambio, aunque la TR O₂ varió entre las muestras frescas e impregnadas, dichas diferencias no fueron significativas. La temperatura causó el efecto esperado, es decir, un aumento significativo de la TR con un nivel de confianza del 99 %.

Tabla IV.3.8. TR O₂, TR CO₂ y CR, para coliflor fresca e impregnada con disolución de sacarosa (IV Sac) y con dispersión de AGS (IV AGS 5 e IV AGS 30).

Tratamiento	TR O ₂		TR CO ₂		CR	
	(mL O ₂ kg ⁻¹ h ⁻¹)		(mL CO ₂ kg ⁻¹ h ⁻¹)			
	5 °C	20 °C	5 °C	20 °C	5 °C	20 °C
		**		**	*	
Fresco	71 ± 31	124 ± 4 ^a	67 ± 28	137 ± 20 ^c	0,98 ± 0,04 ^e	1,1 ± 0,2
IV Sac	45 ± 5	213 ± 8 ^b	42 ± 6	240 ± 32 ^d	0,93 ± 0,06 ^e	1,1 ± 0,1
IVAGS 5	62 ± 13	103 ± 21 ^a	67 ± 23	127 ± 40 ^c	1,1 ± 0,1 ^{ef}	1,2 ± 0,1
IV AGS 30	37 ± 3	120 ± 24 ^a	42 ± 5	151 ± 29 ^c	1,13 ± 0,06 ^f	1,27 ± 0,06

*: significativo al 95%; **: significativo al 99%

a,b,c... letras distintas señalan diferencias significativas entre los valores

Las muestras mantenidas a 5 °C durante el ensayo mostraron una TR de O₂ y CO₂ mayor que en las muestras impregnadas, aunque dicha variación no fue estadísticamente significativa. El consumo de O₂ para las muestras frescas e impregnadas, no influyó sobre la tasa de respiración de O₂. La temperatura ejerció un efecto significativo ($P_{\text{valor}} < 0,01$) sobre este índice, aumentando el consumo de O₂. Como se indicó anteriormente, el control de la temperatura es un factor preponderante a la hora de controlar los procesos metabólicos en organismos vivos.

Con respecto a la producción de CO₂, el proceso de IV no afectó significativamente su producción. En cambio la temperatura ejerció una influencia sobre la TR de CO₂ y, tal como se observó en los distintos ensayos, aumentando la temperatura se eleva significativamente ($P_{\text{valor}} < 0,01$) la producción de CO₂ en las muestras y por ende se acelera la degradación de las mismas.

El coeficiente de respiración (CR) se vio afectado por la presencia de aloe en el proceso de impregnación, así la degradación de hidratos de carbono se incrementó al introducirlo en los tejidos vegetales.

El coeficiente de respiración de las muestras frescas e impregnadas, indicó diferencias significativas ($P_{\text{valor}} < 0,05$) en las muestras mantenidas a 5 °C, observándose variaciones de $0,93 \pm 0,06$ a $1,13 \pm 0,06$. Al compararlos con los CR obtenidos en las muestras mantenidas a 20 °C, los valores indicaron la degradación de los azúcares (hidratos de carbono simples) en la hortaliza, influenciado por el aumento de la temperatura. Como se observa el factor temperatura influyó significativamente ($P < 0,05$) en el proceso respiratorio de la hortaliza.

En este caso, se puede deducir, que el proceso de IV disminuyó el consumo de O₂ y la producción de CO₂ en las muestras refrigeradas, es

decir, ralentizó el proceso respiratorio. La temperatura, como en los casos anteriores, tuvo un efecto estadísticamente significativo con un nivel de confianza del 99%, en los valores de la tasa respiratoria obtenidos para la coliflor.

4.2.3. Endibia

La tabla IV.3.9 muestra los valores de la tasa de respiración, en términos de consumo de O₂ (TR O₂) y producción de CO₂ (TR CO₂), para las hojas de endibia frescas e impregnadas con disolución isotónica de sacarosa y dispersión de AGS 5 y 30 a las temperaturas estudiadas (5 y 20 °C).

Los valores de O₂ y CO₂ en las muestras señalaron tendencias similares, durante el tiempo de ensayo, respecto a la temperatura a la que se mantuvieron las muestras, afectando significativamente al O₂ consumido y al CO₂ producido en el sistema ($P_{\text{valor}} < 0,01$).

Tabla IV.3.9. TR O₂, TR CO₂ y CR, para endibia fresca e impregnada con disolución de sacarosa (IV Sac) y con dispersión de AGS (IV AGS 5 e IV AGS 30).

Tratamiento	TR O ₂		TR CO ₂		CR	
	(mL O ₂ kg ⁻¹ h ⁻¹)		(mL CO ₂ kg ⁻¹ h ⁻¹)			
	5 °C	20 °C	5 °C	20 °C	5 °C	20 °C
	**	**	**	**	*	*
Fresco	19 ± 7 ^a	44 ± 18 ^c	18 ± 6 ^e	43 ± 19 ^g	0,93 ± 0,05 ⁱ	1,0 ± 0,1 ^k
IV Sac	57 ± 12 ^b	77 ± 7 ^d	53 ± 10 ^f	82 ± 2 ^h	0,90 ± 0,02 ^j	1,07 ± 0,06 ^{kl}
IVAGS 5	17 ± 2 ^a	50 ± 7 ^c	17 ± 4 ^e	45 ± 13 ^g	1,0 ± 0,1 ⁱ	0,9 ± 0,1 ^k
IV AGS 30	32 ± 20 ^a	57 ± 20 ^d	37 ± 25 ^{ef}	92 ± 9 ^h	1,13 ± 0,06 ^j	1,2 ± 0,1 ^l

*: significativo al 95%; **: significativo al 99%

a,b,c... letras distintas señalan diferencias significativas entre los valores

Un factor del ambiente operacional que influye decisivamente sobre la magnitud de las tasas respiratorias de los vegetales, y consecuentemente con el CR, corresponde a la respuesta de las muestras a la temperatura (Guardiola y García, 1990; Mazliak, 1976).

En general los valores de CO₂ generado, comparados al O₂ consumido, presentaron un comportamiento coherente marcado por el incremento de temperatura. Este hecho se reflejó en el valor de CR, en todos los casos muy próximo a 1, en el que el proceso respiratorio se realizó normalmente sin pasar a la etapa anaeróbica.

El consumo de O₂ de las muestras de endibia sin impregnar o impregnadas con disoluciones de AGS 5 o 30, presentaron diferencias significativas respecto a las muestras impregnadas con sacarosa ($P_{\text{valor}} < 0,01$). Esta diferencia en la TR se puede explicar por la naturaleza del aloe presente en el líquido de impregnación, el cual se obtiene de las hojas de la planta de aloe y con un contenido en sólidos (< 3 °Brix) muy similar a los presentados por la endibia. En cambio, la presencia y concentración de sacarosa en la disolución isotónica pudo afectar la estructura vegetal, debido a la concentración de azúcares y por la diferencia en sólidos solubles presentes en la disolución (~8 ° Brix) y la concentración normal presente en la endibia (~3 ° Brix).

En los valores referidos a la producción de CO₂, se observó diferencias significativas ($P_{\text{valor}} < 0,01$) entre las muestras frescas o IV con AGS 5 y las muestras impregnadas con disolución isotónica de sacarosa o AGS 30. Es probable que la diferencia de sólidos solubles disponibles causara el aumento de la TR. Para las muestras IV con AGS 30, el valor se elevó incluso por sobre el obtenido en la IV con sacarosa. Al parecer, el aumento de la temperatura y el ingreso de una alta concentración de aloe a la estructura

aumento la velocidad de respiración y terminó por afectar el proceso, iniciando la fase de respiración anaeróbica y por consiguiente la alteración de la hortaliza, como se observa en el valor de CR (1,2).

El coeficiente de respiración (CR) de las muestras de endibia, relación CO₂ producido (mL) por O₂ consumido (mL), reveló que el uso de AGS 30, como líquido de impregnación, aumentó la degradación de las muestras para las dos temperaturas de ensayo. El óptimo de conservación de esta hortaliza se logra a temperaturas de refrigeración.

4.2.4. Zanahoria

La variación de la tasa de respiración de las muestras de zanahoria fresca e impregnada con disolución isotónica de sacarosa, expresada como consumo de oxígeno (mLO₂kg⁻¹h⁻¹) y producción de dióxido de carbono en (mLCO₂kg⁻¹h⁻¹), se observa en la tabla IV.3. 10.

Tabla IV.3.10. TR O₂, TR CO₂ y CR, para zanahoria fresca o impregnada con disolución de sacarosa (IV Sac) o con dispersión de AGS (IV AGS 5 o IV AGS 30).

Tratamiento	TR O ₂		TR CO ₂		CR	
	(mL O ₂ kg ⁻¹ h ⁻¹)		(mL CO ₂ kg ⁻¹ h ⁻¹)			
	5 °C	20 °C	5 °C	20 °C	5 °C	20 °C
	*	*	**	**	**	**
Fresco	41 ± 21 ^a	78 ± 22 ^c	38 ± 22 ^e	74 ± 26 ^g	0,90 ± 0,08 ⁱ	0,95 ± 0,08 ^k
IV Sac	47 ± 5 ^a	66 ± 6 ^c	47 ± 5 ^e	66 ± 8 ^g	1,00 ± 0,02 ⁱ	1,0 ± 0,2 ^{kl}
IVAGS 5	16 ± 3 ^b	63 ± 12 ^c	18 ± 3 ^f	73 ± 21 ^g	1,2 ± 0,1 ^j	1,2 ± 0,1 ^l
IV AGS 30	37 ± 2 ^{ab}	108 ± 10 ^d	47 ± 2 ^f	156 ± 20 ^h	1,13 ± 0,06 ^j	1,43 ± 0,06 ^m

*: significativo al 95%; **: significativo al 99%

a,b,c... letras distintas señalan diferencias significativas entre los valores

Como en los casos anteriores, la temperatura ejerció un efecto significativo sobre el valor de la tasa de respiración (O_2 y CO_2), con un nivel de confianza del 95%.

Las muestras de zanahoria sometidas a tratamiento de IV con disolución isotónica de sacarosa, no presentaron diferencia significativas en los valores de la tasa respiratoria (O_2 y CO_2) respecto de las muestras frescas, para ninguna de las temperaturas usadas en el ensayo. La sustitución de líquido nativo (rico en hidratos de carbono simples) propio de este tejido de reserva, por una disolución de sacarosa, no afectó el desarrollo de su proceso respiratorio. Como se observó en el apartado 5 del capítulo IV.1, la estructura celular de la zanahoria no se afectó por la aplicación de vacío, debido a la rigidez de su conformación.

El uso de AGS, en concentraciones de 5 ó 30 g/L, disminuyó el valor de las tasas respiratorias en consumo de O_2 y CO_2 , excepto para las muestras impregnadas con AGS 30 y conservadas a 20 °C, las cuales aumentaron significativamente ($P < 0,05$) su producción. En este caso, se deduce que el efecto de la temperatura sobre los procesos metabólicos propios de la hortaliza y la presencia de polisacáridos presentes en el aloe, así como los azúcares propios de la zanahoria, se degradaron en el proceso oxidativo generando una alta concentración de CO_2 y dando inicio a la fase anaeróbica de este proceso, lo cual consta en el valor de CR obtenido (1,43)

Las muestras impregnadas con AGS 5 presentaron un comportamiento distinto al observado anteriormente, puesto que disminuye su consumo de O_2 y la producción de CO_2 , es decir el proceso respiratorio se ralentiza. La situación se puede explicar por el intercambio de líquido nativo azucarado por una dispersión acuosa menos concentrada en sólidos solubles, esto

incrementó la disponibilidad acuosa en la matriz vegetal convirtiéndose en una limitante para el intercambio gaseoso. Se puede observar que los valores para el coeficiente respiratorio, para ambas temperaturas, fue 1,2 lo cual indicó un desarrollo de actividad anaeróbica, probablemente del tipo fermentativo, como respuesta a la alteración sufrida por el ingreso de disolución acuosa en las células.

El CR obtuvo valores muy cercanos a uno, excepto para las muestras de zanahoria impregnadas con dispersión de AGS 30 y mantenidas a 20 °C durante el ensayo.

5. Cuantificación del aloe incorporado

5.1. Diseño de experiencias

Con los valores medios de impregnación obtenidos experimentalmente, y previo análisis de ANOVA simple de cada uno de los factores del mecanismo hidrodinámico (HDM) y los fenómenos de deformación-relajación (DRP) asociados, se obtuvo la cuantificación teórica de la concentración de AGS ingresado, en las matrices vegetales, a las dos concentraciones estudiadas (AGS 5 y 30).

Para la determinación de polisacáridos de Aloe vera en las matrices tanto de muestras frescas como impregnadas se siguió la metodología descrita en el capítulo de materiales y métodos apartado 4. Las mediciones se realizaron por triplicado.

Para analizar mejor la influencia de la disolución con aloe sobre la operación de impregnación se controló el material vegetal. Para el análisis de resultados se utilizó el programa Statgraphics Centurion XV (StatPoint Technologies Inc., USA), aplicando un análisis de la varianza unifactorial.

La determinación de ácido L-málico presente en el Aloe vera y en las matrices, tanto de muestras frescas como impregnadas, se realizaron siguiendo la metodología descrita en el capítulo de materiales y métodos apartado 5. Las mediciones se realizaron por triplicado.

Se analizó la variable "gramos de ácido L-málico ingresado en 100 g de materia seca" en función del medio de impregnación utilizado, para cada hortaliza por separado. Los resultados se analizaron con el programa Statgraphics Centurion XV (StatPoint Technologies Inc., USA), aplicando un análisis de la varianza unifactorial.

La determinación de ión Ca^{2+} presente en el Aloe vera y en las matrices, tanto de muestras frescas como impregnadas, se realizó siguiendo la metodología descrita en el capítulo de materiales y métodos apartado 6. Las mediciones se realizaron por triplicado.

Se analizó la variable "gramos de ión Ca^{2+} ingresado en 100 g de materia seca" en función del medio de impregnación utilizado, para cada hortaliza por separado. Los de resultados se analizaron con el programa Statgraphics Centurion XV, aplicando un análisis de la varianza unifactorial.

5.2. Resultados

5.2.1. A partir de un modelo basado en balances de materia

La ecuación del modelo que relaciona la masa de alimento enriquecido, por aplicación de la técnica de IV, con la cantidad del componente con actividad fisiológica incorporado, deducida por Betoret (2002), permitió tener un parámetro inicial de cuantificación. Considerando las propiedades fisicoquímicas del componente en estudio, y mediante la aplicación de los correspondientes balances de masa, es posible estimar la cantidad de componente probable de ser incorporado a un producto determinado. Las estimaciones se realizaron en función de los valores medios de impregnación con dispersión de AGS, en concentraciones 5 y 30 g/L, para las matrices vegetales estudiadas, las cuales se observan en la tabla IV. 3.11.

Los resultados obtenidos se muestran en la tabla IV.3.12. Para las disoluciones analizadas se muestra la masa de AGS, en mg, incorporada a 100 g de hortaliza en función de la concentración de AGS utilizado en la disolución.

Tabla IV.3.11. Valores medios de impregnación con disolución externa para matrices vegetales en estudio (X_2 en % v/v).

	Endibia	Brócoli	Coliflor	Zanahoria
AGS 5	18±2	46±1	7,7±0,7	14,7±0,6
AGS 30	15±2	42±1	15,1±0,7	10,4±0,6

Tabla IV.3. 12 . Contenido de AGS determinado con el modelo matemático para las hortalizas en estudio (mg/100g base húmeda).

	Endibia	Brócoli	Coliflor	Zanahoria
AGS 5	75,4	153,8	35,8	61,8
AGS 30	386,7	865,5	379,4	272,1

Los resultados obtenidos permitieron estimar la cantidad de Aloe incorporado al utilizar las disoluciones de AGS 5 y 30. Teóricamente se obtiene un contenido final de Aloe similar a los ofrecidos en formato cápsulas que van de 50 mg a 1 g. Por otra parte, esta interpretación cuantitativa de los resultados sólo permite inferir posibles contenidos de AGS en las hortalizas estudiadas. El modelo ha sido aplicado con éxito al enriquecer frutas y hortalizas con elementos minerales y microorganismos prebióticos.

5.2.2. A partir del contenido de polisacáridos

Los componentes químicos mayoritarios presentes en el aloe vera gel son agua, polisacáridos, monosacáridos libres, y ácidos orgánicos, entre otros. Estos componentes han demostrado actividad separada o sinérgica entre ellos (Karaca *et al.*, 1995; Reynolds, 2004; Womble y Helderman, 1992). Por tanto su detección se ha presentado como un reto a la hora de proponer un método analítico. Generalmente se ha utilizado la cromatografía por exclusión de tamaño (SEC) para determinar el contenido de polisacáridos en el aloe. Eberendu *et al.* (2005) demostraron que algunos elementos utilizados comúnmente en la falsificación de

productos de aloe, generaban un falso positivo. Estos adulterantes potenciales tienen un peso molecular similar al verdadero aloe, entre ellos las gomas: guar, karaya, algarrobo, ghatti, xantana o tragacanto y maltodextrina.

Sin embargo, al someterlas a medición espectrofotométrica con el colorante Rojo Congo su respuesta a la longitud de onda de 540 nm mostró diferencias e al aloe (entre 217 a 283 unidades de absorbancia), como queda de manifiesto en la tabla IV.3.13. (Eberendu *et al.*, 2005)

Tabla IV.3.13. Peso molecular medio y absorbancia correspondiente para sólidos de gel de aloe y otros polisacáridos.

Muestra	Peso molecular promedio (daltons) (SEC)		
	Pico nº 1	Pico nº 2	Absorbancia a 540 nm
Aloe gel (patrón Eberendu)	954992	25763	0,303
Goma garrofin	610942	-	0,020
Goma guar	767361	328095	0,015
Goma karaya	931108	11324	0,050
Goma ghatti	868960	22594	0,054
Goma xantana	594292	-	0,062
Goma de tragacanto	736207	36392	0,088
Maltodextrina	696265	435512	0,086

(Eberendu, *et al.*, 2005)

El uso de esta técnica colorimétrica desarrollada y patentada por Eberendu *et al.*, basada en la estabilidad del complejo formado por los polisacáridos del aloe y el colorante Rojo Congo, con un máximo de

absorbancia a 540 nm, permite la determinación de la cantidad de aloe en el producto basado en la intensidad de dicho complejo coloreado.

Se evaluó la precisión del método determinando el coeficiente de variación o desviación estándar relativa. Se prepararon tres ensayos a 6 concentraciones diferentes de AGS, la evaluación se realizó en triplicado. Se obtuvo la absorbancia a una longitud de onda de 540 nm. La tabla IV.3.14 agrupa los valores obtenidos (\pm D.S.).

Tabla IV.3.14. Dispersión de los valores de la absorbancia.

C mg/L	Promedio	Mediana	D.E.	C.V. %	Mínimo	Máximo
1000	0,22	0,22	0,01	5,8	0,188	0,233
500	0,131	0,132	0,007	5,2	0,121	0,141
250	0,075	0,077	0,007	9,4	0,064	0,084
125	0,039	0,039	0,003	6,4	0,035	0,043
62,5	0,0253	0,026	0,002	8,6	0,021	0,028
50	0,025	0,024	0,002	7,1	0,022	0,027

Los resultados obtenidos demuestran una buena precisión, el coeficiente de variación mostró valores entre 5,2 y 9,4%. Los valores de absorbancia obtenidos mostraron una repetitividad aceptable y dentro de los parámetros obtenidos en el ensayo original realizado por Eberendu (2005), con su estándar de polisacáridos, los valores oscilaron entre 0,1 y 10%.

Del mismo modo se analizó la exactitud del método desarrollando un análisis de recuperación, ingresando en las muestras frescas e impregnadas una concentración conocida de AGS (25 mg/L), el cual se adicionó después de lograr la formación del complejo. En la tabla IV.3.15 se presenta el valor obtenido para la determinación de polisacáridos en AGS (\pm D.E.).

Datos publicados por Eberendu (2005) reportan contenidos de polisacáridos del orden de, aproximadamente, 20% (p/p) en su patrón de aloe vera, mientras que en los productos de aloe los contenidos varían de 0,5 a 40 % (p/p). Estas variaciones señalan un patrón en la calidad del producto. En la determinación de polisacáridos de aloe vera realizado al AGS, producto utilizado para la elaboración de los medios de impregnación, se obtuvo un valor medio de $17 \pm 4\%$ (p/p) sobre materia seca. El valor obtenido indica un nivel aceptable de polisacáridos que confirman su calidad.

Los valores medios (\pm error estándar) del contenido de polisacáridos en las hortalizas frescas o impregnadas con las dispersiones de AGS en las concentraciones estudiadas, se observan en la tabla IV.3.15. Ésta muestra el contenido de ácido málico, como g/100 g de materia seca, y el % recuperación.

Con el valor del porcentaje de recuperación obtenido se verificó el correcto procedimiento de la determinación (error bruto) y se descartó la presencia de sustancias interferentes en la determinación, comprobando la reproducibilidad del método.

La incorporación de sustancias de origen vegetal, como lo es el gel de aloe, en las matrices vegetales estudiadas refleja la presencia de

sustancias similares en la hortaliza, como queda de manifiesto en la determinación de polisacáridos de aloe en la hortaliza fresca.

Tabla IV.3.15. Contenido medio de polisacáridos de aloe (g/100 g MS) y % de recuperación.

Hortaliza	Tratamiento	g polisacáridos/100 g MS	% Recuperación
**			
Brócoli	F	1,9±0,3 ^a	98
	IV AGS 5	2,9±0,6 ^b	97
	IV AGS 30	3,1±0,3 ^b	95
**			
Coliflor	F	2,0±0,2	98
	IV AGS 5	1,9±0,2	99
	IV AGS 30	2,1±0,2	94
**			
Endibia	F	1,2±0,5 ^b	94
	IV AGS 5	2±1 ^d	97
	IV AGS 30	3,5±0,5 ^e	95
**			
Zanahoria	F	2,1±0,6 ^f	98
	IV AGS 5	2,6±0,8 ^g	95
	IV AGS 30	2,9±0,6 ^g	95

*: significativo al 95%; **: significativo al 99%

a,b,c... letras distintas señalan diferencias significativas entre los valores

El método colorimétrico se desarrolló para controlar la presencia de sustancias adulterantes en los productos de aloe, y se adaptó

convenientemente a la determinación del componente descrito, según los valores obtenidos y el porcentaje de recuperación para los ensayos realizados.

Las diferencias presentadas en la incorporación de polisacáridos a la matriz estructural de las hortalizas fue significativa para brócoli, endibia y zanahoria y en la coliflor en menor medida. Se debe considerar que el contenido de carbohidratos (fibra) en estas hortalizas es del orden de 2 a 3 g/100 g de materia comestible. La alta presencia de fibra puede haber causado alguna interferencia en las mediciones. Bajo esta consideración, se comprobaron las estimaciones de AGS ingresado por dos métodos adicionales, considerando los componentes principales del aloe.

En base a las determinaciones de polisacáridos, se calculó la cantidad de aloe ingresado en cada estructura vegetal. Los valores (\pm D.E.) obtenidos se observan en la tabla IV.3.16.

Tabla IV.3.16. Estimación del contenido medio de AGS (g/100 g MS) en las hortalizas en estudio impregnadas con dispersión de AGS 5 y 30 basados en el contenido de polisacáridos.

Hortaliza	AGS	% X ₂	g aloe/100 g MS	
			Teórico	Experimental
Brócoli	5	14 \pm 2	1,54	1,1 \pm 0,2
	30	31 \pm 6	6,18	6,4 \pm 0,8
Coliflor	5	7 \pm 1	0,50	0,9 \pm 0,1
	30	16 \pm 2	3,48	4,6 \pm 0,4
Endibia	5	11 \pm 1	1,32	0,68 \pm 0,01
	30	19 \pm 2	6,14	4,3 \pm 0,6
Zanahoria	5	7,6 \pm 0,9	0,62	0,7 \pm 0,2
	30	11,7 \pm 0,8	2,23	2.3 \pm 0,1

La cuantificación real de aloe a partir del contenido de polisacáridos (valores experimentales) resultó para la mayoría de las hortalizas en estudio similar a los calculados, cuyo principal componente son los polisacáridos. Cabe pensar que una incorporación adicional de aloe se debió a la cierta cantidad adherida a la superficie de la hortaliza.

En general los valores estimados, en base a la cantidad de polisacáridos presente en las muestras, resultaron acordes a los obtenidos teóricamente. Se observó una correcta adecuación del método de determinación colorimétrica a la determinación de polisacáridos incorporados a las muestras impregnadas con AGS.

5.2.3. A partir del contenido en ácido málico

El único ácido orgánico contenido en el gel de la hoja fresca de Aloe es el ácido málico. El aloe es una planta tipo CAM (Crassulacean Acidic Metabolism plants), las cuales se distinguen del resto de las plantas del mundo vegetal, por no desarrollar fotosíntesis. Las CAM abren los estomas por la noche, evitando la transpiración en periodos de gran calor diurna, y convierten el dióxido de carbono en ácido málico. Al día siguiente, con los estomas cerrados, convierten el ácido málico en azúcares.

El valor medio (\pm D.E.) de ácido L-málico en el gel de aloe vera en polvo (AGS) se presenta en la tabla IV.3.17, con su correspondiente % de recuperación.

Tabla IV.3.17. Contenido medio de ácido L-málico en AGS (g/100 g) y % de recuperación.

Contenido g / 100 g AGS	% Recuperación
6,9 \pm 0,2	98,2 \pm 1,1

El porcentaje de recuperación obtenido con el uso de un estándar de control, permitió verificar el correcto procedimiento de la determinación (error bruto) y establecer si la disolución presenta sustancias de interferencia para la determinación. Con los valores obtenidos se comprueba la reproducibilidad del método.

Varios autores reportan contenidos de ácido málico del orden de 409-656 $\mu\text{mol/g}$ en Base seca (5,48-8,80 g ácido málico/100 g Aloe) (Biber, 1950; Jerzy, 1984; Paez *et al.*, 2000).

El valor medio obtenido en la determinación espectrofotométrica de ácido málico en la disolución de AGS está dentro de los parámetros esperados, respecto a las referencias bibliográficas encontradas.

Considerando que el perfil de ácidos orgánicos proporciona información acerca de la frescura del producto y el tiempo entre la cosecha y transformación del mismo, su presencia es un precedente de calidad en el producto (Bozzi *et al.*, 2007).

Los valores medios (\pm error estándar) del contenido de ácido málico en las hortalizas fresca e impregnada con las dispersiones de AGS en las concentraciones estudiadas, se observan en la tabla IV.3.18.

Se registró un incremento en el contenido de ácido L-málico de las muestras impregnadas con dispersión de AGS, excepto en las muestras de coliflor impregnadas con dispersión de AGS 5. Al usar una dispersión acuosa de AGS 5 (es decir, 5 g de AGS/L dispersión) los resultados no variaron significativamente del contenido normal encontrado en la hortaliza fresca. Esto se debe a que esta dispersión se asemeja al gel natural encontrado en la planta de aloe, por tanto sus características son similares a la de otros vegetales. La técnica de impregnación en este caso

sustituyó el ácido málico propio por el donado por el líquido de impregnación, considerando que el mecanismo hidrodinámico actuó sobre la hortaliza, como se comprobó en la caracterización de la misma.

Tabla IV.3.18. Contenido medio de ácido L-málico (g/100 g MS) y % de recuperación.

Hortaliza	Tratamiento	g ácido málico/100 g MS	% Recuperación
**			
Brócoli	F	0,12±0,02 ^a	89±2
	IV AGS 5	0,24±0,04 ^b	93±1
	IV AGS 30	0,48±0,03 ^c	89±1
*			
Coliflor	F	0,2±0,1	88±2
	IV AGS 5	0,2±0,1	89±2
	IV AGS 30	0,4±0,1	94±2
*			
Endibia	F	1,0±0,3 ^d	89±2
	IV AGS 5	1,1±0,2 ^d	91±2
	IV AGS 30	1,4±0,2 ^e	93±2
**			
Zanahoria	F	0,28±0,03 ^f	89±3
	IV AGS 5	0,33±0,02 ^f	95±3
	IV AGS 30	0,51±0,05 ^g	95±2

*: significativo al 95%; **: significativo al 99%

a,b,c... letras distintas señalan diferencias significativas entre los valores

La dispersión de AGS 30 (30 g/L) ingresó cantidades de ácido málico estadísticamente significativas respecto de la hortaliza en estado fresco (brócoli y zanahoria $P < 0,01$ y endibia $P < 0,05$). En la coliflor se observó un leve incremento en su contenido de ácido L-málico respecto a las

muestras frescas, aunque dicho aumento no fue estadísticamente significativo.

El porcentaje de recuperación obtenido para cada hortaliza, según el tratamiento aplicado, permitió verificar el correcto procedimiento de la determinación (error bruto), estableciendo la presencia de sustancias interferentes en las dispersiones. Los valores obtenidos comprueban la reproducibilidad del método.

En base a las diferencias obtenidas en las determinaciones de ácido málico, para las hortalizas en estudio, se calculó la cantidad de aloe ingresado en cada estructura vegetal; Los valores (\pm D.E.) obtenidos se observan en la tabla IV.3.19.

Tabla IV.3.19. Estimación del contenido medio de AGS (g/100 g MS) en las hortalizas en estudio impregnadas con dispersión de AGS 5 y 30 basados en el contenido de ácido L-málico.

Hortaliza	AGS	% X ₂	g aloe/100 g MS	
			Teórico	Experimental
Brócoli	5	40 \pm 6	1,54	1,9 \pm 0,3
	30	29 \pm 3	6,18	8,2 \pm 0,9
Coliflor	5	15 \pm 2	0,50	0,7 \pm 0,1
	30	18 \pm 3	3,48	5,1 \pm 0,9
Endibia	5	14 \pm 2	1,32	0,7 \pm 0,2
	30	16 \pm 2	6,14	4,6 \pm 0,5
Zanahoria	5	16 \pm 4	0,62	0,8 \pm 0,2
	30	16 \pm 4	2,23	4 \pm 1

La cuantificación real de aloe a partir del contenido de ácido málico (valores experimentales) resultó para la mayoría de las hortalizas en estudio superior a los teóricos calculados para AGS. Cabe pensar que la incorporación adicional de aloe en las muestras se puede explicar por la cantidad de dispersión que se adhiere a la superficie de la hortaliza, acorde a la concentración de sólidos en la dispersión.

La dispersión de AGS 30 posee una gran cantidad de sólidos lo que le confiere una mayor viscosidad, la presencia de sólidos en su mayor parte corresponde a mucopolisacáridos los que se unieron a la superficie dotando a la hortaliza de una fina película de recubrimiento, la cual incrementa el contenido en ácido L-málico en la muestra a cuantificar.

5.3. A partir del contenido en Calcio

5.3.1. Minerales en gel de aloe vera en polvo

El contenido de cenizas en el AGS (Aloe Gold Seal - polvo puro obtenido del filete de Aloe vera), fue relativamente alto (tabla IV.3.20), concordando con el reportado por Femenia *et al.*(1999); en la fracción de filete de Aloe vera, donde el autor reporta que los minerales predominantes encontrados fueron: Ca, K, Na y Mg.

Tabla IV.3.20. Determinación de sustancias minerales presentes en el AGS.
(Expresadas en g/100g de materia seca)

Calcio	Sodio	Potasio	Magnesio
4,6±0,8	1,5±0,1	4,0±0,4	0,33±0,03

El principal elemento mineral encontrado fue calcio cuyas cantidades podrían deberse a las sustancias pécticas presentes en la parte interna de la hoja de Aloe vera, uno de los principales contribuyentes para mantener la textura y aspecto, tejido suave y carnosos, de esta sección del Aloe vera. El valor medio en concentración de calcio fue de 4,6 %MS; similar al reportado por Femenia *et al.* ($5,34 \pm 0,14$ %MS).

En el caso de sodio, magnesio y potasio los valores publicados en el mismo estudio indicaron valores de $1,98 \pm 0,15$; $0,76 \pm 0,04$ y $3,06 \pm 0,18$ %MS, respectivamente. En el caso de AGS los valores obtenidos concuerdan con este informe. Según informa Robson *et al.* (1982), la presencia de potasio tiene importancia en la regulación de las propiedades curativas del Aloe vera.

5.3.2. Calcio en hortalizas impregnadas con dispersión de gel de aloe vera en polvo

Los valores medios (\pm error estándar) del contenido de ión Ca^{2+} en las hortalizas frescas e impregnadas con las dispersiones de AGS en las concentraciones estudiadas, se observan en la tabla IV.3.21. El contenido de ión Ca^{2+} se expresó en g/100 g de muestra seca.

Cuando se usó una dispersión acuosa de AGS 5 (es decir, 5 g/L) como medio de impregnación, los resultados no variaron significativamente del contenido normal encontrado en la hortaliza fresca. Esto, como se indicó anteriormente, se puede explicar por la semejanza de la dispersión al gel natural encontrado en la planta de aloe, por tanto sus características son similares a la de otros vegetales. Considerando que el efecto del tratamiento a vacío provocó en las hortalizas una impregnación

cuantificable, se deduce que se sustituyó líquido nativo por dispersión con características semejantes al contenido propio de las hortalizas.

Tabla IV.3.21. Contenido medio de ión Ca^{2+} (g/100 g MS).

Hortaliza	Tratamiento	g ión Ca^{2+} /100 g MS
		**
Brócoli	F	0,34±0,01 ^a
	IV AGS 5	0,34±0,01 ^b
	IV AGS 30	0,444±0,007 ^c
Coliflor	F	0,20±0,06
	IV AGS 5	0,20±0,06
	IV AGS 30	0,24±0,04
		**
Endibia	F	0,51±0,05 ^d
	IV AGS 5	0,51±0,05 ^d
	IV AGS 30	0,70±0,02 ^e
		**
Zanahoria	F	0,20±0,04 ^f
	IV AGS 5	0,22±0,01 ^g
	IV AGS 30	0,298±0,007 ^h

*: significativo al 95%; **: significativo al 99%

a,b,c... letras distintas señalan diferencias significativas entre los valores

La dispersión de AGS 30 (30 g/L) ingresó cantidades de ión Ca^{2+} estadísticamente significativas respecto de las hortalizas en estado fresco ($P < 0,01$), excepto en el caso de la coliflor que, aunque incremento su

contenido en calcio, no presentó diferencias significativas entre las muestras frescas e impregnadas.

Se determinó la cantidad de AGS ingresado en cada hortaliza, basado en las diferencias obtenidas entre las hortalizas frescas e impregnadas con dispersión de gel de aloe; los valores (\pm D.E.) obtenidos se observan en la tabla IV.3.22.

Tabla IV.3.22. Estimación del contenido medio de AGS (g/100 g MS) en las hortalizas en estudio impregnadas con dispersión de AGS 5 y 30, basados en el contenido de ión Ca^{2+} .

Hortaliza	AGS	% X_2	g aloe/100 g MS	
			Teórico	Experimental
Brócoli	5	40 \pm 6	1,54	1,2 \pm 0,07
	30	29 \pm 3	6,18	7,32 \pm 0,07
Coliflor	5	15 \pm 2	0,88	0,49 \pm 0,08
	30	18 \pm 3	1,90	3,2 \pm 0,3
Endibia	5	14 \pm 2	1,32	0,43 \pm 0,09
	30	16 \pm 2	6,14	3,7 \pm 0,3
Zanahoria	5	16 \pm 4	0,62	0,39 \pm 0,09
	30	16 \pm 4	2,23	2,7 \pm 0,2

La cuantificación real, valores experimentales, de AGS a partir del contenido de ión Ca^{2+} , resultó en todos los casos mayores que los teóricos. Se confirma la inclusión en la cuantificación de la dispersión adherida a la superficie de las hortalizas impregnadas. Al igual que en las determinaciones anteriores, se observó un aumento estadísticamente significativo ($P < 0,01$) en las muestras impregnadas con de AGS 30 respecto de las impregnadas con AGS 5. La mayor cantidad de sólidos presente en

esta dispersión eleva la cantidad de los distintos componentes de la misma y, por tanto, su presencia en las determinaciones es mayor.

5.4. Análisis y comparación métodos aplicados

Los valores obtenidos, para la estimación de AGS incorporado a las diferentes matrices vegetales estudiadas, aplicando tres métodos diferentes de detección de componentes mayoritarios en el gel de aloe, mostró resultados consistentes entre los métodos. Los valores se presentan en la tabla IV.3.23.

Tabla IV.3.23. Estimación del contenido medio de AGS (g/100 g MS) en las hortalizas en estudio impregnadas con dispersión de AGS 5 y 30, para los tres métodos de determinación.

Hortaliza	Contenido de AGS (g/100g MS)			
	Teórico	Polisacáridos	ácido L- málico	Ca ²⁺
Brócoli				
IV AGS 5	1,54	1,1±0,2	1,9±0,3	1,2±0,07
IV AGS 30	6,18	6,4±0,8	8,2±0,9	7,32±0,07
Coliflor				
IV AGS 5	0,50	0,9±0,1	0,7±0,1	0,49±0,08
IV AGS 30	3,48	4,6±0,4	5,1±0,9	3,2±0,3
Endibia				
IV AGS 5	1,32	0,68±0,01	0,7±0,2	0,43±0,09
IV AGS 30	6,14	4,3±0,6	4,6±0,5	3,7±0,3
Zanahoria				
IV AGS 5	0,62	0,7±0,2	0,8±0,2	0,39±0,09
IV AGS 30	2,23	2,3±0,1	4±1	2,7±0,2

Los valores calculados para AGS incorporado a las hortalizas en estudio se aproximaron a las estimaciones teóricas. Los valores obtenidos en función al contenido de polisacáridos y ácido málico no mostraron diferencias significativas; además su aproximación a la estimación teórica los convierte en un parámetro confiable para determinar aloe en matrices impregnadas.

Al estimar el contenido de aloe, en relación a la cantidad de calcio presente en las muestras, los valores disminuyeron respecto de los teóricos al usar dispersiones diluidas de AGS. El contenido total del ión Ca^{2+} en las dispersiones de AGS 5 fue limitado dada la naturaleza acuosa del medio de impregnación.

No se debe olvidar el carácter vegetal de la sustancia utilizada como medio de impregnación, lo cual involucra una composición similar al de las hortalizas estudiadas.

En las muestras de endibia impregnadas con AGS 5 y 30 se obtuvo valores de ingreso de aloe menores a los esperados según la estimación teórica. Cabe pensar que la pérdida de líquido nativo de la hortaliza sólo se logra restituir en los vasos laticíferos, que es donde ingresaría la dispersión con mayor facilidad. Se descartó la falta de uniformidad de la dispersión puesto que los valores para los tres métodos son consistentes y la impregnación se aplicó en agitación permanente de los medios de impregnación.

Como era lógico esperar, los valores obtenidos en las dispersiones de AGS 30 reflejan un incremento significativo de aloe en las matrices vegetales. La composición concentrada de AGS incrementa la viscosidad de la dispersión lo que le otorga mayor adhesividad a la superficie de la

muestra, esto unido al ingreso concentrado de medio de impregnación, generó un enriquecimiento aceptable de las mismas.

Las muestras alcanzaron un contenido de AGS de 33-144 mg /100g producto fresco impregnado con AGS5, y entre 245-1041 mg/ 100 g de producto fresco en las impregnadas con AGS 30.

Un estudio realizado por Davis (1993), usó dosificaciones de 150 mg/kg (peso corporal) por día, logrando mejorar la acción de los medicamentos para la artritis. También se han logrado mejoras en la absorción de vitaminas C y E usando 56,7 g de aloe en combinación con las dosis de vitaminas. (Vinson *et al.*, 2005)

Los valores de contenido de aloe obtenidos después de aplicar la operación de IV se incrementaron utilizando dispersiones de aloe de mayor concentración (AGS 30), considerando que estas dispersiones actuaron isotónicamente con la matriz vegetal, se puede pensar en aumentar la concentración de aloe en las dispersiones, en tal caso, además del mecanismo hidrodinámico se observarían efectos osmóticos entre otros.

6. Características sensoriales de las hortalizas impregnadas

6.1. Diseño de experiencias

La evaluación sensorial de las muestras de hortalizas impregnadas con Aloe vera se prepararon según la metodología descrita en el capítulo de materiales y métodos apartado 3. Las muestras fueron evaluadas por 15 jueces en duplicado, obteniendo 30 juicios para cada muestra.

En el análisis de la preferencia de los panelistas respecto a las muestras impregnadas con AGS 5 y 30 se consideró como factores las muestras y los jueces, siendo estos últimos un factor indicativo de la uniformidad en los juicios. Para el análisis de resultados se utilizó el programa Statgraphics Centurion XV, aplicando un análisis de la varianza multifactorial.

6.2. Resultados

El desarrollo de nuevos productos debe considerar y conocer la posible reacción del público consumidor. A veces, incluso, es factible determinar el mercado potencial para ese nuevo producto. En este estudio, se evaluó el efecto de las dos concentraciones de AGS utilizado en los medios de impregnación para cada hortaliza en estudio: brócoli, coliflor, endibia y zanahoria, sobre la preferencia de este tipo de producto por parte del consumidor. Para ello se trabajó con cuatro muestras, dos de ellas impregnadas con dispersión de AGS 5 y dos con dispersión de AGS 30, elaboradas según el procedimiento descrito en el apartado 3 del capítulo materiales y métodos. Las muestras de coliflor y brócoli se sometieron a cocción en microondas.

Las muestras fueron evaluadas de forma individual para cada hortaliza, mediante un test de preferencia con una escala hedónica verbal-numérica, asignando cada panelista un nivel de satisfacción a cada una de las muestras (Anejo A.5). La respuesta dada por los jueces se basó en una escala nominal estructurada de 9 puntos. (AENOR, 1997; Ibañez y Barcina, 2001; Sauvageot, 1990). Se obtuvieron 60 juicios, 30 para cada hortaliza impregnada con dispersión de AGS 5 y 30 para las impregnadas con dispersión de AGS 30, las que fueron analizadas estadísticamente utilizando el software Statgraphics Centurion XV.

Los resultados obtenidos, expresados como número de respuestas para cada muestra (frecuencia) se observan en la tabla IV.3.24. En las dos primeras columnas se presenta el nivel de satisfacción y el puntaje asociado a este (P). Las columnas 3 a la 10 muestran las frecuencias en cada nivel de satisfacción para cada muestra impregnada con dispersión de AGS 5 y las impregnadas con dispersión de AGS 30.

Tabla IV.3.24. Frecuencia de respuestas obtenidas para cada muestra.

Nivel de satisfacción	P	Brócoli		Coliflor		Endibia		Zanahoria	
		IV AGS	IV AGS	IV AGS	IV AGS	IV AGS	IV AGS	IV AGS	IV AGS
		5	30	5	30	5	30	5	30
Altamente desagradable	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Muy desagradable	2	0	0	0	0	0	0	0	0
Desagradable	3	0	0	0	0	3	1	0	9
Ligeramente desagradable	4	0	0	0	0	10	6	0	16
Ni agradable ni desagradable	5	0	0	6	6	11	4	1	5
Ligeramente agradable	6	1	1	17	18	5	3	8	0
Agradable	7	13	12	7	6	1	6	14	0
Muy agradable	8	12	15	0	0	0	6	7	0
Altamente agradable	9	4	2	0	0	0	4	0	0
Total		30	30	30	30	30	30	30	30

Según la frecuencia de votación que obtuvo cada muestra, se puede concluir que para las muestras de brócoli y coliflor se obtuvo calificaciones

favorables (puntaje de nivel de satisfacción ≥ 5), tanto para las muestras impregnadas con AGS 5, como para las impregnadas con AGS 30. Para el brócoli más del 96% de los juicios otorgaron al producto una puntuación ≥ 7 , calificándolo como agradable o altamente agradable, para las muestras impregnadas con AGS 5 y AGS 30.

En la coliflor, el 80 % de los juicios dieron al producto una calificación entre 6 y 7, calificándolo como ligeramente agradable y agradable.

Las muestras de endibia impregnadas con AGS 30 obtuvieron una mayor proporción de puntaje 6. En las muestras impregnadas con dispersión de AGS 5 un 20% del puntaje fue 6, un 36,6% obtuvo una puntuación igual a 5 (ni agradable ni desagradable) y un 43,3% un puntaje entre 3 y 4 (mostrando cierto nivel de desagrado).

Las muestras de zanahorias impregnadas con AGS 30 obtuvieron un 83% de juicios desfavorables (entre 3 y 4). Este alto porcentaje se explica por la sensación no agradable, ácido-salada, que fue detectada por los panelistas. Por otra parte las muestras impregnadas con dispersión de AGS 5 recibieron una calificación favorable, obteniendo sobre un 96% de puntaje entre 6 y 8.

En la tabla IV.3.25. se expone la puntuación obtenida por cada muestra impregnada con las dos dispersiones en estudio, AGS 5 y AGS 30.

Para determinar si existieron diferencias estadísticamente significativas en la preferencia por la hortaliza impregnada con dispersión de AGS 5 o 30 y evaluar que estas diferencias solo correspondieran al medio de impregnación utilizado y no a la influencia del juez, se realizó un análisis estadístico de los resultados, considerando a los jueces como otro factor del análisis.

En todos los casos, el factor "juez" no presentó diferencias estadísticamente significativas con un nivel de confianza del 95%, indicativo de un criterio uniforme de los panelistas, en la evaluación de cada hortaliza.

Tabla IV.3.25. Puntuación obtenida por cada muestra respecto al nivel de satisfacción.

Nivel de satisfacción	P	Brócoli		Coliflor		Endibia		Zanahoria	
		IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV
		AGS	AGS	AGS	AGS	AGS	AGS	AGS	AGS
		5	30	5	30	5	30	5	30
Altamente desagradable	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Muy desagradable	2	0	0	0	0	0	0	0	0
Desagradable	3	0	0	0	0	9	3	0	27
Ligeramente desagradable	4	0	0	0	0	40	24	0	64
Ni agradable ni desagradable	5	0	0	30	30	55	20	5	25
Ligeramente agradable	6	6	6	102	108	30	18	48	0
Agradable	7	91	84	49	42	7	42	98	0
Muy agradable	8	96	120	0	0	0	48	56	0
Altamente agradable	9	36	18	0	0	0	36	0	0

En las muestras de brócoli y coliflor impregnadas con dispersión de AGS 5 y AGS 30 no se observaron diferencias significativas ($P > 0,05$). Dicha situación se puede explicar por el proceso de cocción a vapor a que fueron sometidas las muestras, lo cual pudo producir un efecto

homogeneizador, uniformando las características a nivel de la percepción sensorial. Se optó por presentar las muestras de estas hortalizas con un proceso de cocción debido a que normalmente se consumen de esta forma. La utilización de bolsas cerradas y la aplicación de microondas evitaron la evaporación o dilución de los líquidos internos de la hortaliza. Se obtuvo para brócoli un promedio de puntuación de $7,6 \pm 0,1$, en el caso de la coliflor la puntuación promedio fue de $6,0 \pm 0,1$.

En las muestras de endibia se observó diferencias estadísticamente significativas, con un nivel de confianza del 95%, para las muestras impregnadas con dispersión de AGS 5 y las impregnadas con AGS 30. Para las muestras impregnadas con AGS 30 se obtuvo un promedio de puntuación de 6,4, considerándose la muestra preferida al compararla con la impregnada con AGS 5 que obtuvo un promedio de 4,7.

Las muestras de zanahoria impregnadas con AGS 5 fueron calificadas en promedio con $6,9 \pm 0,1$, resultando ser las muestras preferidas al compararlas con las muestras impregnadas con AGS 30 que obtuvieron una calificación de $3,9 \pm 0,1$.

V. CONCLUSIONES

Olla sin verdura no tiene gracia ni hartura

1.- Las 4 hortalizas estudiadas (brócoli, coliflor, endibia y zanahoria) son susceptibles de ser sometidas a impregnación a vacío (IV), para elaborar alimentos funcionales frescos, enriquecidos en algún componente fisiológicamente activo que se encuentre disperso en una fase líquida (disolución externa) en la que se sumerge la materia prima. La mayor impregnación con una disolución isotónica de sacarosa la experimenta el brócoli, que es capaz de incorporar un volumen de disolución externa equivalente al 43% del volumen inicial de la materia prima. Pese a su similitud física con el brócoli, la coliflor "sólo" incorpora el 13% de su volumen. Las diferencias entre estas dos hortalizas se podrían deber a la porosidad natural del brócoli, al número y grado de llenado de los vasos, al estado fisiológico y/o a la presencia de un meristemo compacto. La endibia alcanza valores de impregnación del 17%. Los valores obtenidos con la zanahoria (11%) confirman los valores obtenidos en estudios anteriores.

2.- La presencia y contenido en aloe vera de la disolución externa influye sobre el % de impregnación alcanzado por algunas de las hortalizas estudiadas. Con 5 g/L de aloe vera en polvo en la disolución acuosa externa (AGS 5), el brócoli, la coliflor y la zanahoria se impregnan un poco más que con la disolución de sacarosa (46, 17 y 14,7%, respectivamente). Por el contrario, al utilizar una dispersión de 30 g/L de aloe vera en polvo en la disolución externa (AGS 30), las impregnaciones son menores que con sacarosa (37% en brócoli, 7% en coliflor, y 10% en zanahoria). En el caso de la endibia no se producen cambios significativos.

3.- Se ha estimado el contenido de aloe vera en las hortalizas mediante tres análisis diferentes, determinando la concentración de tres

compuestos presentes en el gel natural de aloe vera: polisacáridos, ácido málico y calcio.

4.- Con estos análisis, resulta que la IV con AGS 5 permite incorporar en brócoli más de 1000 mg de aloe/100 g de materia seca, y 700 mg en coliflor, endibia y zanahoria, hortalizas que no poseen porosidad natural. La IV con AGS 30 permite alcanzar en brócoli 7 g de aloe/100 g materia seca, alrededor de 4 g en coliflor y endibia, y unos 3 g en zanahoria. Mayores niveles de enriquecimiento serán posibles con dispersiones de aloe vera de mayor concentración, si bien se podrán llegar a producir fenómenos de transferencia de materia adicionales al mecanismo hidrodinámico, como por ejemplo efectos osmóticos, entre otros, cuyos efectos deberán ser evaluados.

5.- La impregnación a vacío (IV) afecta a la respiración de las hortalizas, y en mayor medida a las que pierden mayor cantidad de líquido nativo durante la etapa de la IV que transcurre a baja presión, probablemente por el estrés/daño que experimenta la estructura celular en el transcurso de la sustitución de líquido nativo interno por disolución externa. La IV provoca un aumento de la tasa respiratoria (TR CO₂) a 20°C de las hortalizas, sobre todo en brócoli y endibia, y algo menos en coliflor, pero reduce la TR CO₂ de la zanahoria. Las TR son menores a 5°C que a 20°C, pero la IV también aumenta las TR CO₂ a 5°C de brócoli, endibia y zanahoria, aunque reduce la TR CO₂ de la coliflor.

6.- La respiración de las hortalizas también se ve afectada por la temperatura y por la presencia y concentración en aloe vera de la disolución externa. La IV con AGS 30 incrementa la TR CO₂ a 20°C de brócoli, endibia y zanahoria, y reduce la de la coliflor, y reduce la TR CO₂ a 5°C de todas las hortalizas. Los valores obtenidos para el

coeficiente respiratorio (CR) fueron próximos a 1, aunque las muestras impregnadas con AGS 30 sobrepasaron este valor para ambas temperaturas (5 y 20 °C).

7.- En el análisis sensorial de muestras de las 4 hortalizas sometidas a IV con dispersiones acuosas de AGS 5 o AGS 30, las muestras enriquecidas en aloe vera han merecido la calificación de agradables, excepto las muestras de zanahoria impregnadas con AGS 30, en las que destacó una sensación ácido-salada, que no resulta del agrado de la mayoría de los miembros del panel de catadores.

8.- Se han determinado los valores de parámetros fisicoquímicos (relevantes para la operación de IV) de dispersiones acuosas de gel de aloe vera en polvo (AGS), entre 5 y 100 g/L: densidad, actividad del agua, comportamiento reológico, pH, Brix. Los datos experimentales se han correlacionado satisfactoriamente con el contenido en AGS de las dispersiones.

VI. BIBLIOGRAFÍA

El hombre es lo que come

Ludwig Feuerbach

AENOR (1997) Evaluación de los productos alimentarios por métodos que utilizan escalas UNE 87-020-93, Madrid, Asociación Española de Normalización y Certificación.

Agarwal, O. P. (1985) Prevention of atheromatous heart disease. *Angiology*, 36, 485-492.

Ajabnoor, M. A. (1990) Effect of aloes on blood glucose levels in normal and alloxan diabetic mice. *Journal Ethnopharmacol*, 28, 215-220.

Akev, N., Turkay, G., Can, A., Gurel, A., Yildiz, F., Yardibi, H., Ekiz, E. E. y Uzun, H. (2007) Effect of Aloe vera leaf pulp extract on Ehrlich ascites tumours in mice. *European Journal of Cancer Prevention*, 16, 151-157.

Ali, M. I., Shalaby, N. M., Elgamal, M. H. y Mousa, A. S. M. (1999) Antifungal effects of different plant extracts and their major components of selected aloe species. *Phytotherapy Research*, 13, 401-407.

Anderson, B. C. (1983) Aloe vera [*Aloe barbadensis*] juice: a veterinary medicament? *Comp. Cont. Educ. Pract. Veterinaria*, 5, S364-S368.

ANTHOS (2010) Sistema de información sobre las plantas de España. Consejo Superior de Investigaciones Científicas- Real Jardín Botánico. Consultada el 15 de febrero, 2010, de:
http://www.anthos.es/v22/index.php?page=creditos&set_locale=es

AOAC (1980) Official Methods of Analysis, 20.013. Washington, D.C.

Arai, S. (1996) Studies on functional foods in Japan-state of the art. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 60, 9-15.

Arroyave, A. (2006) Desarrollo de alimentos funcionales por incorporación de sustancias con actividad fisiológica a la matriz estructural de zanahoria (*Daucus Carota L.*). Tesis Doctoral. Departamento de Tecnología de Alimentos. Valencia, Universidad Politécnica de Valencia.

Artés, F., Conesa, M. A., Hernández, S. y Gil, M. I. (1999) Keeping quality of fresh-cut tomato. *Postharvest Biology and Technology*, 17, 153-162.

Asai, K. (1980) *Miracle cure organic germanium*, Japan publications Inc.

Ashwell, M. (2002) Conceptos sobre alimentos funcionales. IN ILSI, I. L. S. I. (Ed.) ILSI Europe concise monograph series. Bruselas. Consultado el 25 de febrero, 2010, de:
http://www.ilsio.org/europe/documents/c2002con_foodspan.pdf

ASTM American Society For Testing And Materials (1985) Zeta Potential of Colloids in Water and Waste Water. ASTM Standard D 4187-82.

Atherton, P. (1998) First aid plant. *Chemistry in Britain*, 34, 33-36.

Bàguena, N. (2005) La alimentación en la antigua Roma (C VI). in Salas-Salvadó, J., García-Lorda, P. y Sánchez Ripollés, J. M. (Eds.) *La alimentación y la nutrición a través de la historia*. Barcelona, Glosa, 133-158.

Banks, W., Clapperton, J.L., Kelly, M.E., Wilson A.G., Crawford, R.J.M. (1990) The yield fatty acid composition and physical properties of milk fat obtained by feeding soya oil to dairy cows. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 31 (4), 368-374.

Barcroft, A. y Myskja, A. (2003) *Aloe vera: nature's silent healer*, BAAM Publishing. 17-26.

Beppu, H., Nagamura, Y. y Fujita, K. (1993) Hypoglycaemic and antidiabetic effects in mice of *Aloe arborescens* Miller var. *natalensis* Berger. *Phytotherapy Research*, 7, s37-s42.

Beppu, H., Shimpo, K., Chihara, T., Kaneko, T., Tamai, I., Yamaji, S., Ozaki, S., Kuzuya, H. y Sonoda, S. (2006) Antidiabetic effects of dietary administration of *Aloe arborescens* Miller components on multiple low-dose streptozotocin-induced diabetes in mice: Investigation on hypoglycemic action and systemic absorption dynamics of aloe components. *Journal of Ethnopharmacol*, 103, 468-477.

Betoret, N. (2002) *Aplicación de algunas técnicas de ingeniería de alimentos en el desarrollo de alimentos naturales enriquecidos*. Tesis Doctoral. Departamento de Tecnología de Alimentos. Valencia, Universidad Politécnica de Valencia.

Betoret, N., Puentes, 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, 273-277.

Biber, W. A. (1950) *Vracz, Dielo*.

Bouchev, G. D. y Gjerstad, G. (1969) Chemical studies of aloe vera juice II: inorganic ingredients. *Pharmaceutical Biotechnology*, 9, 1445-1453.

Bozzi, A., Perrin, C., Austin, S. y Arce Vera, F. (2007) Quality and authenticity of commercial aloe vera gel powders. *Food Chemistry*, 103, 22-30.

Brash, D. W. y Liu, X. F. (Eds.) (1998) Respiration rate of cut broccoli, Taupo, New Zealand. *ISHS Acta Horticulturae* 464.1, 750.

Bunyaphatsara, N., Yongchaiyudha, S., Rungpitarangsi, V. y Chokechaijaroenporn, O. (1996) Antidiabetic activity of aloe vera L. juice II. Clinical trial in diabetes mellitus patients in combination with glibenclamide. *Phytomedicine*, 3, 245-248.

Burger, A., Grubert, M. y Schuster, O. (1994) Aloe vera: The renaissance of a traditional natural drug as a dermopharmaceutical. *SOFW Journal*, 120, 527-529.

Burke, C. (1995) Functional foods and drinks. The market in Japan. *International Food Ingredients*, 2, 39-42.

Burkhardt, P., Beyer, P., Wuenn, J., Kloety, A., Armstrong, G., Schledz, M., Von Liting, J. Y Potrikus, I. (1997) Transgenic rice (*Oryza sativa*) endosperm expressing daffodil (*Narcissus pseudo narcissus*) phytoene synthase accumulates phytoene a key intermediate of provitamin A biosynthesis. *Plant Journal*, 11, 1071-1078.

Castelló, M. L., Fito, P. J. y Chiralt, A. (2006) Effect of osmotic dehydration and vacuum impregnation on respiration rate of cut strawberries. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie (LWT) Journal*, 39, 1171-1179.

Castillo, S., Navarro, D., Zapata, P. J., Guillén, F. y Valero, D. (2010) Antifungal efficacy of aloe vera in vitro and its use as a preharvest treatment to maintain postharvest table grape quality. *Postharvest Biology and Technology*, 57, 183-188.

Chithra, P., Sajithlal, G. B. y Chandrakasan, G. (1998 a) Influence of aloe vera on collagen characteristics in healing dermal wounds in rats. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 181, 71-76.

Chithra, P., Sajithlal, G. B. y Chandrakasan, G. (1998 b) Influence of aloe vera on the glycosaminoglycans in the matrix of healing dermal wounds in rats. *Journal of Ethnopharmacol*, 59, 179-186.

Chithra, P., Sajithlal, G. B. y Chandrakasan, G. (1998 c) Influence of aloe vera on the healing of dermal wounds in diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacol*, 59, 195-201.

Choi, S. y Chung, M. H. (2003) A review on the relationship between aloe vera components and their biologic effects. *Seminars in Integrative Medicine*, 1, 53-62.

Chow, J. T., Williamson, D. A., Yates, K. M. y Goux, W. J. (2005) Chemical characterization of the immunomodulating polysaccharide of Aloe vera L. *Carbohydrate Research*, 340, 1131-1142.

Chung, J. H., Cheong, J. C., Lee, J. Y., Roh, H. K. y Cha, Y. N. (1996) Acceleration of the alcohol oxidation rate in rats with aloin, a quinone derivative of aloe. *Biochemical Pharmacology*, 52, 1461-1468.

Davis, R. H. (1993) Biological activity of aloe vera. *SOFW Journal*, 11, 646-649.

Davis, R. H., Di Donato, J. J., Hartman, G. M. y Haas, R. C. (1994) Anti-inflammatory and wound healing activity of a growth substance in aloe vera. *Journal of the American Podiatric Medical Association*, 84, 77-81.

Davis, R. H., Rosenthal, K. Y., Cesario, L. R. y Rouw, G. A. (1989) Processed aloe vera administered topically inhibits inflammation. *Journal of the American Podiatric Medical Association*, 395-397.

Dhirman, T. R., Anan, G. R., Satter, L. D. y Pariza, M. W. (1999) Conjugated linoleic acid content of milk from cows fed different diets. *Journal of Dairy Science*, 82, 2146-2156.

DVE Drugs Veterinary Edition (2010) Acemannan Immunostimulant. *Drugs.com Veterinary Edition*. Consultado el 27 febrero, 2010, de: <http://www.drugs.com/vet/acemannan-immunostimulant.html>

Eberendu, A., Luta, G., Edwards, J., Mcanalley, H., Davis, B., Rodriguez, S. y Henry, C. (2005) Quantitative Colorimetric Analysis of Aloe Polysaccharides as a Measure of Aloe Vera Quality in Commercial Products. *Journal of AOAC International*, 88, 684-691.

EROSKI (2009) Hortalizas y verduras. Consumer Eroski. Consultado el 17 de diciembre, 2009, de: <http://verduras.consumer.es/index.php>

Esau, K. (1976) Anatomía vegetal. Ediciones Omega, S.A. Barcelona.

Eshun, K. y He, Q. (2004) Aloe vera: a valuable ingredient for the food, pharmaceutical and cosmetic industries. *Critical Reviews Food Science and Nutrition*, 44, 91-96.

FAO (2006) Brócoli. Ficha técnica. Consultado el 14 de enero, 2010, de: <http://www.fao.org/inpho/content/documents/vlibrary/ae62>

FAO (2010) FAOSTAT. Consultado el 14 de enero, 2010, de: <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#anchor>

Femenia, A., Sánchez, E., Simal, S. y Rosselló, C. (1999) Compositional features of polysaccharides from aloe vera (*Aloe barbadensis* Miller) plant tissues. *Carbohydrate Research*, 39, 109-117.

Fernández, J. y Pintaluba, A. (2004) Alimentos funcionales. Investigación de mercado. *Jornada Funcionalitat i salut: Aliments funcionals per nutrició humana i animal*. Tarragona. Consultado el 17 de enero, 2010, de: <http://www.recercat.net/handle/2072/4928>

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, 229-240.

Fito, P., Chiralt, A., Barat, J. M., Andrés, A., Martínez-Monzó, J. y Martínez, N. (2001 b) Vacuum impregnation for development of new dehydrated products. *Journal of Food Engineering*, 49, 297-302.

Fito, P., Chiralt, A., Betoret, N., Gras, M. L., Cháfer, M., Martínez-Monzó, J., Andrés, A. y Vidal, D. (2001 a) Vacuum impregnation and osmotic dehydration in matrix engineering. Application in functional fresh food development. *Journal of Food Engineering*, 49, 175-183.

Fito, P., Chiralt, A., Betoret, N., Martínez-Monzó, J. y Gras, M. L. (1999) Procedimiento de impregnación de alimentos naturales con productos nutracéuticos y dispositivo para su puesta en práctica. Patente Española P9902730, Universidad Politécnica de Valencia.

Fito, P. y Pastor, R. (1994) On some diffusional mechanism occurring Vacuum Osmotic Dehydration (VOD). *Journal of Food Engineering*, 21, 513-519.

Fujita, K. (1993) *Aloe arborescens* Miller var. *natalensis* Berger. The pharmacological effects I. In K. Fujita (Ed.) Fujita Health University Press. Toyoake, Japan. 1, 5-139.

Gage, D. (1988) *Aloe vera: nature's soothing healer*, U.S.A., Inner traditions international.

García-Gual, C. (1999) El cuerpo humano y su descripción en los tratados hipocráticos. In Pérez Jiménez, A. (Ed.) *Unidad y pluralidad del cuerpo humano*. Madrid, Ediciones Clásicas. 63-79.

MBG Missouri Botanical Garden. Saint Louis. Consultada el 18 de Febrero, 2010, de:

<http://www.mobot.org/gardeninghelp/plantfinder/Plant.asp?code=B628>

Gardner, J. C. (1994). The development of functional food bussines in the United States and Europe. In Goldberg, I. (Ed.) *Functional foods: designer foods, pharmafoods, nutraceuticals*. New York, Aspen Publishers, Inc. 553.

Ghannam, N., Kingston, M., Al-Meshaal, I. A., Tariq, M., Parman, N. S. y Woodhouse, N. (1986) The antidiabetic activity of aloes: preliminary clinical and experimental observations. *Hormone Research*, 24, 288-294.

González-Gross, M., Wärnberg, J., Álvarez, R., Medina, S. y Marcos, A. (2003). Alimentos funcionales y su relación con el sistema inmune. In Marcos, A. (Ed.) *Actualización en nutrición, inmunidad e infección*. 1ª ed. Madrid, Panamericana.

Gras, M. L. (2001) *Aplicación de la ingeniería de matrices para la obtención de hortalizas enriquecidas en calcio*. Tesis Doctoral. Departamento de Tecnología de Alimentos. Valencia, Universidad Politécnica de Valencia.

Gras, M. L., Vidal, D., Betoret, N., Chiralt, A. y Fito, P. (2002) The response of some vegetables to vacuum impregnation. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 3, 263-269.

Gras, M. L., Vidal-Brotons, D., Betoret, N., Chiralt, A. y Fito, P. (2003) Calcium Fortification of vegetables by vacuum impregnation Interactions with cellular matrix. *Journal of Food Engineering*, 56, 279-284.

Grau, R. (2002) Modificaciones en el proceso tradicional de elaboración de jamón Curado: Salado en salmuera y empleo de materia prima congelada. Tesis Doctoral. Departamento de Tecnología de Alimentos. Valencia, Universidad Politécnica de Valencia.

Guardiola, J. L. y García, A. (1990) Fisiología vegetal I: Nutrición y transporte, Madrid, Síntesis Editorial.1, 125-199.

Haastrecht, J. V. (1994) Challenges and trends in european food. *International Food Ingredients*.

Hardenburg, R., Watada, A. y Wang, C. (1988) Almacenamiento comercial de frutas, legumbres y existencias de floristerías y viveros, San José. Costa Rica, IICA, 66-70.

He, Q., Changhong, L., Kojo, E. y Tian, Z. (2005) Quality and safety assurance in the processing of aloe vera gel juice. *Food Control*, 16, 95-104.

Heller, I. R. (2001) Functional foods: regulatory and marketing developments. *Food and Drug Law Journal* 56, 197-225.

Hickling, M. (1997) Market developments in functional foods. Developing, marketing and regulation of functional foods and nutraceuticals. London, 127-129.

Hikino, H., Takahashi, M., Murakami, M., Konno, C., Mirin, Y., Karikura, M. y Hayashi, T. (1986) Isolation and hypoglycemic activity of arborans A and B, glycans of *Aloe arborescens* var. *natalensis* leaves. *International Journal Crude Drug Research*, 24, 183-186.

Ibañez, F. C. y Barcina, Y. (2001) *Análisis sensorial de alimentos: Métodos y aplicaciones*, Barcelona, Springer-Verlag Ibérica.

ILSI International Life Sciences Institute Europe (1999) Scientific Concepts of Functional Foods in Europe Consensus Document. In ILSI Europe (Ed.), *British Journal of Nutrition*, 81, s1-s27.

Im, S. A., Oh, S. T., Song, S., Kim, M. R., Kim, D. S., Woo, S. S., Jo, T. H., Park, Y. I. y Lee, C. K. (2005) Identification of optimal molecular size of modified *Aloe* polisaccharides with maximum immunomodulatory activity. *International Journal Immunopharmacol*, 5, 271-279.

IPNI The international plant names index. Consultada el 17 de Febrero, 2010, de: http://www.ipni.org/ipni/idPlantNameSearch.do?id=530016-1yback_page=%2Fipni%2FeditSimplePlantNameSearch.do%3Ffind_wholeName%3Daloe%2Bvera%26output_format%3Dnormal

Jerzy, L. (1984) *Aloe*, Topfzierpflanze mit therapeutischer Wirkung. *Pharmazie in Unserer Zeit*, 13, 172-176.

Karaca, K., Sharma, J. M. y Nordgren, R. (1995) Nitric oxide production by chicken macrophages activated by acemannan, a complex

carbohydrate extracted from Aloe Vera. *International Journal Immunopharmacology*, 17, 183-188.

Kawazoe, K. (1994) Market trends of functional foods and food ingredients in Japan. *International Food Ingredients*, 5, 43-45.

King, G. y Morris, S. (1994) Early compositional changes during postharvest senescence of broccoli. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 119, 1000-1005.

King, G., Yates, K., Greenlee, P., Pierce, K., Ford, C., Mc Analley, B. y Tizard, I. (1995) The effect of Acemannan Immunostimulant in combination with surgery and radiation therapy on spontaneous canine and feline fibrosarcomas. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 31, 439-447.

Kumano, N. (1972) Studies on the antitumor polysaccharides, especially a mannan preparation derived from *Candida utilis*. A review. *Sci Rep Res Inst Tohoku Univ Med.*, 19, 89-102.

Larionova, M., Menendez, R., Valiente, O. y Fusté, V. (2004) Estudio químico de los polisacáridos presentes en aloe vera I. y *Aloe arborescens* Miller cultivados en Cuba. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 9, 1028-4796.

Lawless, J. y Allan, J. (2000) *Aloe vera - Natural Wonder Cure*, Hammersmith, London, Harper Collins Publishers.

Lee, K. Y., Weintraub, S. y Yu, B. P. (2000) Isolation and identification of a phenolic antioxidant from *Aloe barbadensis*. *Free Radical Biology and Medicine*, 28, 261-265.

Lee, M. J., Yoon, S. H., Lee, S. K., Chung, M. H., Park, Y. I., Sung, C. K., Choi, J. S. y Lim, K. W. (1995) *In vivo* angiogenic activity of dichloromethane extracts of aloe vera gel. *Archives of Pharmaceutical Research*, 18, 332-335.

Leteinturier, J., Cochet, J. P., Marle, M. y Benigni, M. (1999) *L'Endive. Guide pratique*, Paris, Centre technique interprofessionnel des fruits et légumes (Ctifl).

Lewis, M. J., Zapico-Torneros, J. y Barrio-Lera, J. P. (1993) Propiedades físicas de los alimentos y de los sistemas de procesado.

Macarulla, J. y Goñi, F. (1994) La célula. In Reverté (Ed.) *Bioquímica humana*. 2 ed. Barcelona, 159-160.

Mark-Hebert, C. (2004) Innovation of a new product category - functional foods. *Technovation*, 24, 713 - 719.

Martínez-Monzó, J., Martínez, N., Chiralt, A. y Fito, P. (1998) Effect of vacuum osmotic dehydration on physicochemical properties and texture of apple. IN JOWITT, R. (Ed.) *Engineering and Food at ICEF 7*. Sheffield, 17-20.

Martínez-Romero, D., Albuquerque, N., Valverde, J. M., Guillén, F., Castillo, S., Valero, D. y Serrano, M. (2006 a) Postharvest sweet cherry

quality and safety maintenance by Aloe vera treatment: a new edible coating. *Postharvest Biology and Technology*, 39, 93-100.

Martínez-Romero, D., Guillén, F., Valverde, J. M., Serrano, M., Zapata, P., Bailén, G., Castillo, S. y Valero, D. (2006 b) Aloe vera como recubrimiento comestible de frutas y hortalizas. *Horticultura*, 42-44.

Mataix, J. y Pérez, F. (2009) Alimentos funcionales. In Mataix Verdú, J. (Ed.) *Nutrición y alimentación humana. Nutrientes y alimentos*. Madrid, Ergon. 1, 537-553.

Mayo, P., Elswyk, V. y Kubena, K. (1995) Shell eggs as a vehicle for dietary Omega-3 fatty acids: Influence on serum lipids and platelet aggregation in humans. *Journal of the American Dietetic Association*, 95, A10.

Mazliak, P. (1976) Fisiología vegetal. *Nutrición y metabolismo*, Omega S.A. 57-166.

Mujica-Paz, H., Valdez, A., López, A., Palou, E. y Welti, J. (2003) Impregnation properties of some fruits at vacuum pressure. *Journal of Food Engineering*, 56, 307-314.

Mulder, M. (1996) *Basic principles of membrane technology*, Dordrecht, Kluwer Academic Publisher.

Muller, H. G. (1978) *Introducción a la reología de los alimentos*, Zaragoza, Acribia S.A.

Murray, R., Mánquez, M. y Muñoz, H. (2000) Análisis de resultados en evaluación sensorial, Antofagasta, Universidad de Antofagasta.

Ni, Y., Turner, D., Yates, K. M. y Tizard, I. (2004) Isolation and characterization of structural components of aloe vera L. Leaf pulp. *International Journal Immunopharmacology*, 4, 1745-1755.

Norrish, R. S. (1996) An equation for the activity coefficients and equilibrium relative of water in confectionary syrups. *Journal Food Technology*, 1, 25-29.

Ogasashara, J., Hariu, H. y Takahashi, M. (1992) Process for producing liquid egg having reduced cholesterol content. U.S. Patent nº 5116628. United States, Sumitomo Seika Chemicals Co., Ltd.; (Hyogo, JP) Otsuka Foods Co., Ltd. (Osaka, JP); Mitsubishi Corporation (Tokyo, JP)

Oh, I. Y., Ryue, J., Hsieh, C. H. y Bell, D. E. (1991) Eggs enriched in omega-3 fatty acids and alterations in lipids concentrations in plasma and lipoproteins and blood pressure. *American Journal of Clinic Nutrition*, 54, 689-695.

Okamura, N., Asai, M., Hine, N. y Yagi, A. (1996) High-performance liquid chromatographic determination of phenolic compounds in Aloe species. *Journal Chromatography A*, 746, 225 - 231.

Okyar, A., Can, A., Akev, N., Baktir, G. y Sütlüpinar, N. (2001) Effect of Aloe vera leaves on blood glucose level in type I and type II diabetic rat models. *Phytotherapy Research*, 15, 157-161.

Paez, A., Gebre, G., González, M. y Tschaplinski, T. (2000) Growth, soluble carbohydrates, and aloin concentration of Aloe vera plants exposed to three irradiance levels. *Environmental and Experimental Botany*, 44, 133-139.

Park, J. H. y Kwon, S. W. (2006) Chemical components of aloe and its analysis. In Park, Y. I. y Lee, S. K. (Eds.) *New perspectives on aloe*. New York, Springer Science+Business Media.

Park, M. K., Park, J. H., Kim, N. Y., Shin, Y. G., Choi, Y. S., Lee, J. G., Kim, K. H. y Lee, S. K. (1998) Analysis of 13 phenolic compounds in Aloe species by high performance liquid chromatography. *Phytochemistry Analysis*, 9, 186-191.

Pavía, M., Trujillo, A. J., Guamis, B. y Ferragut, V. (1999) Evolución de la composición y textura de un queso de oveja en la maduración. *Alimentaria*, 306, 43-47.

Pittman, J. C. Immune enhancing effects of whole leaf Aloe vera. In *Desert Harvest*, I. (Ed.). Consultado el 15 febrero, 2010, de: <http://www.desertharvest.com/physicians/documents/DH132.pdf>

Prat, L. y Ribó, T. (2006) *El gran libro del aloe vera*, España, Ed RBA Integral.

Prescha, A., Biernat, J., Weber, R., Zuk, M. y Szopa, J. (2003) The influence of modified 14-3-3 protein synthesis in potato plants on the nutritional value of the tubers. *Food Chemistry*, 82, 611-617.

Proops, S. (1997) Una comparación entre los mercados de alimentos funcionales en la Unión Europea, Estados Unidos y Japón. IPTS Report. Bruselas, Instituto de Prospectiva Tecnológica IPTS. Consultado el 17 de abril, 2010, de:

http://ipts.jrc.ec.europa.eu/home/report/spanish/about/IPTS_report.htm

PTRIC (2010) Postharvest Technology Research Information Center Endowment. California, University of California Postharvest Technology Research and Information Center Endowment. Consultado el 20 de abril, 2010, de: <http://postharvest.ucdavis.edu/Produce/ProduceFacts/>

Quenon, V. y De Baerdemaeker, J. (2000) Non-destructive method for internal quality determination of Belgian endive (*Cichorium intybus* L.). *International Agrophysics*, 14, 215-220.

Rajasekaran, S., Sivagnanam, K. y Subramanian, S. (2005) Mineral contents of aloe vera leaf gel and their role on streptozotocin-induced diabetic rats. *Biology Trace Element Research*, 108, 185-196.

Raven, P., Evert, R. y Eichhorn, S. (1992) *Biología de las plantas*, Barcelona.

Reixach, M., Cervera, P. y Salas-Salvadó, J. (2005) La alimentación en la cultura egipcia. In Salas-Salvadó, J., García-Lorda, P. Y Sánchez Ripollés, J. M. (Eds.) *La alimentación y la nutrición a través de la historia*. Barcelona: Glosa, 35-62.

Reynolds, T. (1985) The compounds in Aloe leaf exudates: A review. *Botanical Journal Linnean Society*, 90, 157-177.

Reynolds, T. (2004) *Aloes, the genus aloe*, CRC Press LLC, Boca Raton FL.

Reynolds, T. y Dweck, A. C. (1999) Aloe vera leaf gel: a review update. .
Journal of Ethnopharmacology, 68, 3-37.

Ringel, I., Taniguchi, Y. y Lobstein, T. (1999) Functional Foods: Public Health Boon or 21st Century Quackery? In Silverglade, B. y Jacobson, M. (Eds.) *The International Association of Consumer Food Organizations (IACFO) Washington, D.C.* Consultado el 15 de septiembre, 2009, de:
http://www.cspinet.org/reports/functional_foods/index.html

Robson, M. C., Heggors, J. P. y Hagstrom, W. J., JR. (1982) Myth, magic, witchcraft, or fact? Aloe vera Revisited. *Journal Burn Care Rehabilitation*, 3, 154-163.

Rubatzky, V. y Yamaguchi, M. (1997) *World vegetables. Principles, production and nutritive values.*, New York, Chapman and Hall.

Saccu, D., Bogoni, P. y Procida, G. (2001) Aloe exudate: characterization by reversed phase HPLC and headspace GC-MS. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 49, 4526-4530.

Sahin, S. y Sumnu, S. (2006) *Physical Properties of Foods*, New York, Springer Science + Business 458 Media LLC .

Salvatori, D., Andrés, A., Chiralt, A. y Fito, P. (1998) The response of some properties of fruits to vacuum impregnation. *Journal of Food Processing and Preservation* 21, 59-73.

Sauvageot, F. (1990) Fatigue in sensory evaluation: Myth or reality? In Charalambous, G. (Ed.). London, Flavours and Offflavours, Elsevier. 577-593.

SERNAC Servicio Nacional del Consumidor Chile (2004) Alimentos funcionales. Santiago. Consultado el 16 de diciembre, 2009, de:
<http://www.sernac.cl/Contenido/Atach/1098/Alimentos%20%20funcionales.%202004.pdf>

Serrano, M., Valverde, J. M., Guillén, F., Castillo, S., Martínez-Romero, D. y Valero, D. (2006) Use of Aloe vera gel coating preserves the functional properties of table grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54, 3882-3886.

Shahidi, F. (2009) Functional foods. IN International Union of Food Science and Technology. (Ed.) IUFOST Scientific Information Bulletin. Oakville. Consultado el 1 de febrero, 2010, de:
http://www.iufost.org/reports_resources/bulletins/documents/IUFSIBFunctionalFoods.pdf

Shimpo, K., Ida, C., Chihara, T., Beppu, H., Kaneko, T. y Kuzuya, H. (2002) Aloe arborescens extract inhibits TPA-induced ear oedema, putrescine increase and tumour promotion in mouse skin. *Phytotherapy Research*, 16, 491-493.

Silveira, M. B., Monereo, S. y Molina, B. (2003) Alimentos funcionales y nutrición óptima: ¿Cerca o lejos?. *Revista Española de Salud Pública*, 77, 317-331.

Sincero, A. y Sincero, G. (2003) Coagulation. Physical-chemical treatment of water and wastewater. 545-592.

Smith-Warner, S. A., Spiegelman, D., Yaun, S. S., Albanes, D., Beeson, W. L., Van Den Brandt, P. A., Feskanich, D., Folsom, A. R., Fraser, G. E., Freudenheim, J. L., Giovannucci, E., Goldbohm, R. A., Graham, S., Kushi, L. H., Miller, A. B., Pietinen, P., Rohan, T. E., Speizer, F. E., Willett, W. C. y Hunter, D. J. (2003) Fruits, vegetables and lung cancer: a pooled analysis of cohort studies. *International Journal of Cancer*, 20, 1001-1011.

Steenkamp, V. y Stewart, M. J. (2007) Medicinal applications and toxicological activities of Aloe products. *Pharmaceutical Biology*, 45, 411-420.

Tanaka, M., Misawa, E., Ito, Y., Habara, N., Nomaguchi, K., Yamada, M., Toida, T., Hayasawa, H., Takase, M., Inagaki, M. y Higuchi, R. (2006) Identification of five phytosterols from aloe vera gel as anti-diabetic compounds *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 29, 1418-1422.

TERRY LABORATORIES INC (2010) Quality aloe vera extracts and concentrates. Melbourne, FLO. Consultado el 24 de mayo, 2010, de: www.terrylabs.com

Thomas, P. R. y Earl, R. (1994) Enhancing the food supply. In Thomas, P. R. y Earl, R. (Eds.). *Committee Opportunities in the Nutrition and Food Sciences and Institute of Medicine*. Washington D.C., National Academy Press. 98-142.

Thompson, J. E. (1991) Topical use of aloe vera derived allantoin gel in otolaryngology. *Ear Nose Throat Journal*, 70, 56.

Tjeertes, P. (2004) *Brassica oleracea L. (cauliflower and broccoli)*. . Record from Protabase. Grubben, G.J.H. y Denton, O.A. (Editors). PROTA (Plant Resources of Tropical Africa / Ressources végétales de l'Afrique tropicale), Wageningen, Netherlands. . Consultado el 27 de octubre, 2007, de: <http://database.prota.org/search.htm>.

Torija, M. E. (2007) Las hortalizas como fuente nutrientes para la salud. Consultado el 30 de octubre, 2007, de: http://www.portalbesana.es/documentos/documentacion/congreshorticomedit/nutrient_salud.pdf.

Turner, C. E., Williamson, D. A., Stroud, P. A. y Talley, D. J. (2004) Evaluation and comparison of commercially available Aloe vera L. products using size exclusion chromatography with refractive index and multi-angle laser light scattering detection. *International Journal of Immunopharmacology*, 4, 1727-1737.

Urch, D. (1999) *Aloe vera-Nature's Gift*, England, Blackdown Publications.

USDA (2010) Natural resources conservation service. Plants profile. Consultado el 12 de marzo, 2010, de: <http://plants.usda.gov/java/profile?symbol=ALVE2>

USDA Nutrient Data Base Laboratory (2009). In *Agriculture United States Department of Agriculture* (Ed.). Consultado el 15 de diciembre, 2009, de: <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search/>

Valverde, J. M., Valero, D., Martínez-Romero, D., Guillén, F., Castillo, S. y Serrano, M. (2005) Novel edible coating based on of Aloe vera gel to maintain table grape quality and safety. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 7807-7813.

Van Der Vossen, H. A. M. y Kahangi, E. (2004) *Daucus carota* L. . In Record from Protabase. Grubben, G. J. H. y Denton., O.A. (Editors). PROTA (Plant Resources Of Tropical Africa / RESSOURCES Végétales De L'afrique Tropicale. Wageningen, Netherlands. Consultado el 17 de diciembre, 2007, de: <http://database.prota.org/search.htm>

Vander, D. A., Vlietinick, A. J. y Hoof, L. V. (1986) Plant products as potencial antiviral agents. *Bulletin Institute Pasteur*, 844, 101-105.

Vega, A., Ampuero, N., Díaz, L. y Lemus, R. (2005) Aloe vera (*Aloe barbadensis* Miller) como componente de alimentos funcionales. *Revista Chilena de Nutrición*, 32, 208-214.

Vila Ballester, L. (2005) Historia de la deficiencia del yodo. In Salas-Salvadó, J., García-Lorda, P. y Sánchez Ripollés, J. M. (Eds.) *La alimentación y la nutrición a través de la historia*. Barcelona, Glosa. 347-372.

Vinson, J. A., Kharrat, A. y Andreoli, L. (2005) Effect of aloe vera preparations on the human bioavailability of vitamins C and E. *Phytomedicine*, 12, 760-765.

Waller, G. R., Mangiafico, S. y Ritchey, C. R. (1978) A chemical investigation of *Aloe barbadensis* Miller Proceedings of the Oklahoma Academy of Science, 58, 69-76.

Watada, A. E. y Qi, L. (1996) Factors affecting quality of fresh-cut horticultural products. *Postharvest Biology and Technology*, 9, 115-125.

Wiley, R. C. (Ed.) (1994) Minimally processed refrigerated fruits y vegetables, New York, Chapman y Hall, 368.

Winter, K. y Smith, J. A. C. (1996) An introduction to Crassulacean acid metabolism: biochemical principles and ecological diversity, Heidelberg, Springer. 1-13.

Wittig De Penna, E. (2001) Evaluación sensorial. Una metodología actual para tecnología de alimentos. Biblioteca digital Universidad de Chile. Santiago. Consultado el 1 de marzo, 2010, de:
http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/lb/ciencias_quimicas_y_farmac_euticas/wittinge01/index.html

Womble, D. y Helderman, J. H. (1992) The Impact of Acemannan on the Generation and Function of Cytotoxic T-Lymphocytes. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 14, 63-77.

Xudong, Y., Al-Babili, S., Kloeti, A., Jing, Z., Lucca, P., Beyer, P. y Potrykus, I. (2000) Engineering The provitamin A (b-carotene) biosynthetic pathway into (carotenoid-free) rice endosperm. *Science*, 287, 303-305.

Yamaguchi, I., Mega, N. y Sanada, H. (1993) Components of the gel of aloe vera. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry.*, 8, 1350-1352.

Yamaguchi, P. (2007) Japan's Nutraceuticals Today - Japan's Economic Recovery Leaves Nutrition Industry Behind. In *Penton Media Attn: General Counsel (Ed.) NPICenter*. New York, Penton. Consultado el 12 de september, 2009, de:
<http://www.npicenter.com/anm/templates/newsATemp.aspx?articleid=19613&zoneid=45>

Yongchaiyudha, S., Rungpitarangsi, V., Bunyapraphatsara, N. y Chokechajaroenporn, O. (1996) Antidiabetic activity of Aloe vera L. juice. I. Clinical trial in new cases of diabetes mellitus. . *Phytomedicine*, 3, 241-243.

VII. ANEJOS

La alimentación es nuestro terreno común, una experiencia universal

James Beard

A.1. Peso molecular medio de polisacáridos en AGS

Center for Advanced Food Science and Technology
Korea University

March 2004

Condition MALLS (multi angle light laser scattering system)
Column: TSK G5000 PW
Mobil Phase: NaNOA(0.05 M)
Injection volume: 1ml
Dilution Media: Distilled water
Dn/dc of aloe: 0.140

*Result

M.W. (Daltons)	Terry Natural Gold Seal Aloe 200X	Terry Cryo-vera 200X TN003	N company Freeze-dry 200X	Terry Labs Spray-dry 200X TN001
Sample Treatment	None	None	None	None
>2,000,000	12.4%			
1,000,000~2,000,000	87.6%			
500,000~1,000,000		98.5%		
200,000~500,000		1.5%	20.0%	
150,000~200,000				1.0 %
66,000~150,000				24.0%
12,500~66,000			80.0%	72.5%
<12,500				2.5%

1. SMALL under 50,000 Daltons

DIABETES (Type 1 and Type 2) Aloe Polysaccharides. Reduce blood sugar levels in human as well as animal studies, even in the absence of insulin.

ANTI-INFLAMMATORY

ARTHRITIS

COLITIS Aloe Polysacch. May protect against / reverse these serious inflammations of joint linings and the colon

2. MEDIUM 50,000 – 150,000 Daltons

ANTI OXYDANT Medium size Aloe Polysaccharides. Have very potent anti oxidant properties but, unlike drugs, do not interfere with the normal functions of cells.

3. LARGE 150,000 – 1,000,000 Daltons

ANTI BACTERIAL

HEALING PROPERTIES

4. VERY LARGE > 1,000,000 Daltons

SUPPORT / IMPROVE IMMUNE SYSTEM FUNCTION

Fuente: Terry Laboratories Inc.

A.2. Boletín técnico de AGS



terry
LABORATORIES

TECHNICAL BULLETIN

TERRY LABORATORIES, INC.
390 N. WICKHAM ROAD • SUITE F • MELBOURNE, FLORIDA 32935 • USA
(321) 259-1630 • FAX (321) 242-0625 • TOLL FREE (800) 367-2563





ALOE GOLD SEAL - NATURAL
Aloe Vera Gel Powder 200X
INCI Name: Aloe Barbadensis

SPECIFICATIONS:	ALOE GOLD SEAL
	Code: AGSR001
APPEARANCE:	Fine Powder
COLOR	Light Cream to Beige
% MOISTURE	8% Max
MAXIMUM DISPERSION RATE @ 25° C	5 Minutes
TOTAL ALOE SOLIDS	100%
PURE ALOE CERTIFIED	Pass
AFTER RECONSTITUTION (1:199 with D.I. Water)	Single Strength Equivalent
pH	3.5 - 5.0
MICROBIOLOGY	
Total Plate Count	< 100 cfu/g
Yeast and Mold Count	< 50 cfu/g
	No Pathogens
CERTIFICATION:	This product is certified for content and purity by the International Aloe Science Council (IASC). In addition, this product carries the Terry Laboratories Pure Aloe Certification which guarantees the absence of fillers and adulterants.
PACKAGING:	Heat Sealed Barrier Bag or Special Packaging by Request
CAUTIONS:	Store in cool, dry place. Once reconstituted, product will darken with age. Preservatives must be added after reconstitution as this product is non-preserved. See MSDS for additional cautions.
PROCESSING:	Aloe Gold Seal - Natural 200X powder is pure vacuum dried inner Aloe Vera fillet in a low heat environment creating a high quality powder. Unlike spray dried or freeze dried, Gold Seal has all the qualities of a pure inner fillet by preventing the breakdown of long chain polysaccharides. In addition, the resulting powder contains the full spectrum of polysaccharides measured in every molecular weight range (via Size Exclusion Chromatography) of fresh Aloe Vera. Gold Seal offers manufacturers a new alternative to create products boosting the benefits of Aloe Vera at 1:199 with D.I. water for single strength equivalency (SSE).

1/07

Technical information and suggestions for use, including any formulations and procedures, are believed to be correct. However this does not constitute a guarantee of the accuracy of the information contained herein and confirming tests in your own plant or laboratory are recommended. No statement or suggestion of use should be construed as a recommendation or inducement to violate any patent rights, and no patent liability can be assumed.

Aloe Gold Seal - Natural

USES:

ALOE GOLD SEAL - Natural 200X Powder is ideally suited for internal applications such as nutraceutical beverages where

a natural appearance is desired, dietary herbal supplements, tablets and capsules.

TYPICAL APPLICATIONS:

EDIBLE PRODUCTS

- Health Drinks
- Juice Blends with Aloe
- Sports/Fitness Drinks
- Dietary Supplements
- Tablets
- Capsules

WHAT PERCENTAGE TO USE?

Depending on the application you will most likely want to use a level (%) which is both cost effective and efficacious in your product formulation. For a 100% Aloe Vera beverage you would use 0.5% ALOE GOLD SEAL. For juice blends, begin with 0.05 - 0.25%

(10% - 50% SSE). When formulating capsules or tablets, 150mg of ALOE GOLD SEAL is equivalent to approximately 1oz of 100% Aloe Vera Gel.

Fuente: Terry Laboratories Inc.

A.3. TR y CR para Hortalizas Frescas

Tabla A. 3.1. Comparación de los valores medios (D.E.) para la tasa de respiración y coeficiente respiratorio a 5 y 20 °C de cada hortaliza fresca.

Factores y niveles	TR O ₂ (mL O ₂ kg ⁻¹ h ⁻¹)	TR CO ₂ (mL CO ₂ kg ⁻¹ h ⁻¹)	CR
Brócoli	**	**	*
5	82±20	71±17	0,90±0,08
20	175±44	172±51	0,99±0,08
Coliflor	**	**	
5	71±31	67±28	0,98±0,04
20	124±4	137±43	1,1±0,2
Endibia	**	**	
5	19±7	18±6	0,93±0,05
20	44±18	43±19	1,0±0,1
Zanahoria	*	*	
5	41±21	38±22	0,90±0,09
20	77±22	74±26	0,95±0,08

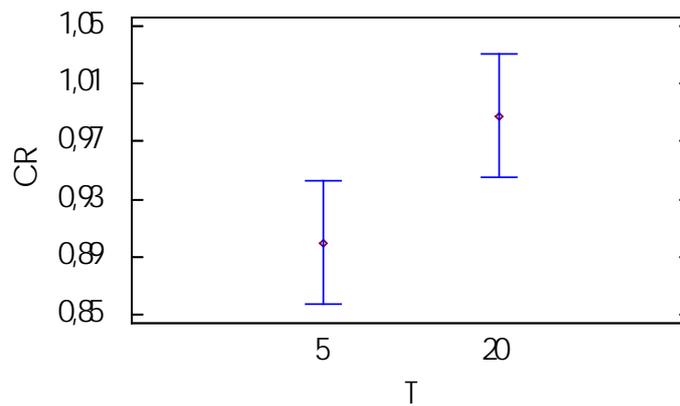


Figura A. 3.1. Efecto de la temperatura sobre el coeficiente respiratorio para brócoli.

Tabla A. 3.2. Valores medios (D.E.) de comparación para la tasa de respiración presentada por las hortalizas frescas, para los ensayos realizados a 5 y 20 °C. Se incorporó el coeficiente respiratorio.

Factores y niveles	TR O ₂ (mL O ₂ kg ⁻¹ h ⁻¹)	TR CO ₂ (mL CO ₂ kg ⁻¹ h ⁻¹)	CR
Temperatura 5 °C	**	**	
Brócoli	82±20 ^a	71±17 ^g	0,90±0,08
Coliflor	71±31 ^a	67±28 ^g	0,98±0,04
Endibia	19±7 ^b	18±6 ^h	0,93±0,05
Zanahoria	41±21 ^b	38±22 ^h	0,90±0,09
Temperatura 20 °C	**	**	
Brócoli	175±44 ^c	172±51 ⁱ	0,99±0,08
Coliflor	124±4 ^d	137±20 ^j	1,1±0,2
Endibia	44±18 ^e	43±19 ^j	1,0±0,1
Zanahoria	77±22 ^f	74±26 ^j	0,95±0,08

A.4. TR y CR para Hortalizas Frescas e IV

Tabla A. 4. 1. Valores medios (D.E.) para la tasa de respiración de hortalizas frescas, en términos de consumo de O₂ y generación de CO₂, y coeficiente respiratorio a 5 °C.

Factores y niveles	TR O ₂ (mL O ₂ kg ⁻¹ h ⁻¹)	TR CO ₂ (mL CO ₂ kg ⁻¹ h ⁻¹)	CR
Brócoli	**	**	
F	82±20	71±17	0,90±0,08
IV	148±28	149±30	1,00±0,02
Coliflor			
F	71±31	67±28	0,98±0,04
IV	45±5	42±6	0,93±0,06
Endibia	**	**	
F	19±7	18±6	0,93±0,05
IV	57±12	53±10	0,90±0,02
Zanahoria			
F	41±21	38±22	0,9±0,1
IV	47±5	47±5	1,0±0,1

Tabla A. 4.2. Valores medios (D.E.) para la tasa de respiración de hortalizas frescas, en términos de consumo de O₂ y generación de CO₂, y coeficiente respiratorio a 20 °C.

Factores y niveles	TR O ₂ (mL O ₂ kg ⁻¹ h ⁻¹)	TR CO ₂ (mL CO ₂ kg ⁻¹ h ⁻¹)	CR
Brócoli		*	
F	175±44	172±51	0,99±0,08
IV	241±62	258±62	1,07±0,06
Coliflor	**	**	
F	124±4	137±20	1,1±0,2
IV	213±9	240±32	1,1±0,1
Endibia	*	**	
F	44±18	43±19	1,0±0,1
IV	77±7	82±2	1,07±0,06
Zanahoria			
F	77±22	74±26	0,95±0,08
IV	66±6	66±8	1,0±0,2

A.5. Ficha evaluación sensorial

Modelo de ficha

Tipo: Afectiva Nombre:Método: Escala hedónica Fecha: Hora:

Producto:

Sírvase degustar cada uno de los set de muestras que se presentan. En cada set hay cuatro muestras, señale con una X el término que mejor refleja su actitud hacia cada una de las muestras. Se permite volver a degustar.

Escales Muestra	38 2	45 7	96 1	12 5
Altamente desagradable				
Muy desagradable				
Desagradable				
Ligeramente desagradable				
Ni agradable ni desagradable				
Ligeramente agradable				
Agradable				
Muy agradable				
Altamente agradable				

Observaciones:

A.6. Colaboraciones

**18th International Congress
of Chemical and Process Engineering**

24th - 28th August 2008 · Prague · Czech Republic

Incorporation of aloe vera in vegetable products by vacuum impregnation

S. Sanzana, M.L. Gras, D. Vidal-Brotóns, N. Betoret
 Institute of Food Engineering for Development (IU-IAD), Department of Food Technology,
 Universidad Politécnica de Valencia, Camino de Vera s/n. CP 46022. Valencia. Spain.
 Phone: +34 963877007 ext. 73671. Fax: +34 963877956. E-mail: mgrasro@tal.upv.es

Introduction

Foods provide nutrients essentials for normal function of body, but unbalanced diets at the long time increase the risk for developing nutritional diseases and involve expensive medical treatments. The inclusion of natural components with beneficial effects on health strengthens the traditional nutritional value of fresh vegetables. One of the techniques of matrix engineering that has been used to produce functional foods is vacuum impregnation [1][2].

The use of the vacuum impregnation (VI) technique in vegetables keeps their physical and sensorial characteristics and fortifies their nutritional value. Food VI makes it possible to introduce dissolved or suspended substances directly into the product porous structure, in a controlled way, allowing fast product compositional and structural changes. This possibility is very interesting for the development of functional foods [1][2].

Scientists have discovered potential health benefits of natural components of aloe vera. Aloe is a tropical or subtropical plant characterized by lance-shaped leaves with jagged edges and sharp points. It is a perennial plant; its leaves joined at the stem in a rosette pattern [3].

Actual value of Aloe vera in helping to improve pathologic conditions, relieve complaints and restore health has been debated from antiquity to the present. Many studies have been made about Aloe vera and its physiologically active substances; they confirm its potential value (Table 1 shows a summary) [3][4][5][6][7].

The objective of this work was to analyse VI response and mechanical properties of several plant tissues in order to determine the feasibility of the application of VI to obtain vegetables enriched in Aloe vera.

Materials and methods

Raw materials

The vegetables used in the experiments were endive (*Cichorium intybus* L.), cauliflower (*Brassica oleracea* var. *Itálica*), broccoli (*Brassica oleracea* var. *botrytis* L.), and carrot (*Daucus carota* L. var. *Nantesa*). They were obtained from the local market (Valencia, Spain), taking into account homogeneity in size, shape and apparent ripeness.

Vacuum impregnation solutions

Prepared solutions of sucrose and of aloe were isotonic with the raw material, in order to assure that hydrodynamic mechanism (HDM) and deformation-relaxation (DRP) phenomena are the only mass transfer mechanisms that occur [8]. The aloe vera powder (Aloe barbadensis, Terry laboratories, Melbourne, FL, USA) was reconstituted to obtain a liquid similar in composition to the natural aloe juice.

Table1. Alleged pharmacological activities of Aloe vera components

Components	Pharmacological Activities
Glycoprotein	Wound Ealing
Maonnosse-6-phosphate	Antiinflammation
Acemannan	Antimicrobial effect, antitumor
Aloe-emodin; emodin	Purgative, anticancer, antioxidant
Aloesin	Cell proliferation
β - sitosterol	Antiinflammation, angiogenesis

Analytical determinations

Physico-chemical properties of the raw materials and VI solutions were measured: soluble solids content, through Brix (by using a refractometer ABBE ATAGO, 3-T, Japan); pH (pHmeter CRISON, MicroPH 2001, Spain); water activity (dew point hygrometer, DECAGON, Aqualab CX-2, USA). A pycnometer method was used to determine the vegetable apparent density (using isotonic solution as reference liquid) and the real density was estimated from water mass fraction using Lewis equation [1]; viscosity (Rheometer HAAKE, Rheo Stress RS1, sensor Z34 DIN Ti).

Vacuum impregnation

Experiments were carried out in specially designed equipment [8] using isotonic solutions of sucrose and aloe vera solution prepared for VI experiments. Figure 1 shows a simplified diagram of the VI process. Sample was immersed and pressure of 50 mbar was applied to the system for 10 min. After this “vacuum period”, the atmospheric pressure was restored and sample was kept immersed for 10 min. The behaviour of the studied vegetables during VI can be characterised by applying previously reported procedure and model, through the analysis of the sample deformation and impregnation levels, quantified by measuring sample mass and buoyancy while immersed in the impregnating solution [1].

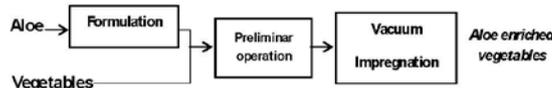


Fig.1 Vacuum impregnation process

Results and discussion

Table 2 shows mean values (\pm standard error) of some physicochemical characteristics of the studied vegetables. Each reported value is the mean of three observations.

Physico-chemical properties for the studied fruits are presented in Table 3. The reported values are the means of three observations.

VI response of different products, in terms of volume fraction (%) of initial sample deformed (γ) and impregnated (X) at the end of vacuum step are shown in Table 4 (mean values and standard deviation).

Table 2. Physico-chemical characteristics of vegetables

Parameters	Endive	Cauliflower	Broccoli	Carrot
Moisture(1)	96.06 \pm 0.18	90.44 \pm 0.29	90.3 \pm 0.3	88.65 \pm 0.25
a_w	0.995 \pm 0.003	0.993 \pm 0.003	0.990 \pm 0.003	0.993 \pm 0.003
pH	5.85 \pm 0.02	6.56 \pm 0.03	6.50 \pm 0.09	6.31 \pm 0.04
Brix(2)	3.93 \pm 0.06	9.00 \pm 0.13	9.083 \pm 0.553	8.6 \pm 0.3
Real density(3)	1015 \pm 7	1037 \pm 5	1045 \pm 4	1044 \pm 7
Apparent density(3)	997 \pm 3	997 \pm 4	989 \pm 2	1028 \pm 2
Porosity(%)	n.s.	n.s.	16 \pm 2	n.s.

(1)mass fraction(%); (2) percentage w/w; (3) kg/m³

Table 3. Physico-chemical characteristics of vegetables

Parameters	Sucrose				Aloe
	Endive	Cauliflower	Broccoli	Carrot	(AGS)
a_w	0.994 \pm 0.003	0.992 \pm 0.003	0.989 \pm 0.003	0.992 \pm 0.003	0.996 \pm 0.003
Density(1)	1030 \pm 3	1040 \pm 2	1057 \pm 3	1052 \pm 3	1002 \pm 4
Brix (2)	8.52 \pm 0.08	9.92 \pm 0.12	11.3 \pm 0.3	11.92 \pm 0.05	0.500 \pm 0.005
pH	5.82 \pm 0.02	5.34 \pm 0.02	5.52 \pm 0.03	6.14 \pm 0.06	4.34 \pm 0.04
Viscosity (cP) 20°C	1.90 \pm 0.02	1.90 \pm 0.02	2.11 \pm 0.02	1.90 \pm 0.02	1.53 \pm 0.04

(1) kg/m³; (2) percentage w/w

Table 4. VI response of different products in terms of volume fraction (%) of initial sample deformed (γ) and impregnated (X) at the end of vacuum step (subscript 1) and at the end of the process; ε effective porosity

Product	γ_1^{**}	γ^{**}	γ_2	X_1^{**}	X^{**}	X_2^{**}	ε_{ef}^{**}
Endive	4±2 ^a	-1±2 ^a	-6±3 ^a	-19±3 ^a	-1±2 ^b	17±2 ^a	20±4 ^a
Cauliflower	0.6±0.5 ^b	-3±2 ^a	-3±1 ^b	-14±2 ^b	-1±2 ^a	13±2 ^b	16±2 ^a
Broccoli	-0.6±1.7 ^b	-3±1 ^a	-2±2 ^c	-26±3 ^c	15±4 ^b	43±2 ^c	46±5 ^b
Carrot	0.7±0.5 ^b	2±1 ^b	0.8±0.7 ^b	-11±3 ^b	-0.1±3 ^a	11±2 ^b	10±1 ^c

a, b, c... different lowercase letters denotes significant differences between samples
 (*) significant at 95%. (**) significant at 99%

The vacuum period causes an expansion and release of the occluded internal gas, producing sample volume increases when gas release is hindered (positive values of γ_1 , except for broccoli). Gas expulsion can take free native liquid with it, which could explain negative values of impregnation at the end of the vacuum period (X_1).

To modify vegetable composition, the most significant parameter is "real" impregnation with external solution, $X_2 (= X - X_1)$. X_2 depended on the type of tissue: broccoli appeared to be the vegetable that reached the maximum impregnation level (the highest X_2 value, 43%), followed by endive (17%), cauliflower (13%) and carrot (11%). Broccoli high impregnation could be explained by its porous structure tissue and meristem (inflorescence and floral), less compact than cauliflower, despite of their apparent similitude. The X_2 values confirm a high level of impregnation, generally comparable with that of apple, a highly porous matrix (11.2-19.0 %) [9].

VI parameters of samples impregnated with the aloe solution are shown in Table 5.

Table 5. Mean values of IV parameters for vegetables with aloe (in volume %)

Product	γ_1^*	γ	γ_2^*	X_1	X^{**}	X_2	ε_{ef}
Endive	2±1 ^a	3±3	1±3 ^b	-12±4	4±3 ^b	16±2	14±4
Carrot	8±6 ^b	4±1	-5±5 ^b	-15.5±0.7	-0.2±0.9 ^b	14.7±0.7	12.0±0.9

a, b, c... different lowercase letters denotes significant differences between samples
 (*) significant at 95%. (**) significant at 99%

Carrot slices and endive leaves showed notable losses of native liquid (negative values of X_1). Nevertheless, this liquid is afterwards replaced by the external solution (X_2), as it can be seen in Table 5.

From the analysis of these results, it can be concluded that aloe presence slightly influences the VI behavior of the studied plant tissues, as compared with VI levels obtained with sucrose. Using aloe solution, endive reached an impregnation level (X_2 value) of 16%, and carrot about 15%.

According to experimental impregnation level, and applying Betoret equation [10], it is possible to estimate aloe vera content of endive and carrot: 70 mg aloe / 100 g endive and 60 mg aloe / 100 g carrot.

Conclusion

Vacuum impregnation behaviour of the studied vegetables matrices indicates that it is possible to produce vegetables enriched with aloe, maintaining their natural features and cellular structures.

References

- [1] Gras ML, Vidal-Brotóns D, Betoret N, Chiralt A, Fito P. (2002). The response of some vegetables to vacuum impregnation. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 3:263-269.
- [2] Fito P, Chiralt A, Betoret N, Gras ML, Cháfer M, Martínez-Monzó J, Andrés A, Vidal D. (2001). Vacuum impregnation and osmotic dehydration in matrix engineering. Application in functional fresh food development. *J. of Food Engineering*, 49:175-183.
- [3] Choi S, Chung MH. (2003). A review on the relationship between aloe vera components and their biologic effects. *Seminars in Integrative Medicine*, 1:53-62.
- [4] Eshun K, He Q. (2004). Aloe vera: a valuable ingredient for the food, pharmaceutical and cosmetic industries. *A rev. Critical Reviews in Food Science Nutr.* 44:91-96.
- [5] Reynolds T & Dweck AC. (1999). Aloe vera leaf gel: a review update. *Journal of Ethnopharmacology*, 68:3-37.
- [6] Ni Y, Turner D, Yates KM, Tizard I. (2004). Isolation and characterization of structural components of Aloe vera L. Leaf pulp. *International Immunopharmacology* 4:1745-1755.
- [7] Vega A, Ampuero N, Díaz L, Lemus R. (2005). El aloe vera (*Aloe barbadensis* Miller) como componente de alimentos funcionales. *Rev. Chil. Nutr.*, 32:208-214.
- [8] 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*, 27:229-240.
- [9] Salvatori D, Andrés A, Chiralt A, Fito P. (1998). The response of some properties of fruits to vacuum impregnation. *Journal of Food Process Engineering*, 21:59-73.
- [10] Betoret N. (2002). Aplicación de algunas técnicas de ingeniería de alimentos en el desarrollo de alimentos naturales enriquecidos. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia.