

International Conference on Food Innovation

*food*Innova  
2014

# ARTÍCULOS

TOMO I

*Jorge Amado Gerard*

*Pedro Fito Maupoey*

(Editores)

Tercera edición | Third edition

20 al 23 de octubre de 2014 | 20<sup>th</sup> to 23<sup>rd</sup> october 2014

Concordia | Entre Ríos | Argentina



Universidad Nacional  
de Entre Ríos

INTERNATIONAL CONFERENCE  
ON FOOD INNOVATION  
FoodInnova 2014

# ARTÍCULOS

TOMO I

UNIVERSIDAD NACIONAL DE ENTRE RÍOS  
UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

664  
CCD International Conference on Food Innovation, FoodInnova 2014 : trabajos completos / Eliana Matta ... [et al.] ; compilado por Pedro Fito Maupoey ; Jorge Amado Gerard. - 1a ed. - Paraná : Universidad Nacional de Entre Ríos. UNER ; Valencia : Universitat Politècnica de València, 2016.  
Libro digital, PDF

Archivo Digital: descarga y online

ISBN 978-950-698-379-6

1. Alimentos. 2. Tecnología de los Alimentos. I. Matta, Eliana II. Fito Maupoey, Pedro, comp. III. Gerard, Jorge Amado, comp.

ISBN Obra Completa 978-950-698-376-5

ISBN Volumen I 978-950-698-379-6

Directora de EDUNER: María Elena Lothringer

Coordinación de la edición: Gustavo Esteban Martínez

Corrección: Martín Maldonado

Maquetación: Gabriela Resett

Diseño gráfico: Hugo Espinosa

© Marchetti, Lucas; Andrés, Silvina Cecilia; Califano, Alicia Noemí; Larrosa, Virginia Judit; *et al.*

© EDITORIAL DE LA UNER

Eva Perón 24 / E3260FIB / Concepción del Uruguay, Entre Ríos, Argentina

República Argentina, 2016.

© Universidad Nacional de Entre Ríos y Universitat Politècnica de València

No se permite la reproducción parcial o total, el almacenamiento, el alquiler, la transmisión o la transformación de este libro, en cualquier forma o por cualquier medio, sea electrónico o mecánico, mediante fotocopias, digitalización u otros métodos, sin el permiso previo y escrito del editor. Su infracción está penada por las leyes 11.723 y 25.446. Queda hecho el depósito que marca la ley 11.723.

Editado en Argentina. Agosto 2016

# ÍNDICE

## FOOD ENGINEERING INNOVATIONS

|  |    |
|--|----|
| EVALUACIÓN DE COMBINACIONES HIDROCOLOIDE-PROTEÍNA<br>SOBRE LA TEXTURA DE SISTEMAS MODELO TIPO GELES .....  | 12 |
| <i>Lucas Marchetti, Silvina Andrés, Alicia Califano</i>  |    |
| DETERMINACIÓN DE LAS ISOTERMAS DE SORCIÓN DE<br>PASTAS LIBRES DE GLUTEN .....  | 22 |
| <i>Virginia Judit Larrosa, Gabriel Lorenzo, Noemí Elisabet Zaritzky, Alicia Califano</i>   |    |
| VINCULACIÓN ENTRE LA CALIDAD DE FIDEOS LIBRE DE GLUTEN<br>COCIDOS Y LAS CONDICIONES DEL PROCESO DE SECADO .....  | 32 |
| <i>Virginia Judit Larrosa, Gabriel Lorenzo, Noemí Elisabet Zaritzky, Alicia Califano</i>   |    |
| OPTIMIZACIÓN DEL SECADO DE HOJUELAS DE YACÓN<br>UTILIZANDO SUPERFICIE DE RESPUESTA Y ALGORITMOS GENÉTICOS .....  | 42 |
| <i>Víctor Vásquez-Villalobos, Julio Rojas-Naccha, Julia Vásquez-Angulo,<br/>Fanny Casimiro-Montoya, Orlando Hernández-Bracamonte</i>                                     |    |
| PROPIEDADES MECÁNICAS Y SORCIÓN DE AGUA DE PELÍCULAS<br>BIODEGRADABLES PREPARADAS A BASE DE LEVADURA .....   | 53 |
| <i>Juan Francisco Delgado, Jorge Ricardo Wagner, Orlando de la Osa González</i>  |    |
| FRUCTAN RETENTION IN YACON SLICES: OPTIMIZATION<br>OF OSMOTIC DEHYDRATION ASSISTED BY ULTRASOUND .....   | 63 |
| <i>Kamilla Soares de Mendonça, João Renato de Jesus, Marina Barbosa Vilela,<br/>Jefferson Luiz Gomes Corrêa</i>  |    |
| DRYING KINETICS OF VACUUM PULSE OSMOTICALLY<br>DEHYDRATED PERSIMMON .....  | 75 |
| <i>Francemir José Lopes, João Renato de Jesus, Guilherme Eurípedes Alves,<br/>Kamilla Soares de Mendonça, Ronaldo Elias de Mello Júnior, Jefferson Luiz Gomes Corrêa</i> |    |
| OPTIMIZACIÓN DE LAS VARIABLES DE PRETRATAMIENTO (MICROONDAS)<br>EN LA EXTRACCIÓN DE ACEITE DE CANOLA .....   | 85 |
| <i>Luciana Berenice Ramos, Ramiro Julián Sánchez, Ana Karina de Figueiredo,<br/>Guillermo Héctor Crapiste, Susana María Nolasco, María Belén Fernández</i>               |    |

|   |     |
|---|-----|
| EFECTO DE LA HUMIDIFICACIÓN DURANTE EL HORNEADO<br>EN LA CALIDAD DE PANIFICADOS DULCES .....  | 96  |
| <i>Micaela Ureta, Daniela Olivera, Viviana Salvadori</i>  |     |
| OPTIMIZACIÓN DE OBTENCIÓN DE <i>ENTEROCOCCUS LACTIS</i><br>MEDIANTE SPRAY DRYING .....  | 106 |
| <i>Aníbal Slavutsky, Mónica Chávez, Alejandra Bertuzzi</i>  |     |
| NUEVO MÉTODO DE CÁLCULO DE LA ENERGÍA DE ACTIVACIÓN<br>PARA ANALIZAR LA CINÉTICA DE DESHIDRATACIÓN DE ALIMENTOS:<br>CONCEPTO DE LA TEMPERATURA CARACTERÍSTICA ..... | 116 |
| <i>Silvana María Demarchi, Sergio Adrián Giner</i>  |     |
| EFECTO DE LA ADICIÓN DE AGENTES DE TENSIÓN ACTIVA<br>EN LA ENCAPSULACIÓN DE D-LIMONENO MEDIANTE TÉCNICAS<br>DE SECADO POR ASPERSIÓN .....                           | 126 |
| <i>Karla Daniela Rubiano-Charry, Jaime Alberto Cárdenas-García,<br/>Héctor José Ciro-Velásquez</i>  |     |
| CAMBIOS EN LOS COMPONENTES ANTIOXIDANTES DURANTE<br>EL PROCESO DE OBTENCIÓN DE VINAGRE DE ARÁNDANOS .....   | 138 |
| <i>Cristina Verónica Davies, Carina Alejandra Soldá, Luz Marina Zapata,<br/>Liliana Mabel Gerard, María Mercedes Ferreyra</i>                                       |     |
| ESTUDIO DE BACTERIAS DEL ÁCIDO ACÉTICO DESTINADAS<br>A LA PRODUCCIÓN DE VINAGRES DE FRUTAS .....  | 149 |
| <i>Liliana Mabel Gerard, Cristina Verónica Davies, María Cristina Cayetano Arteaga,<br/>Carina Soldá, Viviana Rita Rodríguez, María Mercedes Ferreyra</i>           |     |
| KINETIC STUDY OF THE ACIDOLYSIS WITH IMMOBILIZED LIPASES:<br>A PROBABILISTIC MODEL DEVELOPMENT .....  | 159 |
| <i>Camila Andrea Palla, María Elena Carrín</i>  |     |
| RHEOLOGICAL AND TEXTURAL PROPERTIES OF OLEOGELS BASED ON HIGH<br>OLEIC SUNFLOWER OIL AND A COMMERCIAL EMULSIFIER MIXTURE .....                                      | 170 |
| <i>Camila Andrea Palla, María Elena Carrín, Diego Bautista Genovese</i>   |     |
| CINÉTICA DE SECADO-TOSTADO DE SOJA REMOJADA.<br>UN MODELO MATEMÁTICO QUE CONSIDERA DIFUSIVIDAD VARIABLE,<br>ENCOGIMIENTO Y TRANSFERENCIA DE CALOR ACOPLADA .....    | 178 |
| <i>Ricardo Martín Torrez Irigoyen, Sandro Mauricio Goñi, Sergio Adrián Giner</i>  |     |
| ESTUDIO DE LA HIDRATACIÓN DE PELÍCULAS COMESTIBLES ELABORADAS<br>A PARTIR DE LA LEVADURA .....  | 189 |
| <i>Andrés Gerardo Salvay, Gabriela Fernanda Rud, Matías Alberto Nana,<br/>Juan Francisco Delgado, Orlando de la Osa</i>   |     |

|   |            |
|---|------------|
| <b>PELÍCULAS COMESTIBLES ADICIONADAS CON EXTRACTO DE BROTES DE SOJA:<br/> INFLUENCIA SOBRE LAS PROPIEDADES MECÁNICAS .....</b>  | <b>200</b> |
| <i>Ariel Germán Michaluk, Ana María Romero, María Alicia Judis, Nora Bertola</i>  |            |
| <b>LOMITOS DE CABALLA PRESERVADOS MEDIANTE TECNOLOGÍA<br/> DE OBSTÁCULOS .....</b>  | <b>210</b> |
| <i>Gerardo Checmarev, María Isabel Yeannes, Alicia Bevilacqua, María Rosa Casales</i>   |            |
| <b>SOLID DOSAGE FORMS (POWDERS AND TABLETS) AS AN ALTERNATIVE<br/> TO PREVENT ZINC NUTRITIONAL DEFICIENCY .....</b>   | <b>218</b> |
| <i>Alex Fernando López Córdoba, Alba Sofía Navarro, Miriam Nora Martino</i>   |            |
| <b>MATRICES DE QUITOSANO MICROCRISTALINO OBTENIDAS<br/> POR MODIFICACIÓN QUÍMICA DEL QUITOSANO .....</b>  | <b>228</b> |
| <i>Diego Alejandro Marín Silva, Sandra Rivero, Adriana Pinotti</i>  |            |
| <b>CAMBIOS INDUCIDOS POR LA RADIACIÓN UV EN PELÍCULAS<br/> DE CARBOXIMETILCELULOSA Y ALCOHOL POLIVINÍLICO<br/> EN PRESENCIA DE BENZOATO DE SODIO .....</b>                        | <b>238</b> |
| <i>Sabrina Villarruel, Leda Gianuzzi, Sandra Rivero, Adriana Pinotti</i>  |            |
| <b>MATERIALES ECO-COMPATIBLES DE ALMIDÓN DE MANDIOCA<br/> TERMOPLÁSTICO Y RESIDUOS FIBROSOS .....</b>   | <b>249</b> |
| <i>Florencia Versino, Olivia Valeria López, María Alejandra García</i>  |            |
| <b>EFFECTO DE LA INCORPORACIÓN DE LACTOFERRINA Y LISOZIMA<br/> SOBRE LAS PROPIEDADES FÍSICAS DE PELÍCULAS BIODEGRADABLES<br/> DE ALMIDÓN DE PATATA .....</b>                      | <b>260</b> |
| <i>Olga Moreno Marro, Lorena Atarés Huerta, Amparo Chiralt Boix</i>   |            |
| <b>EVALUACIÓN SENSORIAL DE GOMINOLAS SALUDABLES FORMULADAS<br/> CON TAGATOSA, OLIGOFRUCTOSA Y EXTRACTOS ACUOSOS DE STEVIA .....</b>   | <b>271</b> |
| <i>Ángela Periche, Paloma Quintanilla, María Luisa Castelló, Ana Heredia,<br/>Ana Andrés, Isabel Escriche</i>   |            |
| <b>INFLUENCIA DE LA REFORMULACIÓN DE GOMINOLAS<br/> CON EDULCORANTES FUNCIONALES (ISOMALTULOSA, TAGATOSA,<br/> OLIGOFRUCTOSA Y STEVIA) EN SUS PROPIEDADES ÓPTICAS .....</b>       | <b>281</b> |
| <i>Ángela Periche, Paloma Quintanilla, María Luisa Castelló, Ana Heredia,<br/>Isabel Escriche, Ana Andrés</i>   |            |
| <b>EFFECTO DE LA INCORPORACIÓN DE POLICAPROLACTONA Y POLIETILENGLICOL<br/> EN LAS PROPIEDADES ÓPTICAS Y DE BARRERA AL VAPOR DE AGUA<br/> DE PELÍCULAS A BASE DE ALMIDÓN .....</b> | <b>291</b> |
| <i>Rodrigo Ortega-Toro, M<sup>a</sup> Amparo Muñoz, Pau Talens, Amparo Chiralt</i>  |            |

|   |     |
|---|-----|
| CINÉTICA DE CONCENTRACIÓN POR CONGELACIÓN ASISTIDA<br>POR CENTRIFUGACIÓN APLICADA A JUGO DE NARANJA ..... | 301 |
| <i>Guillermo Petzold, Ingrid Andana, Erick Jara, Patricio Orellana, Jorge Moreno</i>                      |     |

|   |     |
|---|-----|
| DISEÑO Y CONSTRUCCIÓN DE EQUIPAMIENTO<br>PARA MADURAR QUESOS CAPRINOS .....   | 306 |
| <i>Denis Cura, Federico Lescano Stoppa, René J. Rodríguez, Luis Aguilar,<br/>René A. Rodríguez, Luis González, Héctor Paz, Sandra L. Martínez</i> |     |

|  |     |
|--|-----|
| MICROENCAPSULATION OF <i>L. ACIDOPHILUS</i> USING SOY EXTRACT POWDER<br>AS ENCAPSULATING MATERIALS ..... | 315 |
| <i>Leidiane Andreia Acordi Menezes, Deisy Alessandra Drunkler, Mariana Manfroi Fuzinatto</i>             |     |

### FOOD PROCESSING AND CONTROL INNOVATION

|  |     |
|--|-----|
| DESPLIEGUE FUNCIONAL DE CALIDAD EN EL DESARROLLO DE PRODUCTO<br>A BASE DE NUECES DE MACADAMIA Y MIEL DE EUCALIPTO .....      | 323 |
| <i>Guillermo Salamanca Grosso, Leidy Marcela Montoya Devia,<br/>Mónica Patricia Osorio Tangarife, Nelson Rodríguez Arias</i> |     |

|  |     |
|--|-----|
| INCIDENCIA DE LAS CONDICIONES DE ENTORNO SOBRE<br>LA ESTABILIDAD CROMÁTICA EN PURÉ DE AGUACATE ..... | 333 |
| <i>Guillermo Salamanca Grosso, Mónica Patricia Osorio, Pedro Martínez Gutiérrez</i>                  |     |

|   |     |
|---|-----|
| MÉTODO DE CONTROL INTERNO PARA LA CUANTIFICACIÓN<br>DE GLUTEN EN ALIMENTOS.....                           | 343 |
| <i>Paola Soledad Chigal, Ignacio Daniel Ángel Álvarez, Laura Beatriz Milde,<br/>Domingo Javier Liotta</i> |     |

|  |     |
|--|-----|
| TRATAMIENTO DE IMÁGENES EN DIMENSIÓN FRACTAL DEL EFECTO<br>DE PROPÓLEOS EN HALOS DE INHIBICIÓN DE <i>ASPERGILLUS NIGERY</i><br>EVALUACIÓN EN NÉCTAR DE MEMBRILLO ..... | 352 |
| <i>Víctor Vásquez-Villalobos, Carla Samaniego, Daphne García, Blanca Aguilar,<br/>Félix Zurita</i>   |     |

|  |     |
|--|-----|
| EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE <i>PLEUROTUS</i><br><i>OSTREATUS</i> CONGELADOS, DURANTE EL SECADO CONVECTIVO ..... | 363 |
| <i>Liliana Valiente, Elizabeth Ohaco, Antonio De Michelis</i>  |     |

|   |     |
|---|-----|
| ACEPTABILIDAD SENSORIAL DE FILETES DE CABALLA<br>AHUMADOS EN FRÍO ..... | 373 |
| <i>Silvina Paola Agustinelli, María Isabel Yeannes</i>                  |     |

|  |     |
|--|-----|
| CINÉTICA DE DEGRADACIÓN TÉRMICA DE ALL-TRANS- $\beta$ -CAROTENO<br>EN BATATA ( <i>IPOMOEAS BATATA LAM</i> ) VARIEDAD CIP440287 ..... | 381 |
| <i>María Alejandra Ospina, Angélica Jaramillo, Jhon Larry Moreno,<br/>Sonia Gallego, Marilia Nutti</i>                               |     |

|   |     |
|---|-----|
| PRODUCTION AND CONSUMER ACCEPTABILITY OF A KIWI JAM .....   | 388 |
| <i>Celia Pimenta, Manuela Vaz Velho, Luís Patarata, Rita Pinheiro</i>   |     |
| EFEECTO DEL TAMAÑO DE PORO DE MEMBRANA SOBRE VARIABLES<br>DE PROCESO DE MICROFILTRADO DEL JUGO DE MANGO .....   | 396 |
| <i>Tonny García-Rujano, Alexia Torres</i>   |     |
| PELÍCULAS COMPUESTAS A BASE DE ALMIDÓN Y QUITOSANO:<br>FORMULACIÓN Y CARACTERIZACIÓN .....  | 405 |
| <i>María Julieta Bof, Yanina Zambón, María Alejandra García, Delia Locaso</i>   |     |
| PROPIEDADES FÍSICAS Y ANTIFUNGICAS DE FILMS DE ALMIDÓN-GELATINA<br>CON ACEITES ESENCIALES .....   | 415 |
| <i>Sandra Acosta Dávila, M<sup>a</sup> Consuelo González-Martínez, Josefa Rosello Caselles,<br/>María Pilar Santamarina Siurana, Amparo Chiralt Boix, Maite Cháfer Nacher</i> |     |
| EFFECT OF MOISTURE ON THE OIL EXTRACTION FROM SUNFLOWER<br>COLLETS AND ITS CONTENT OF MINOR COMPOUNDS .....   | 425 |
| <i>Ethel E. Pérez, Érica R. Baiümler, María Elena Carrín,<br/>Guillermo H. Crapiste, Amalia A. Carelli</i>  |     |
| PRODUCTION OF SATURATED MONOGLYCERIDES BY ENZYMIC<br>ESTERIFICATION IN SOLVENT FREE SYSTEMS .....   | 435 |
| <i>Camila Andrea Palla, María Elena Carrín</i>  |     |
| EVALUATION OF STABILITY OF POWER SALTING OF SALT (NaCl)<br>MICROPARTICLES IN SHOESTRING POTATOES .....  | 440 |
| <i>Juliana Farinassi Mendes, Daniela María Rodrigues, Síntia Carla Corrêa,<br/>Ana Carla Marques Pinheiro</i>   |     |
| USO DE TECNOLOGÍA DE LAVADO PARA MEJORAR LA CALIDAD EXTERNA<br>DE NUEZ PECÁN CON CÁSCARA .....  | 447 |
| <i>Marina Graciela Panozzo</i>  |     |
| MODIFICACIÓN DE LA FLORA MICROBIOLÓGICA DURANTE<br>EL SALADO DE ANCHOÍTA ( <i>ENGRAULIS ANCHOITA</i> ) .....  | 455 |
| <i>Silvina Pérez, Silvia Barañano, Silvia Elena Murialdo, María Isabel Yeannes</i>  |     |
| EFEECTO DE LA TEMPERATURA DEL AIRE EN LA CINÉTICA<br>DE SECADO Y EN LAS PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS<br>DE LA REMOLACHA ( <i>BETA VULGARIS</i> ) .....                          | 465 |
| <i>Roque Masciarelli, Héctor Lucero, Estefanía Sterpi, Pazo M<sup>te</sup> Victoria</i>   |     |
| EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE HARINA<br>DE REMOLACHA OBTENIDA LUEGO DE SECADO A DIFERENTES<br>TEMPERATURAS Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL EC50 .....                 | 476 |
| <i>Roque Masciarelli, Héctor Lucero, Silvia A. Silvester, Mónica Bonfigli</i>   |     |



MODELADO DE LA CINÉTICA DE TRANSFERENCIA DE MASA  
EN FUNCIÓN DE LA TEMPERATURA DURANTE LA DESHIDRATACIÓN  
OSMÓTICA DE PULPA DE MEMBRILLO ..... 485  
*Daniel Bermejo, Sandro Ariel Faner, Gerardo Alberto Calvo*

EVALUACIÓN DE MATRICES POLIMÉRICAS PARA LA ELABORACIÓN  
DE RECUBRIMIENTOS ACTIVOS CON BACTERIOCINAS ..... 494  
*Carolina Ibaguren, María Virginia Guitián, Aníbal Marcelo Slavutsky,  
Mónica Silvina Chávez, María Alejandra Bertuzzi, Marcela Carina Audisio*

ANTIOXIDANT CAPACITY AND TOTAL PHENOLIC CONTENT  
OF CHIA SEEDS (*SALVIA HISPÁNICA* L.) OBTAINED BY CONVENTIONAL  
SOLVENT EXTRACTION (METHANOL AND HEXANE) AND THEIR  
INFLUENCE DURING STORAGE ..... 504  
*Edith Corona-Jiménez, José Benedito Fort, Irving Ruiz-López,  
Héctor Ruiz-Espinoza, José Carranza-Concha*

ULTRASONIC ASSISTED ANTIOXIDANT EXTRACTION FROM MEXICAN  
AVOCADO CREOLE (*PERSEA AMERICANA* VAR. *DRYMIFOLIA*) PEELS. .... 512  
*Tania Martínez-Ramos, José Carranza-Concha, Irving Ruiz-López,  
Héctor Ruiz-Espinoza, Lorena Luna-Guevara, Edith Corona-Jiménez*

ESPINACAS MÍNIMAMENTE PROCESADAS. PROPUESTA DE PROCESAMIENTO  
PARA PROLONGAR SU VIDA ÚTIL ..... 522  
*Ramiro Martín Casoliba, Diego Ricardo Gutiérrez, Silvia del Carmen Rodríguez*

INNOVACIÓN EN EL PROCESAMIENTO DE *OPUNTIA FICUS INDICA* PARA  
PROLONGAR SU VIDA POSTCOSECHA ..... 533  
*Silvia del Carmen Rodríguez, Diego Ricardo Gutiérrez, Ramiro Martín Casoliba*

IMPACT OF THE DIET ON THE NUTRITIONAL COMPOSITION  
OF THE MEAT OF CHAROLAIS X NELORE CROSS STEERS OF BRAZIL ..... 544  
*A. Biolatto, A. Callegaro, J. S. Vittone, M. Lado, I. Brondani, D. Borchate,  
J. M. Cocco, S. Adams, J. Klein, A. F. Moura*

#### HEALTH AND WELFARE

IN VIVO ANTI-INFLAMMATORY AND IN VITRO ANTI-OXIDANT  
ACTIVITIES OF THE RED (*PSIDIUM CATTLEYANUM*) AND YELLOW  
(*P. CATTLEYANUM* VAR. *LUCIDUM* HORT.) ARAÇÁ FRUITS ..... 552  
*María Rosana Ramírez, Miriam Apel, Amelia Henriques, José Ángel Zuanazzi*

IMPACTO DE LA COCCIÓN SOBRE LOS VALORES DE TBARS EN CARNE  
DE POLLO ENRIQUECIDA CON ÁCIDOS GRASOS OMEGA-3 Y PROTEGIDA  
CON VITAMINA E ..... 561  
*Claudia Gallinger, Francisco Federico, Corina Bernigaud,  
Bernardo Iglesias, María Jesús Pagán Moreno, Élide Gómez*

|  |     |
|--|-----|
| FORMULACIÓN DE UNA MINITORTA SABOR VAINILLA<br>APTA PARA CELÍACOS .....  | 570 |
| <i>Mirta Susana Velazque, Alexis Lionel Sosa, Mariana Jiménez Veuthey</i>  |     |
| PRODUCCIÓN DE PÉPTIDOS BIOACTIVOS A PARTIR DE MANOPROTEÍNAS<br>AISLADAS DE DIFERENTES ESPECIES DE LEVADURAS .....  | 581 |
| <i>Pablo Spontón, Roque Spinelli, Silvina Drago, Georgina Tonarelli, Arturo Simonetta</i>  |     |
| RELACIÓN ENTRE LA FRECUENCIA DE CONSUMO Y LA PREFERENCIA<br>DE ALIMENTOS AMARGOS .....   | 592 |
| <i>Luciana León Bianchi, David García Burgos, María Clara Zamora</i>   |     |
| ANÁLISIS VALORATIVO DEL CONSUMO DE STEVIA EN DISTINTAS<br>CONDICIONES BIOLÓGICAS Y ACEPTABILIDAD DE PRODUCTOS<br>FORMULADOS CON ESTE EDULCORANTE .....       | 601 |
| <i>Daniela Del Zotto, María Cristina Ciappini</i>  |     |
| ACTIVIDAD ANTITROMBÓTICA DE PROTEÍNAS DE AMARANTO<br>SOMETIDAS A DIGESTIÓN GASTROINTESTINAL SIMULADA .....   | 611 |
| <i>Ana Clara Sabbione, Adriana Scilingo, María Cristina Añón</i>   |     |
| DESARROLLO DE UN QUESO FRESCO FUNCIONAL<br>CON COLESTEROL REDUCIDO .....   | 622 |
| <i>Sandra Lazzaroni, Micaela Galante, Yanina Pavón, Nora Sabbag, Patricia Risso, Valeria Boeris, Sergio Rozycki</i>  |     |
| ACEPTABILIDAD DE HORTALIZAS REGIONALES DE V GAMA .....   | 634 |
| <i>Beatriz Gómez, Sabrina Lencina, Rosa Ábalos, Silvana Correa, María Brossard, Cristina Alfaro, Florencia Schargorodsky, Daniela Alcaraz, Bruno Vasconi</i> |     |
| FORMULACIÓN DE BEBIDAS FUNCIONALES DIETÉTICAS<br>SABORIZADAS A BASE DE YACÓN .....   | 645 |
| <i>Carolina Antonella Paulino, Andrés Alberto Chavarri Altamirano, Antonio De Michelis, Mónica Roselva Ochoa</i>   |     |
| ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS DE DULCES DE CONFITERÍA<br>EN LA CIUDAD DE CASCAVEL, PARANÁ, BRASIL .....   | 656 |
| <i>Renata Daniela Saldanha Nandi, Luciana Oliveira de Fariña, Fabiana André Falconi</i>  |     |
| CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LECHE HUMANA PROCESADAS<br>EN EL MUNICIPIO DE CASCAVEL, PARANÁ, BRASIL .....   | 664 |
| <i>Kamilla Zabotti, Anelise Vieczorek, Poliana Becker, Luciana Oliveira de Fariña, Fabiana André Falconi</i>   |     |
| JAMS WITH IMPROVED ANTIOXIDANT PROPERTIES BY PARTIAL<br>REPLACEMENT OF WHITE SUGAR BY NON-CENTRIFUGAL CANE SUGAR .....                                       | 670 |
| <i>Lourdes Cervera, Lucía Seguí, Cristina Barrera, Noelia Betoret, Pedro Fito</i>  |     |

# Food Engineering Innovations

A decorative graphic consisting of two thick, black, wavy lines that sweep across the page from left to right, positioned below the main title.

[Volver al índice](#)

# EVALUACIÓN DE COMBINACIONES HIDROCOLOIDE-PROTEÍNA SOBRE LA TEXTURA DE SISTEMAS MODELO TIPO GELES

Lucas Marchetti, Silvina Andrés, Alicia Califano

## 1. RESUMEN

Para el desarrollo de productos de contenido lipídico reducido pueden ser efectivos los procesos de sustitución de grasa basados en el agregado de gomas en combinación con proteínas. Sin embargo, debido a la variabilidad de las matrices alimentarias, es necesario identificar combinaciones proteínas-hidrocoloides y estudiar su capacidad para constituir sistemas que puedan ser usados como sustitutos de la fase grasa. Se estudió la capacidad de formar geles de diversos pares hidrocoloide+proteína no cárnica (Hid+PNC) y la textura de los mismos. Se prepararon geles con diferentes combinaciones de Hid+PNC: concentrado de proteínas lácteas + carragenanos (L+Carr); concentrado de proteínas de suero lácteo+carragenanos (WPC+Carr); clara de huevo en polvo+carragenanos (CH+Carr); clara de huevo en polvo+mezcla xántica-garrofín (CH+XL); clara de huevo en polvo+metilcelulosa (CH+MC). En todos los casos la concentración de Hid+PNC se mantuvo constante e igual a 4 g/100 g de solución, variando las concentraciones de hidrocoloides y proteínas entre 0 y 4 g/100g. Se formaron los geles por tratamiento térmico (80 °C) y luego se refrigeraron a 4 °C. Para evaluar la textura de los geles obtenidos se realizó un ensayo de punción registrándose la fuerza de ruptura del gel (FG) y la distancia a la ruptura (DR). Se encontró una importante dependencia lineal de la FG con la concentración de hidrocoloides para las combinaciones WPC+Carr, CH+Carr, CH+XL. En el caso de la combinación L+Carr se distinguieron dos zonas, la primera zona, de 0 a 2 g/100g de Carr, donde se incrementó la FG del gel con la concentración de Carr, y la segunda, encima de 2 g/100 g donde es menor la influencia de Carr en la FG.

---

CONTACTO: Silvina Andrés [scandres@biol.unlp.edu.ar](mailto:scandres@biol.unlp.edu.ar)  
CIDCA, CONICET, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP,  
47 y 116, La Plata (1900), Argentina.

Por otro lado CH+MC arrojó valores de FG significativamente inferiores al resto de las formulaciones en todo el espectro de combinaciones estudiado. Además, presentó una zona intermedia con mayores valores de FG. En todos los rangos de concentraciones estudiados del par L+Carr, los geles formados presentaron valores uniformes de DR, de entre 4 y 5 mm. Para los geles de WPC+Carr este parámetro presentó valores uniformes en todo el rango evaluado, siendo similar a L+Carr, observándose una ligera tendencia a disminuir con valores de Carr superiores a 2g/100g. En el caso de mezclas de Hid y CH se observó una dependencia directamente proporcional de la DR con el contenido del Hid, a altos contenidos de CH. Finalmente, para bajos niveles de CH, la DR de estos tres sistemas resultó independiente de la concentración. Los sistemas conteniendo L+Carr formaron geles que presentaron la mayor FR, así como una elevada y uniforme DR.

## 2. INTRODUCCIÓN

Cuando se producen interacciones entre macromoléculas actúan fuerzas repulsivas y atractivas entre ellas. De estas subyacen dos fenómenos opuestos: la incompatibilidad o la formación de complejos (Tolstoguzov, 1990, 2003; Ledward, 1994; Turgeon y col., 2003). En la formación de complejos de proteínas con carga opuesta y polisacáridos aniónicos se pueden originar complejos tanto solubles como insolubles. La neutralización mutua de las cadenas que llevan cargas opuestas disminuye la carga neta y la hidrofobicidad en las zonas de unión obteniéndose una conformación compacta del complejo, con las zonas de unión ocultas dentro de su interior hidrofóbico (Tolstoguzov, 2003). La neutralización de las cargas de un polisacárido aniónico también puede reducir la rigidez de sus cadenas principales debido a una disminución en las interacciones repulsivas de los grupos de igual carga (Figura 1).

La estequiometría de un complejo insoluble tiende a satisfacer la condición de completa neutralización mutua de los reactivos macromoleculares. Debido a las limitaciones topológicas, las proteínas globulares y las cadenas de polisacáridos aniónicos rígidos no pueden lograr el contacto entre todos sus grupos cargados. Por el contrario, las proteínas con estructura desplegada (tal como gelatina, caseína y proteínas de almacenamiento de semillas desnaturalizadas) tienden a formar un número máximo de contactos con un polisacárido de carga opuesta (Turgeon, 2003).

Como objetivo de este trabajo se propuso estudiar, en sistemas modelo de geles mixtos, el efecto de distintas combinaciones hidrocoloide-proteína no cárnica sobre la capacidad de formación de gel y la textura de los sistemas que gelificaron, de manera de seleccionar entre los aditivos evaluados previamente de forma individual (Marchetti, 2013) una combinación potencialmente adecuada para ser incorporada en formulaciones de salchichas magras elaboradas con aceite como sustituto de grasa vacuna o porcina.

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

Para la elaboración de los geles mixtos se emplearon: agua destilada, clara de huevo en polvo (78 % proteínas, CH, Tecno S.A., Crespo, Entre Ríos, Argentina); concentrado de proteínas lácteas (80 % proteínas, L, Milkaut S.A., Franck, Santa Fé, Argentina); concentrados de proteínas de suero de leche modificado térmicamente y sin modificar (78 % proteínas, WPCmod y WPC, respectivamente, Arla Foods Ingredients S.A., Martinez, Buenos Aires, Argentina); metilcelulosa (MC, Droguería Saporiti, Buenos Aires, Argentina); carragenanos kappa ( $\kappa$ ) y iota ( $\iota$ ) en proporción 2:1 (Adama S.A., Buenos Aires, Argentina); mezcla de gomas xántica y garrofín en relación 2:1 (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, EE.UU.). Se prepararon geles con diferentes combinaciones de aditivos: concentrado de proteínas lácteas + carragenanos (L+Carr), concentrado de proteínas de suero lácteo + carragenanos (WPC+Carr), clara de huevo en polvo + carragenanos (CH+Carr), clara de huevo en polvo + mezcla xántica-garrofín (CH+XL) y clara de huevo en polvo + metilcelulosa (CH+MC).

En todos los casos la concentración total (proteína + hidrocoloide) se mantuvo constante (4 g/100g de solución), variando las concentraciones de hidrocoloides y proteínas entre 0 y 4 g/100g. Se realizaron dispersiones en agua de los biopolímeros y, para asegurar la completa disolución de los componentes, se calentaron a 80 °C durante 10 min. Se dejaron enfriar a 4 °C y se obtuvieron geles de 4 cm de diámetro y 1.5 cm de altura que se mantuvieron refrigerados durante 18 h hasta su análisis.

#### **EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE FORMACIÓN DE GEL**

Se evaluó la capacidad de formar gel de las combinaciones proteína-hidrocoloide seleccionadas utilizando el método de Coffman y García (1977). Se observaron

las muestras inclinando a 45° el recipiente. Las muestras que presentaron fluidez no fueron consideradas para el posterior análisis de textura ya que no lograron la formación de gel.

#### **TEXTURA DE GELES**

Para evaluar la textura de los geles obtenidos se realizó un ensayo de punción empleando un Texturómetro TAXT2i Texture Analyzer (Stable Micro Systems, UK) y una sonda de punción de 3 mm (SMSP/3). La velocidad del ensayo fue de 1 mm/s, la máxima distancia de penetración fue de 60 %, registrándose la fuerza del gel o “gel strength” como la fuerza necesaria para fracturar el gel expresada en N (Tabiolo-Munizaga y col., 2005) y la distancia a la ruptura (DR), como la distancia recorrida por la sonda hasta producirse la ruptura, expresada en mm. Los ensayos se realizaron por cuadruplicado.

#### **4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En la selección de los pares hidrocoloide-proteína no cárnica a estudiar en sistema modelo se consideró que en ensayos previos (Marchetti, 2013) la incorporación de proteínas de leche (L), carragenanos (Carr), o mezcla de gomas xántica-garrofín (XL) a la formulación de los productos incrementó la dureza a valores similares al control con grasa (CG). Asimismo, con el agregado de proteínas de suero lácteo (WPC), proteínas de leche, clara de huevo en polvo (CH), carragenanos o mezcla de gomas xántica-garrofín se obtuvieron rendimientos similares al control con grasa (CG), mientras que las pérdidas por centrifugación se vieron disminuidas con el agregado de los hidrocoloides Carr, MC o XL.

Si bien las posibles combinaciones entre proteínas de leche (L), WPC y clara de huevo en polvo con los hidrocoloides Carr, MC y XL son nueve, no se incluyeron en este estudio las combinaciones de L o WPC con XL y MC, por haberse encontrado en la bibliografía datos de incompatibilidad o interacciones negativas. Así, Syrbe y col. (1981) informaron incompatibilidades entre las proteínas lácteas con metilcelulosa (MC) y goma xántica en emulsiones aceite en agua. También se ha informado incompatibilidad entre proteínas lácteas y los galactomananos como la goma garrofín en emulsiones aceite/agua (Sittikijyothin, 2010).

La textura es un atributo de calidad que está fuertemente relacionado con las propiedades mecánicas y estructurales de los alimentos. La estructura de los geles está conformada por porciones pequeñas de sólidos dispersados en proporciones relativamente grandes de líquido, y se caracteriza por su propiedad de rigidez mecánica o su capacidad de soportar un esfuerzo cortante en reposo. Los geles tienen la notable capacidad de comportarse como un sólido mientras que conservan muchas de las características propias de los fluidos (Tabilo-Munizaga y col., 2005).

Las mediciones de una sola propiedad tal como la fuerza del gel se han utilizado por los proveedores y los usuarios para caracterizar distintos sistemas gelificados. Sin embargo, estas mediciones a menudo basadas en pruebas de ruptura, no son totalmente representativas del comportamiento mecánico general de los geles (Tabilo-Munizaga y col., 2005). Por eso resulta importante estudiar otros parámetros como la distancia a la ruptura del gel o el módulo elástico. De esta forma se obtienen más parámetros para analizar y comparar distintas muestras.

Las distintas combinaciones hidrocoloides+proteínas no cárnicas evaluadas produjeron una amplia variedad de geles, excepto en los casos donde la concentración de carragenanos fue nula (0 g/100g), ya que las proteínas lácteas no gelificaron en las condiciones estudiadas.

La Figura 2 muestra, a modo de ejemplo, los perfiles obtenidos del ensayo de punción realizado para cada combinación Hid+PNC que gelificó, en relación 35:65.

Del análisis de estos perfiles se evaluaron los parámetros fuerza de ruptura y distancia a la ruptura en función del contenido de las macromoléculas presentes en los geles. En la Figura 3 se presentan los valores de fuerza de ruptura para los distintos geles estudiados. En el eje de abscisas se indica la proporción en base seca del hidrocoloide presente en el gel mixto. Como se indicó previamente, los geles se prepararon con una concentración total de sólidos constante (4 g/100g gel), por lo que los niveles de proteínas pueden inferirse por diferencia.

Se encontró una importante dependencia lineal de la fuerza de ruptura del gel con la concentración de hidrocoloides para las combinaciones WPC+Carr, CH+Carr, CH+XL (Coeficiente de correlación de Pearson = 0.87, 0.86 y 0.84, respectivamente). En el caso de la combinación L+Carr se distinguieron dos zonas, la primera zona, de 0 a 50 g/100g (b.s.) de carragenano, donde se incrementó la fuerza de ruptura del gel con la concentración de carragenano, y la segunda, donde al aumentar la concentración de Carr por encima de 50 g/100g b.s. se produjo una



disminución en la pendiente, siendo menor la influencia de la presencia de Carr en la fuerza del gel.

Por otro lado, la combinación de clara de huevo y metilcelulosa (CH+MC) arrojó valores de fuerza de ruptura significativamente inferiores al resto de las formulaciones en todo el espectro de combinaciones de CH+MC estudiado. Además presentó una zona intermedia con mayores valores de fuerza de gel.

La distancia a la ruptura del gel se relaciona con la integridad estructural del mismo (Luo y col., 2001), por lo que se usó este parámetro para complementar la información proporcionada por el valor de fuerza de ruptura. En la Figura 4 se muestran los valores de distancia a la ruptura de los geles estudiados. En el eje de abscisas se indica la composición en base seca del hidrocólide presente en el gel mixto, pudiendo observarse distintos comportamientos para las muestras ensayadas.

En todos los rangos de concentraciones estudiados del par L+Carr, los geles formados presentaron valores uniformes de distancia a la ruptura, de entre 4 y 5 mm. Para los geles de WPC+Carr este parámetro presentó valores uniformes en todo el rango evaluado, siendo similar a L+Carr, observándose una ligera tendencia a disminuir con valores de Carr superiores a 50g/100g b.s. En el caso de mezclas de hidrocóides y clara de huevo en polvo (CH+Carr, CH+XL y CH+MC) se observó una dependencia directamente proporcional de la DR con el contenido del hidrocóide, para concentraciones bajas del mismo (hasta aproximadamente 25g/100g b.s.), es decir, a altos contenidos de clara de huevo en polvo. Estos resultados concuerdan con Park (1994) quien reportó que la adición de clara de huevo en polvo a geles de surimi resultó en una marcada rigidez en los mismos, caracterizados por bajos valores de distancia a la ruptura. Finalmente, para contenidos de gomas superiores a un 50g/100g b.s., la DR de los tres sistemas con CH resultó independiente de la concentración.

Por todo lo anteriormente analizado, los sistemas conteniendo proteínas de leche y carragenanos (L+Carr) formaron los geles que presentaron la mayor fuerza a la ruptura, así como una elevada y uniforme distancia a la ruptura. Con un contenido de carragenanos entre 10 y 50 g/100g (b.s.) y consecuentemente un mayor nivel de proteínas de leche, puede observarse la mayor variabilidad del sistema (fuerza de ruptura entre 1.1 N y 3.8 N). Una fuerza de ruptura de gel elevada es deseada dado que se pueden lograr geles con una dureza determinada empleando menos cantidad de agente gelificante, lo que resulta en una ventaja tecnológica.

## 5. CONCLUSIONES

Se pudo evaluar de manera efectiva y sencilla la capacidad de formación de geles mixtos de distintas combinaciones de hidrocoloides y proteínas no cárnicas. La combinación de carragenanos y proteínas lácteas presentó los valores más elevados de fuerza de gel y una deformación constante en un amplio rango, por lo que resultaría la más adecuada para incorporarla en formulaciones de salchichas magras.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

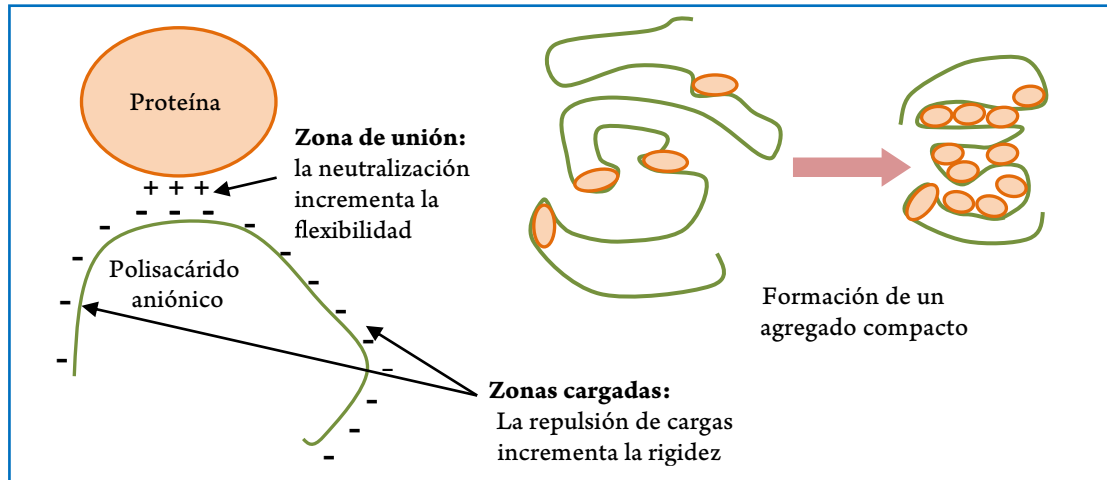
- COFFMANN, C.W. y Garcia, V.V. (1977). *International Journal of Food Science & Technology*, 12, 473-484.
- LEDWARD, D.A. (1994). En: Editores: Hettiarachchy, N.S. y Ziegler G.R. *Protein Functionality in Food Systems*. Nueva York: Marcel Dekker. (pp 225-259).
- LUO Y.K., Kuwahara R., Kaneniwa M., Murata Y., y Yokoyama M. (2001). *Journal of Food Science*, 66, 548-544.
- MARCHETTI, L., Andrés, S.C., Califano, A.N. (2013). *LWT - Food Science and Technology* 51, 514-523.
- MULVIHILL, D.M. y Kinsella, J.E. (1987). *Food Technology*, 41, 102-111.
- PARK, J.W. (1994). *Journal of Food Science*, 59, 525-527.
- SITTIKIYOTHIN, W., Sampaio P. y Gonçalves, M.P. (2010). *Food Hydrocolloids*, 24, 726-734.
- SYRBE, A., Bauera, W.J., Klostermeyer, H. y Cornell, J.A. (1981). John Wiley y Sons, Nueva York, Estados Unidos.
- TABILO-MUNIZAGA, G. R. y Barbosa Cánovas G.V. (2005). *Journal of Food Engineering*, 67, 147-156.
- TOLSTOGUZOV, V.B. (1990). *Carbohydrate Polymers*, 12, 245-253
- TOLSTOGUZOV, V.B. (2003). *Food Hydrocolloids*, 17, 1-23.
- TURGEON, S.L. Beaulieu, M., Schmitt, C. y Sanchez, C. (2003). *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 8, 401-414.

## AGRADECIMIENTOS

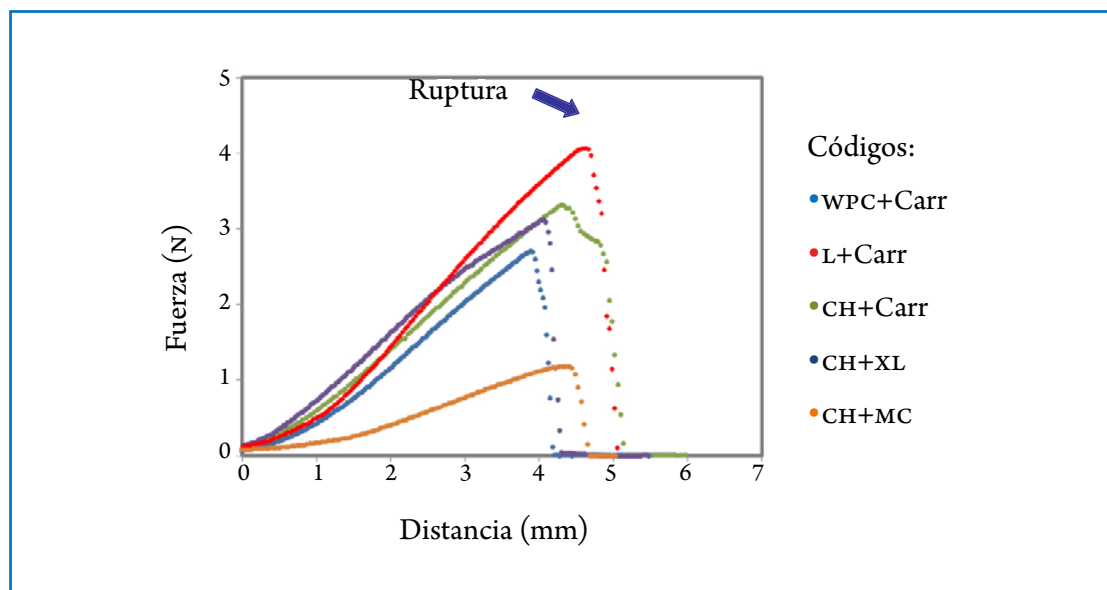
Los autores agradecen la financiación del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICET, Argentina), la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (Argentina) y la Universidad Nacional de La Plata. Asimismo,

mo agradecen la contribución de Milkaut s.A., Arla Foods Ingredients s.A, y Omega Sur s.A., por los materiales suministrados.

## 7. TABLAS Y FIGURAS



**FIGURA 1.** Esquema de la interacción y la formación de un complejo entre una proteína globular y un polisacárido aniónico



**FIGURA 2.** Ensayo de punción realizado sobre los distintos geles obtenidos

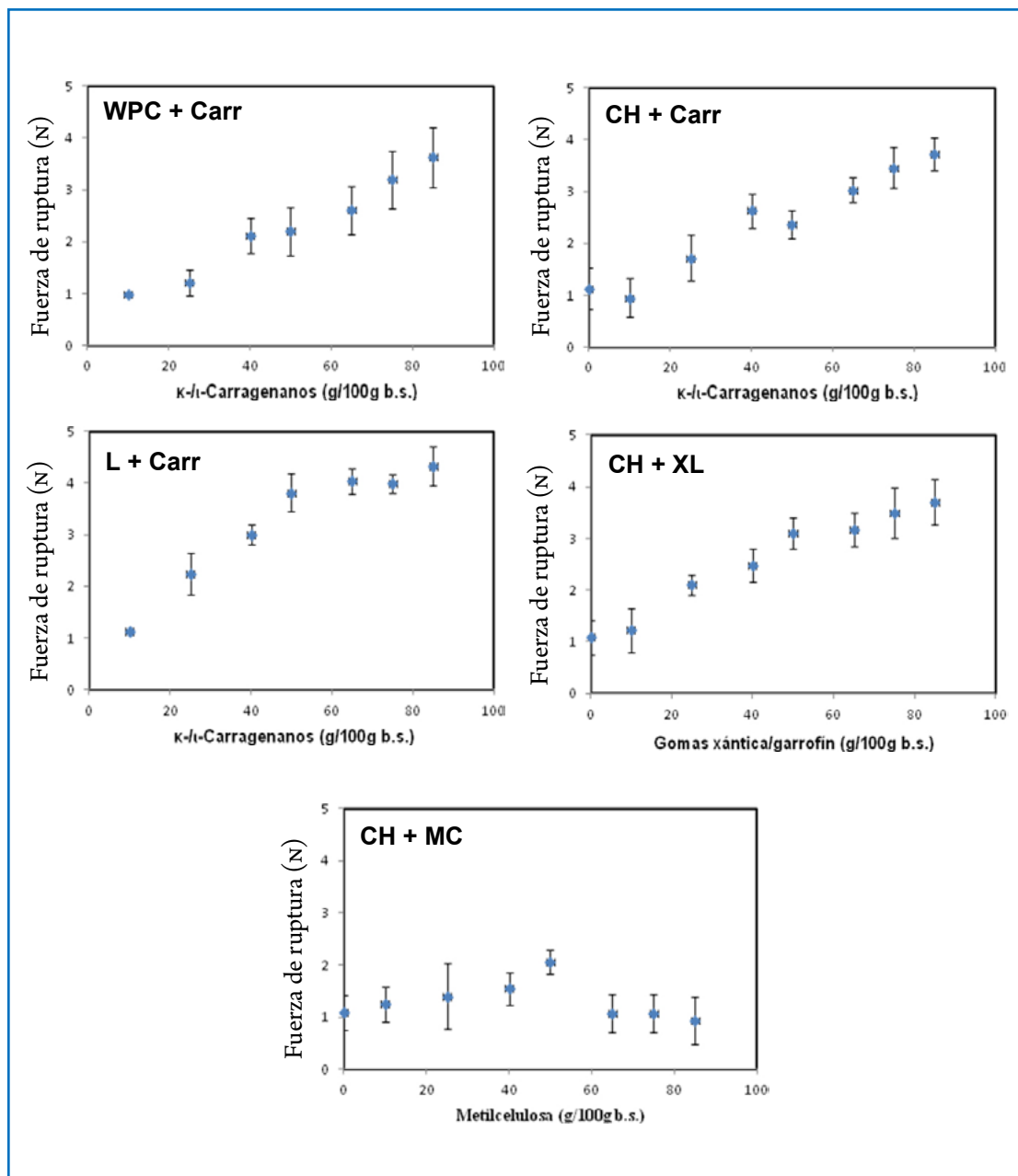


FIGURA 3. Fuerza de ruptura de los geles mixtos en función de la proporción de hidrocoloides

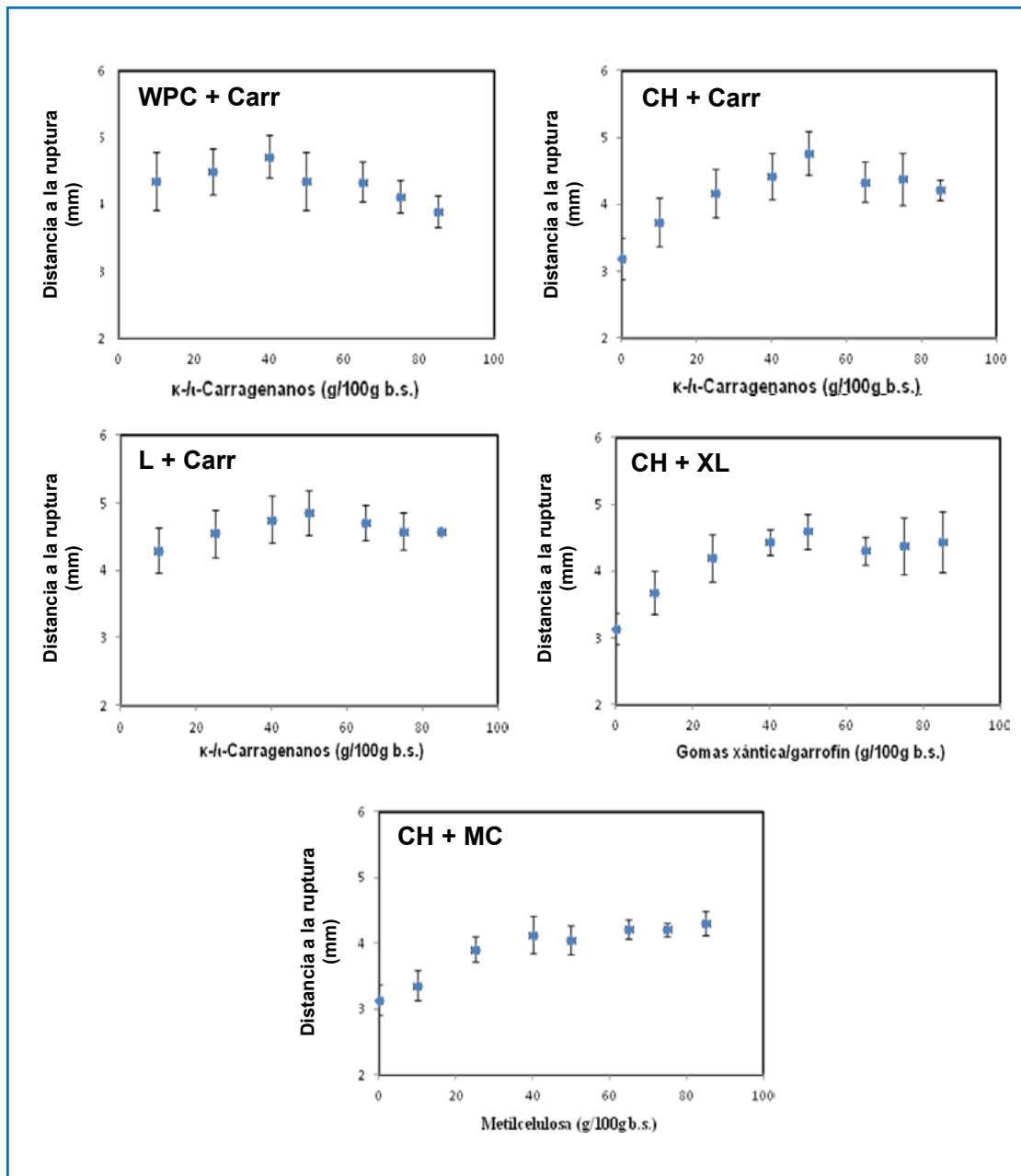


FIGURA 4. Distancia a la ruptura de los geles mixtos en función de la concentración de hidrocoloides

# DETERMINACIÓN DE LAS ISOTERMAS DE SORCIÓN DE PASTAS LIBRES DE GLUTEN

Virginia Judit Larrosa<sup>1,2</sup>, Gabriel Lorenzo<sup>1,3</sup>, Noemí Elisabet Zaritzky<sup>1,3</sup>, Alicia Califano<sup>1</sup>

## 1. RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue determinar experimentalmente y modelar las isotermas de sorción de humedad de pastas libre de gluten (LG) a diferentes temperaturas. El estudio de sorción se realizó sobre una pasta LG, tipo espagueti, utilizando una formulación previamente optimizada (6.6 % de proteína, 35.96 % de agua, 41.10 % de almidón de maíz, 10.27 % harina de maíz, 2.50 % de mezcla de gomas, 1.06 % de sal y 2.51 % de aceite). Se determinaron las isotermas de sorción de las pastas LG a 25 y 40 °C, utilizando la técnica gravimétrica por el método estático, para lo cual se usaron soluciones salinas saturadas de actividad de agua ( $a_w$ ) conocida cubriendo un rango entre 0.20 y 0.92. Se utilizó un equipo AquaLab serie 3 (Decagon Devices Inc., USA). Las isotermas de sorción fueron descritas por los modelos GAB, Henderson y Oswin. El modelo de Oswin fue el que presentó un mejor ajuste a los datos experimentales. Los valores obtenidos correspondientes a la humedad de la monocapa fueron 0.086 g de agua/g de masa seca y 0.080 g de agua/g de masa seca a 25 °C y 40 °C, respectivamente. Se evidenció una disminución de la humedad de equilibrio cuando la temperatura de la isoterma aumentaba, a una  $a_w$  constante. El modelo de Oswin modificado por Cheng Chia y Morey (1989), permitió tener en cuenta el efecto de la temperatura en el equilibrio presentando un ajuste satisfactorio ( $R^2=0.84$ ) de los datos experimentales. El mismo fue utilizado para predecir las humedades de equilibrio en distintas condiciones de secado de pasta libre de gluten.

---

CONTACTO: Virginia Judit Larrosa [larrosa\\_v@hotmail.com](mailto:larrosa_v@hotmail.com)

1. CIDCA, CONICET, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, 47 y 116, La Plata (1900), Argentina.

2. Facultad de Bromatología, UNER.

3. Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de La Plata.

## **2. INTRODUCCIÓN**

El estudio de las propiedades de sorción de los alimentos se realiza a través de las isothermas de sorción de agua, que relacionan el contenido de humedad de equilibrio por unidad de masa en base seca frente a la actividad de agua ( $a_w$ ) a una temperatura dada siendo una buena herramienta termodinámica para la predicción de las interacciones entre los componentes del alimento y el agua (Chirife y Buera, 1994). Además, son importantes para predecir los cambios en la estabilidad de los alimentos y en la elección adecuada del material de empaque (Zhang y col., 1996). A su vez la actividad de agua ( $a_w$ ) es un parámetro que indica la disponibilidad de agua en un alimento para que existan reacciones químicas, bioquímicas (p.e. oxidación de lípidos, reacciones enzimáticas, reacción de Maillard) y desarrollo microbiano (Comaposada y col., 2000). Por esto  $a_w$  es un parámetro muy usado como indicador para predecir la vida útil de un alimento. Las isothermas se denominan de adsorción o desorción, dependiendo si se parte de una muestra húmeda o seca, así se pueden obtener dos curvas diferentes de un mismo producto. Cuando la pasta está en contacto con el aire a temperatura constante y humedad relativa, gana o pierde agua. Este fenómeno constituye la base para la determinación de las isothermas de sorción de humedad. Existen varias ecuaciones, empíricas y semiempíricas, que se han propuesto para correlacionar datos experimentales del contenido de humedad de equilibrio con la actividad de agua de un alimento, proporcionando resultados satisfactorios en ciertos rangos de actividad de agua, siendo muy útiles para la conservación de los productos alimenticios. Las curvas de sorción expresan los estados de equilibrio higroscópico de un determinado producto. Su determinación constituye una etapa indispensable para una mejor comprensión de los problemas vinculados a la modelización de los procesos de secado y permiten obtener información de la estabilidad del producto después de secado (Bilali y col., 2001). El objetivo de este trabajo fue determinar experimentalmente y modelar las isothermas de sorción de humedad de pastas libre de gluten a diferentes temperaturas y humedades relativas.

## **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **PREPARACIÓN DE LAS PASTAS LIBRES DE GLUTEN**

El estudio de sorción se realizó sobre una pasta libre de gluten (LG), tipo espagueti, utilizando una formulación previamente optimizada (6.6 % de proteína, 35.96 %

de agua, 41.10 % de almidón de maíz, 10.27 % harina de maíz, 2.50 % de mezcla de gomas, 1.06 % de sal y 2.51 % de aceite).

### **OBTENCIÓN Y MODELADO DE LAS ISOTERMAS DE SORCIÓN**

Las isotermas de sorción de las pastas LG se realizaron a dos temperaturas 25 °C y 40 °C, utilizando la técnica gravimétrica por el método estático, para lo cual se usaron soluciones salinas saturadas de actividad de agua cubriendo un rango de actividad de agua ( $a_w$ ) entre 0.20 y 0.92. (Tabla 1).

Cada recipiente que contenía la muestra y la sal saturada fue cerrado herméticamente y colocado en una estufa de temperatura controlada. A los contenedores que contenían humedades relativas mayor a 55 % se les colocó Timol en un recipiente pequeño, para evitar el desarrollo microbiano, especialmente el enmohecimiento. Se controló el peso de las muestras cada 7 días, hasta llegar a peso constante (condición de equilibrio). El ensayo se realizó por duplicado para cada temperatura.

El contenido de humedad de equilibrio de las muestras se determinó, siguiendo el método 44-40 AACC (1984) y la actividad de agua de cada muestra y de las sales saturadas fue controlada usando un equipo AquaLab Series 3 (Pullman, Estados Unidos).

### **MODELADO DE LAS ISOTERMAS DE SORCIÓN**

Los datos experimentales se modelaron matemáticamente, con los modelos más utilizados en el área de alimentos como son GAB, Oswin y Henderson (Chirife y Iglesias, 1978).

La eficacia del ajuste de los modelos presentados se evaluó por medio del coeficiente de correlación lineal ( $R^2$ ),  $\chi^2$  (chi-cuadrado) y por el porcentaje de error medio relativo (%E).

$$E_{(\%)} = \frac{100}{n} \sum_{i=1}^n \frac{|X_e - X_p|}{X_e} \quad (1)$$

siendo  $X_e$  es el contenido de humedad experimental (g agua/ g masa seca);  $X_p$  es el contenido de humedad predicho a partir de cada modelo (g agua/g masa seca); y  $n$  es el número de observaciones.



#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los modelos disponibles en la literatura para describir la humedad de isoterma de sorción se pueden dividir en varias categorías: modelos cinéticos sobre la base de una monocapa (modelo MOD-BET), los modelos cinéticos sobre la base de una película de múltiples capas y condensada (modelo de GAB), semi-empírico (modelos Ferro-Fontan, Henderson y Halsey) y los modelos empíricos (modelos Oswin Smith) (Al-Muhtaseb y col. 2004).

Los datos experimentales obtenidos se ajustaron con algunos de los modelos matemáticos de isotermas más utilizados en el área de alimentos como son GAB, Oswin, y Henderson (Ecuaciones 2, 3 y 4, respectivamente), que ya que han sido utilizados por varios autores para este tipo de alimentos (Andrieu y col., 1985; Lagoudaki y col., 1993; Inazu y col., 2001; De Temmerman y col., 2008).

GAB

$$X_w = \frac{X_m \cdot C \cdot a_w}{(1 - k \cdot a_w) \cdot (1 + (C - 1) \cdot K \cdot a_w)} \quad (2)$$

Oswin

$$X_w = A \left[ \frac{a_w}{1 - a_w} \right]^B \quad (3)$$

Henderson

$$X_w = \left[ \frac{-\ln(1 - a_w)}{A} \right]^{1/B} \quad (4)$$

donde

$a_w$ : actividad de agua.

$X_w$ : humedad de equilibrio (g de agua/g masa seca).

$X_m$ : humedad del producto correspondiente a la situación en que los puntos de adsorción primarios están saturados por moléculas de agua (g de agua/g masa seca).

$K$ : factor de corrección relacionado con el calor de sorción de la multicapa.

$C$ : constante de Guggenheim, característica del producto y relacionada con el calor de sorción de la monocapa.

$A$  y  $B$  (Oswin): son constantes del modelo y características para cada alimento.

$A$  y  $B$  (Henderson): son parámetros característicos del producto.

Las isothermas obtenidas en este trabajo fueron isothermas de desorción ya que se partió de un alimento húmedo, es decir se produjo una reducción de humedad por parte del mismo. En las figuras 1a y 1b se presentan las curvas experimentales y modeladas a 25 °C y 40 °C, respectivamente, utilizando los modelos propuestos. Ambas figuras representan una forma característica de los alimentos (Iglesias y Chirife, 1982, 1984; Samaniego-Esguerra y col., 1991).

En la Tabla 2 se puede observar que el agua adsorbida a nivel de la monocapa ( $X_m$ ) corresponde a 0.086 g de agua/g de masa seca y 0.080 g de agua/g de masa seca a 25 °C y 40 °C, respectivamente, para los fideos LG ensayados. Este valor podría explicarse porque la masa LG está compuesta mayormente por hidratos de carbono, los cuales poseen mayor capacidad de retención de agua en la región de bajas humedades relativas (Martinez Navarrete y col., 1998). A su vez, este valor correspondiente a humedad de la monocapa podría ser utilizado como una referencia para el contenido crítico de humedad, a fin de mantener la estabilidad del producto durante su almacenamiento a las temperaturas usadas para la experiencia, por ser mínimas las reacciones de deterioro (Labuza, 1968). Por otra parte, se muestra una leve disminución de  $X_m$  al incrementarse la temperatura, lo que puede deberse a la menor disponibilidad de los sitios activos (o enlaces de hidrógeno) en los polímeros de almidón para la unión con el agua (Iglesias y Chirife, 1976). El comportamiento de desorción fue descrito por los tres modelos propuestos (GAB, Henderson y Oswin), siendo el modelo de Oswin el que presentó un mejor ajuste a la medida experimental de las curvas de desorción de la pasta LG, tal como lo refirieron Andrieu y col. (1985) en pastas de trigo.

Con respecto a la temperatura se pudo observar que existió una marcada influencia de este parámetro en el contenido de humedad de equilibrio en casi todo el rango de la actividad de agua estudiada. Se evidencia que la humedad de equilibrio ( $X_w$ ) disminuye cuando aumenta la temperatura a una actividad de agua ( $a_w$ ) constante. Fijando una  $a_w$ , la humedad de equilibrio fue menor con el aumento de la temperatura, es decir las muestras a 25 °C absorbieron más agua que las muestras a 40 °C lo que indicaría un carácter menos higroscópico de las pastas almacenadas a mayor. Según Lagoudaki y col. (1993) este fenómeno puede ser atribuido a que las moléculas de agua a bajas temperaturas tienen una menor energía cinética, la cual no es suficiente para superar la correspondiente energía de adsorción.

## CONTENIDO DE HUMEDAD DE EQUILIBRIO ( $X_w$ )

El conocimiento de las propiedades de desorción de los alimentos es de gran importancia en el modelado de la deshidratación de los alimentos. Para tener en cuenta la influencia de la temperatura en el equilibrio higroscópico se empleó el modelo de Oswin modificado por Chen y Morey (1989), que tiene en cuenta la influencia de la temperatura sobre la sorción de vapor de agua por los alimentos. El modelo de Oswin modificado (Ecuación 5) puede expresarse considerando el efecto de la temperatura de la siguiente manera:

$$X_w = (A + B * T) * \left( \frac{a_w}{1 - a_w} \right)^c \quad (5)$$

donde A, B y C son los parámetros del modelo y T es la temperatura (°C).

Mediante el uso de la Ecuación 5, se realizó el modelado de las humedades de equilibrio ( $X_w$ ) de las isotermas en función de la actividad de agua y la temperatura, como se muestra en la Figura 2 obteniéndose los valores de los parámetros del modelo A: 0.156 B: -0.003, y C: 0.474 ( $R^2=0.84$ ). Utilizando dichos parámetros regresionados, se pueden predecir humedades de equilibrio ( $X_w$ ) en distintas condiciones de secado en pasta libres de gluten. Debe recordarse que los valores la humedad relativa (HR) del proceso de secado se convierten a valores de  $a_w$  teniendo en cuenta que HR es la relación adimensional de la presión real de vapor del aire a la presión de vapor de saturación ( $a_w = HR/100$ ).

## 5. CONCLUSIONES

El comportamiento de sorción fue descrito por los modelos GAB, Henderson y Oswin, siendo este último el que presentó un mejor ajuste a los datos experimentales. Los valores correspondientes a la humedad de la monocapa fueron 0.086 g de agua/g de masa seca y 0.080 g de agua/g de masa seca a 25 °C y 40 °C, respectivamente. Se evidenció una disminución de la humedad de equilibrio cuando la temperatura de la isoterma aumentaba, a una  $a_w$  constante. El modelo de Oswin modificado por Cheng Chia y Morey (1989), permitió tener en cuenta el efecto de la temperatura en el equilibrio presentando un ajuste satisfactorio ( $R^2=0.84$ ) de los datos experimentales y puede ser utilizado para predecir las humedades de equilibrio en distintas condiciones de secado de pasta libre de gluten.

## **AGRADECIMIENTOS**

Los autores agradecen el financiamiento del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCYT) y la Universidad Nacional de La Plata (UNLP). También agradecen la colaboración de Ovobrand S.A., Brandsen.

## **6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- AACC (American Association of Cereal Chemists). Approved Methods of the AACC, Tenth ed. St Paul, MN, USA. 2000.
- AL-MUHTASEB A, Mccinn W, Magee T. Water sorption isotherms of starch powders. Part 1: Mathematical description of experimental data. *Journal of Food Engineering*, 2004; 61:297-307.
- ANDRIEU J., Stamatopoulos A., Zafiroopoulos M. Equation for fitting desorption isotherms of durum wheat pasta. *Journal of Food Technology*. 1985; 20: 651-657.
- BILALI L., Kouhila M., Benchanaa M., Mokhlisse A., Belghit A. Experimental study and modelling of isotherms of sorption of humid natural phosphate. *Energy Conversion and Management*. 2001; 42:467-481.
- CHENG CHIA C., Morey R. Comparison of Four EMC/ERH Equations. *Transactions of the ASAE*. 1989; 32: 983-990.
- CHIRIFE J., BUERA M.P. Water activity, glass transition and microbial stability in concentrated semi-moist food systems. *Journal of Food Science*. 1994; 59: 921-927.
- CHIRIFE J., Iglesias H. Equations for fitting water sorption isotherms of foods: Part 1- a review. *International Journal of Food Science & Technology*. 1978; 13: 159-174.
- COMPOSADA J.; Gou P.; Arnau J. The effect of sodium chloride content and temperature on pork meat isotherms. *Meat Science*. 2000; 55(3): 291-295.
- DE TEMMERMAN J., Verboven P., Delcour J.A. Nicolai B., H. Ramon Drying model for cylindrical pasta shapes using desorption isotherms. *Journal of Food Engineering*. 2008; 86: 414-421.
- IGLESIAS H.A., Chirife J. BET monolayer values in dehydrated foods and food components. *Lebensmittel, Wissenschaft und Technologie*. 1976; 9:107-113.
- IGLESIAS H.M., Chirife J. *Handbook of food isotherm*. New York: Academic Press. 1984.
- IGLESIAS H.M., Chirife J. *Handbook of food Isotherms: Water Sorption Parametres for Food Componentes*. New York: Academic Press, New York. 1982.

- INAZU T., Iwasaki K., Furuta T. Effect of Temperature and Relative Humidity on Drying Kinetics of Fresh Japanese Noodle (Udon). *Lebensmittel, Wissenschaft und Technologie*. 2002; 35:649–655.
- LABUZA T.P. Sorption phenomena in foods. *Food Technology*. 1968; 22(3): 15-24.
- LAGOUDAKI M., Demertzis PG, Kontominas MG. Moisture adsorption behaviour of pasta products. *Lebensmittel, Wissenschaft und Technologie*. 1993; 26: 512-516.
- MARTÍNEZ Navarrete N., Grau A., Chiralt A., FITO P. Termodinámica y cinética de sistemas alimentos entorno. Departamento de tecnología de alimentos escuela técnica superior de ingenieros agrónomos. Universidad politécnica de valencia. 1998.
- SAMANIEGO-ESGUERRA C.M., Boag I.F., Roberston G.L. Comparison of regression methods for fitting the GAB model to the moisture isotherms of some dried fruit and vegetables. *Journal of Food Engineering*. 1991; 13:113–115.
- XUE-WU Z., Xin L., De-Xiang G., Wei Z., Ren-L W., PEN L. Desorption Isotherms of Some Vegetables. *Journal Science Food Agriculture*. 1996; 70(3): 303-306.

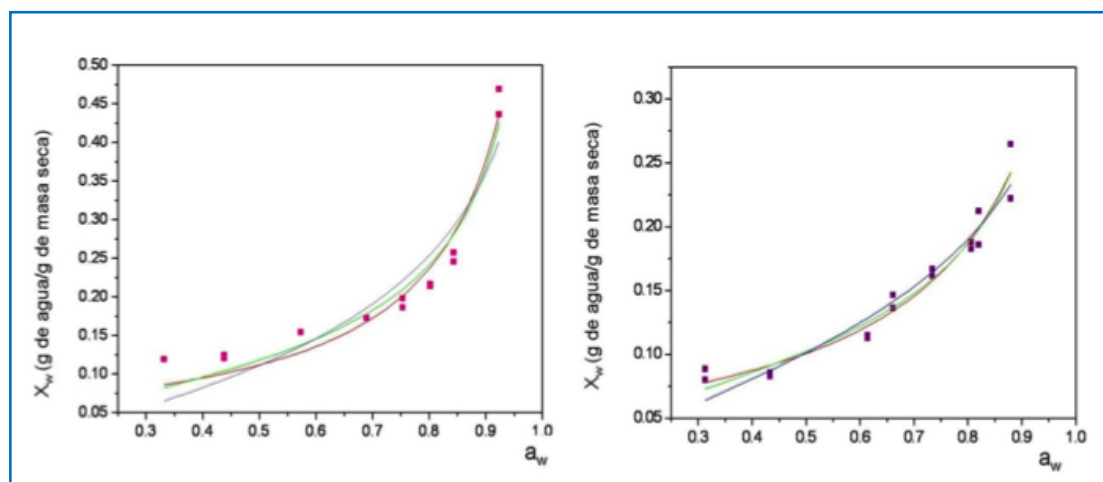
## 7. TABLAS Y FIGURAS

**TABLA 1.** Soluciones salinas saturadas y sus respectivas actividades de agua a 25 °C y 40 °C (Andrieu y col., 1985; Labuza y col., 1985)

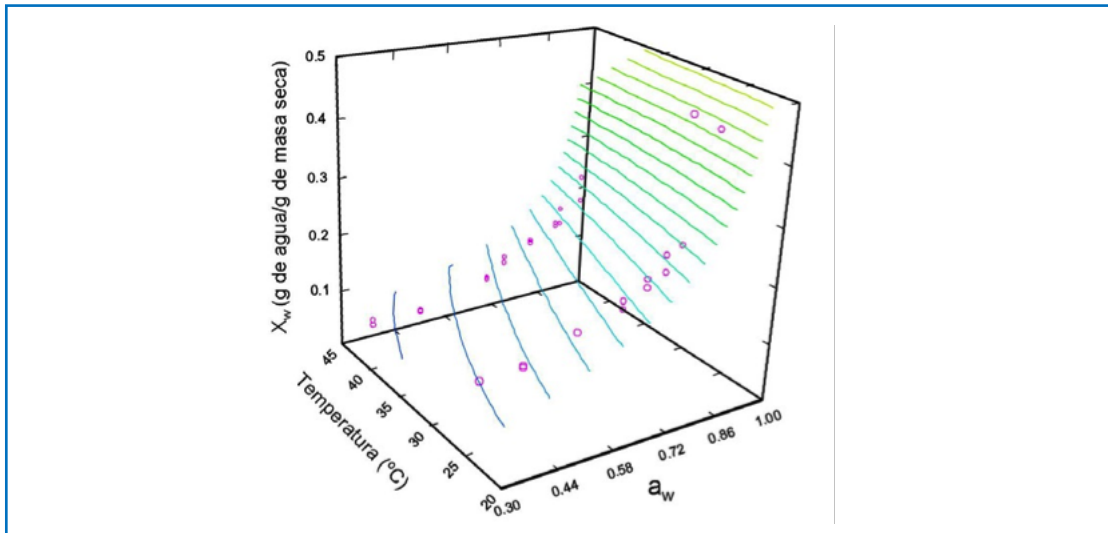
| SAL                  | ACTIVIDAD DE AGUA ( $A_w$ ) |       |
|----------------------|-----------------------------|-------|
|                      | 25 °C                       | 40 °C |
| Acetato de potasio   | 0.226                       | 0.206 |
| Cloruro de magnesio  | 0.332                       | 0.313 |
| Carbonato de potasio | 0.438                       | 0.433 |
| Bromuro de sodio     | 0.573                       | 0.614 |
| Ioduro de sodio      | 0.689                       | 0.661 |
| Cloruro de sodio     | 0.753                       | 0.734 |
| Sulfato de amonio    | 0.802                       | 0.806 |
| Cloruro de potasio   | 0.843                       | 0.820 |
| Nitrato de potasio   | 0.923                       | 0.879 |

**TABLA 2.** Constantes obtenidas de los Modelos GAB, Oswin y Henderson

| MODELOS   | CONSTANTES                 | TEMPERATURAS  |               |
|-----------|----------------------------|---------------|---------------|
|           |                            | 25 °C         | 40 °C         |
| GAB       | $X_m$ (g agua/g masa seca) | 0.086 ± 0.001 | 0.080 ± 0.002 |
|           | C                          | 5.7 ± 2.6     | 5.8 ± 1.0     |
|           | K                          | 0.86 ± 0.01   | 0.78 ± 0.08   |
|           | $R^2$                      | 0.95          | 0.96          |
|           | $\chi^2$                   | 0.00073       | 0.00015       |
|           | E%                         | 12.6 ± 0.08   | 6.66 ± 0.03   |
| HENDERSON | A                          | 6.5 ± 1.1     | 14.86 ± 2.8   |
|           | B                          | 1.02 ± 1.01   | 1.34 ± 0.11   |
|           | $R^2$                      | 0.86          | 0.94          |
|           | $\chi^2$                   | 0.00173       | 0.00021       |
|           | E%                         | 20.6 ± 0.1    | 8.58 ± 0.07   |
| OSWIN     | A                          | 0.13 ± 0.01   | 0.102 ± 0.004 |
|           | B                          | 0.43 ± 0.04   | 0.43 ± 0.03   |
|           | $R^2$                      | 0.92          | 0.95          |
|           | $\chi^2$                   | 0.00104       | 0.00015       |
|           | E%                         | 9.96 ± 0.06   | 7.43 ± 0.04   |



**FIGURA 1.** Isotherma de desorción para fideos libres de gluten a) 25 °C y b) 40 °C modeladas con los modelos de — GAB, — Henderson y — Oswin; ■ 25°C y ■ 40 °C datos experimentales



**FIGURA 2.** Modelado de las humedades de equilibrio  $X_w$  (g agua/g masa seca) en función de la actividad de agua y la temperatura

# VINCULACIÓN ENTRE LA CALIDAD DE FIDEOS LIBRE DE GLUTEN COCIDOS Y LAS CONDICIONES DEL PROCESO DE SECADO

Virginia Judit Larrosa<sup>1,2</sup>, Gabriel Lorenzo<sup>1,3</sup>, Noemí Elisabet Zaritzky<sup>1,3</sup>, Alicia Califano<sup>1</sup>

## 1. RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue analizar la influencia de las condiciones del proceso de secado sobre los parámetros de calidad de fideos libres de gluten (LG), estableciendo un proceso que permita conseguir fideos LG secos, no quebradizos, y de buena calidad una vez cocidos. Se preparó pasta LG, tipo espagueti, utilizando una formulación optimizada en trabajos previos, que contenía 51.37 % de almidón y harina de maíz, 6.6 % de proteínas de huevo en polvo, 2.5 % de mezcla de xántica/garrofín, 35.96 % de agua, 2.51 % de aceite y 1.06 % de NaCl. Se ensayaron cuatro condiciones diferentes de secado, combinando dos temperaturas (30 y 50 °C) y dos humedades relativas del aire (40 y 80 % HR), manteniendo la velocidad de aire constante (1.5 m/s). Los fideos se secaron hasta una humedad final de 0.13 g de agua/g b.s ( $a_w=0.65$ ). Se estudiaron las características de su superficie, la fragilidad de los fideos LG secos, y la calidad del producto cocido según normas de la American Association for Cereal Chemists. En general, ambas variables operativas influyeron sobre las propiedades de cocción, así, el menor esfuerzo de fractura y la menor cantidad de grietas observadas por microscopía en la superficie correspondieron a la condición de 30 °C y 80 % HR. Se observó un aumento significativo de la dureza a mayor temperatura de secado, mientras que la adhesividad tuvo un incremento marcado a 50 °C y 40 % HR. La mayor cohesividad y menor elasticidad correspondieron a las pastas secadas a 50 °C y 80 % HR. El aumento de la tempera-

---

CONTACTO: Virginia Judit Larrosa [larrosa\\_v@hotmail.com](mailto:larrosa_v@hotmail.com)

1. CIDCA, CONICET, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, 47 y 116, La Plata (1900), Argentina.

2. Facultad de Bromatología, UNER.

3. Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de La Plata.



tura solamente provocó un aumento de la masticabilidad y de la resiliencia cuando la HR del aire fue alta. En todos los casos la materia orgánica desprendida durante la cocción estuvo dentro de los rangos esperados para fideos de trigo de buena calidad. El proceso de secado contribuyó a la firmeza de los fideos LG secos cocidos. Las pastas LG cocidas presentaron valores similares en elasticidad, cohesividad y fuerza de corte que los fideos de trigo tradicionales, y además una adhesividad significativamente inferior.

## **2. INTRODUCCIÓN**

El secado de la pasta generalmente se realiza colocando el material a una exposición continua de aire húmedo, proporcionado por ventiladores. El tiempo de secado no es estándar, puesto que depende de la temperatura, humedad relativa, velocidad del aire, etc. Durante el proceso la pasta desprende su humedad con dificultad y lentitud a causa de fenómenos adsorptivos y osmóticos. Por ello el proceso requiere un régimen específico que facilite el transporte de la humedad desde el interior hasta el exterior a través de los capilares y garantice un producto de buena calidad (Tscheuschner, 2001). El secado de pastas alimenticias comienza con un producto con una humedad de 31 % b.s. final hasta aproximadamente un 13 % b.s. y una mayor consistencia estructural. Actualmente, el secado de la pasta en fábricas se realiza mediante el uso de aire caliente humedecido con temperaturas que oscilan entre los 40 y 105 °C y humedades relativas que varían entre el 40 % y el 95 %. (De Temmerman y col., 2007). Por último, un proceso de secado de pastas debe asegurar un producto final no quebradizo, y con excelentes atributos de calidad una vez cocidas, en especial en las pastas aptas para celíacos, libres de gluten (LG) que tienden a ser más frágiles por la falta de gluten. Dado la escasa información publicada sobre el proceso de secado de pastas aptas para celíacos (LG), el objetivo de este trabajo fue analizar la influencia de las condiciones del proceso de secado sobre los parámetros de calidad de fideos LG, estableciendo un proceso que permita conseguir fideos LG secos, no quebradizos y de buena calidad una vez cocidos.

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **PREPARACIÓN DE MASA LIBRE DE GLUTEN**

Se preparó pasta LG, tipo cinta, utilizando una formulación previamente optimizada, que contenía 51.37 % de almidón y harina de maíz, 6.6 % de proteínas de huevo en polvo (mezclas de huevo y clara secos, relación de 10:1), 2.5 % de mezcla de xántica/garrofín (relación 2:1), 35.96 % de agua, 2.51 % de aceite y 1.06 % de NaCl. El porcentaje de concentraciones de la formulación se expresan en gramos/100 g total (Larrosa y col, 2013a).

La preparación de la masa siguió el protocolo de Larrosa y col., (2013b). Una vez obtenida la masa fue laminada hasta 2 mm de espesor. Finalmente se obtuvieron fideos LG frescos tipo cintas (20cm × 8mm × 2mm), las cuales fueron secadas en las diferentes condiciones que se describen a continuación.

#### **SECADO DE LAS PASTAS LIBRE DE GLUTEN**

Se colocaron 500 g de fideos LG frescos tipo cintas (20cm × 8mm × 2mm) en un sistema de varillas colocado en un soporte, que a su vez estaba colgado de una balanza electrónica. Se registró el peso de la muestra cada 10 minutos, durante todo el proceso de secado, hasta pesada constante. Se ensayaron cuatro condiciones diferentes de secado, combinando dos temperaturas (30 y 50 °C) y dos humedades relativas del aire (40 y 80 % HR), manteniendo la velocidad de aire constante (1.5 m/s). El contenido de humedad de la pasta antes de comenzar y una vez finalizado el proceso de secado se determinó según el método AOAC 926.07 B (2000). El proceso de secado de la pasta LG se llevó a cabo en un equipo de secado, con circulación forzada de aire, control de humedad y de temperatura.

#### **SUPERFICIE DE LA PASTA SECA LG**

La superficie de los fideos LG secos se analizó mediante la observación del producto bajo una lupa estereoscópica (Carl Zeiss, Alemania) acoplada con una cámara (M35-475052-9901, Alemania) utilizando un aumento de 2x.

#### **FRACTURABILIDAD DE LA PASTA LG SECA**

Se utilizó la sonda de tres puntos HDP/3PB, colocando un fideo LG secos (150 mm de longitud y 2 mm de ancho) sobre el puente de flexión, con una abertura de

5 cm y se ejerció una fuerza en el centro a una velocidad de 0.05 mm/s hasta fractura, empleando un texturómetro TA-XT2i (Stable Micro System, Surrey, UK). Se midió la fuerza de fractura como el pico máximo y la distancia a la que fracturó el espécimen. El ensayo se realizó por sextuplicado para cada muestra.

A partir de las curvas obtenidas se determinó el esfuerzo de fractura ( $\sigma_{fract}$ ) y la deformación aparente ( $\epsilon$ ) mediante las ecuaciones:

$$\sigma_{fract} = \frac{3FL}{2bh^2} \qquad \epsilon = \frac{6hd}{L^2}$$

Donde: L= distancia entre los dos apoyos del instrumento, b= Ancho de la muestra, h= Altura de la muestra, F= Fuerza máxima, d= desplazamiento de la sonda hasta la fractura de la muestra.

#### **PROPIEDADES DE COCCIÓN Y TEXTURA DE LA PASTA LG SECA COCIDA**

*Tiempo óptimo de cocción:* determinado de acuerdo al método 66-50 (AACC, 2000), que corresponde a la desaparición del núcleo opaco de la pasta cuando se comprime entre dos placas de vidrio.

*Pérdidas por cocción (CL, cooking loss):* se define como la cantidad de sólidos perdidos en el agua de cocción y se la determinó según el método 66-50 (AACC, 2000). El ensayo se realizó por triplicado.

*Aumento de peso / absorción de agua:* fue determinado como el aumento de peso antes y después del proceso de cocción (Bonomi y col., 2012). El ensayo se realizó por sextuplicado.

*Aumento de volumen:* se midió el largo, ancho y espesor de las pastas, antes y después de la cocción mediante el uso de un calibre digital electrónico (modelo SC111201, Schwyz S.A), calculando el aumento porcentual de volumen en cada caso.

*Determinación de materia orgánica total (TOM):* se utilizó una modificación del método de D'Egidio y col. (1982), utilizando el kit de Hatch PK/25 (rango 0 a 15000 mg/l) para la determinación espectrofotométrica de la materia orgánica total. El ensayo se realizó por triplicado.

*Metodología para los ensayos de textura:* Los fideos LG fueron cocidos en agua sin sal, se utilizó agua-hielo para detener la cocción. Antes de los ensayos correspondientes se dejaron reposar a temperatura ambiente durante 5 min. Los resultados se presentan como el promedio de diez replicados.

*Ensayo de corte:* se empleó la sonda Light Knife Blade A/LKB donde cinco tiras de fideos LG fueron sometidas a un esfuerzo cortante. La velocidad de la sonda fue de 0.5 mm/s, hasta alcanzar una compresión del 100 %. Se determinó la fuerza máxima (N) que simula la acción de los dientes incisivos al morder la pasta.

*Análisis de perfil de textura (TPA):* utilizando una sonda cilíndrica P/25, Stable Micro Systems (25 mm de diámetro). La velocidad de la prueba se estableció en 0.5 mm / s, y la distancia de compresión fue de 30 % del tamaño original (Olivera y Salvadori, 2009). A partir de las curvas fuerza-tiempo se estimaron los parámetros de textura: dureza, cohesividad, adhesividad, elasticidad, masticabilidad, y resiliencia (Szczesniak, 2002).

*Muestra control (MC):* se utilizó pasta seca de trigo tipo cinta, al huevo, de una primera marca comercial.

*Análisis sensorial:* se evaluaron los fideos LG secados a 50 °C-40%HR y fideos secos LG comercial mediante un panel de 40 personas no entrenadas. Se evaluaron los atributos de color, olor, sabor y apariencia general empleando una prueba de preferencia basada en una escala hedónica, descriptiva mixta, bipolar de nueve puntos. Los resultados fueron analizados a través de la prueba estadística del test de Student (Lawless y Heymann, 2010).

*Análisis estadísticos:* Para los ensayos de comparación de medias se empleó el test de Tukey, considerando como diferencias significativas cuando  $P < 0.05$ , utilizando el software SYSTAT (SYSTAT, Inc., Evanston, IL).

#### **4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

El tiempo experimental de secado necesario para que la disminución de la humedad de los fideos desde su contenido inicial de 0.65 g de agua/g b.s. hasta el valor deseado de 0.13 g de agua/g b.s. varió entre los 140 y 560 min, siendo el proceso más largo el correspondiente a la condición de 30 °C-80 % HR. La superficie de los fideos secos LG reveló diferencias atribuibles a las condiciones de secado. Se evidenciaron grietas superficiales, y la superficie más lisa correspondió a la condición menos energética (30 °C-80 % HR).

El menor esfuerzo de fractura correspondió a los fideos LG secados a 30 °C-80 % HR, mientras que en las demás condiciones no se observaron diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) (Figura 1a). Con respecto a la muestra control ( $\sigma_{\text{fract}} = 20.0 \pm 0.9$

MPa), los fideos LG presentaron valores significativamente inferiores ( $P < 0.05$ ). La deformación aparente fue mayor cuando los fideos fueron secados en las condiciones de 30 °C y 80 % HR (Figura 1b), mientras que los secados a 30 °C-40 % HR y 50 °C-80 % HR correspondieron a los valores menores y no difirieron significativamente ( $P > 0.05$ ). La prueba de fractura permitió evaluar la resistencia de la pasta seca a fracturarse, siendo útil para predecir posibles roturas en el transporte y almacenamiento.

Las características de las materias primas y tecnologías de secado de pasta son de gran importancia para determinar la calidad de cocción de espaguetis. Los resultados de los ensayos de las propiedades de cocción de la pasta LG seca cocidas mostrados en la Tabla 1, revelan que el aumento de volumen de los fideos LG frescos no difiere significativamente ( $P > 0.05$ ) de los secados a 30 °C. A su vez los fideos LG que presentaron mayor aumento de volumen fueron los que se secaron en condiciones 50 °C-40 % HR. En cuanto a la absorción de agua durante la cocción, las cuatro condiciones estudiadas no presentaron diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) entre sí, pero se observó un aumento significativo con respecto a la muestra sin secar, lo que indicaría la presencia de una estructura porosa que facilita el ingreso de agua. La pérdida por cocción se define como la cantidad de sustancia sólida perdida al agua de cocción y una buena pasta seca pierde entre 7 % a 8 % (Dick y Youngs, 1988). En el presente trabajo, los fideos LG secos presentaron pérdidas en un rango de 6.9 % y 9.6 %; donde sólo la condición de 30 °C-80 % HR dio valores superiores a lo deseable. La materia orgánica total (TOM) perdida por la pasta LG, corresponde al contenido de sólidos adheridos a la superficie de la pasta cocida que está correlacionado a la adhesividad de los productos cocidos entre sí. La misma fue inferior a 1.52, lo que indicaría que se obtuvo una pasta de buena calidad con cualquiera de las condiciones de secado. Sin embargo, cabe aclarar que todas las condiciones de secado estudiadas tuvieron valores significativamente superiores a los fideos frescos (Tabla 1).

En la Tabla 2 se muestran los resultados obtenidos para los parámetros de textura. La mayor fuerza de corte correspondió a los productos expuestos a 80 %HR, independientemente de la temperatura; y en todos los casos las pastas secas evidenciaron mayor esfuerzo de corte que las muestras frescas.

Se encontró un incremento de la dureza con el aumento de la temperatura de secado, mientras que a bajas temperaturas el aumento de humedad relativa del aire produjo una disminución de la dureza. Los fideos que presentaron mayor adhesivi-

dad fueron los secados a 50 °C-40 % HR; las otras tres condiciones no presentaron diferencias significativas ( $P>0.05$ ) entre sí. La mayor cohesividad correspondió a las muestras secadas a 50 °C-80 % HR, mientras que las obtenidas a 50 °C-40 % HR y 30 °C-80 % HR no difirieron significativamente ( $P>0.05$ ). El parámetro de elasticidad representa la capacidad de la pasta deformada para recuperar la forma inicial cuando se retira la fuerza deformante; los fideos LG secados a 50 °C-80 % HR fueron lo que presentaron menor recuperación. La masticabilidad no se vio influenciada por la temperatura a baja humedad relativa ( $P>0.05$ ), en cambio, se observaron diferencias significativas ( $P<0.05$ ) a altas humedades donde el aumento de temperatura provocó un aumento significativo ( $P<0.05$ ) del parámetro. En cuanto a la resiliencia, se observó que a 30 °C, el contenido de humedad del aire de secado no influyó significativamente ( $P>0.05$ ), mientras que a 50 °C el incremento de la HR del aire provocó un aumento de la resiliencia.

En la Figura 2 se presentan los valores de los parámetros de calidad de los fideos LG secos en comparación con los promedios de una muestra comercial de fideos secos de harina de trigo, usando los valores de esta última como factores de adimensionalización. El esfuerzo de fractura de los fideos LG presentó valores inferiores a la muestra comercial independientemente de las condiciones de secado. En cuanto a las propiedades de cocción de los fideos LG secos (CL y TOM) fueron superiores a los valores reportados para la muestra control de trigo. La fuerza de corte de los fideos LG secados a 50 °C-40 % HR no presentó diferencias significativas ( $P>0.05$ ) a la muestra control de trigo mientras que las demás condiciones de secado mostraron valores superiores. Con respecto a la dureza, los fideos LG secados a 50 °C tuvieron un mayor valor, mientras que los fideos LG secados a 30 °C presentaron valores inferiores al control, independientemente de la humedad del proceso. Los fideos LG presentaron valores inferiores de adhesividad y masticabilidad respecto al control. La condición de secado 50 °C y 89 % HR fue la única que generó pastas cuyos valores de elasticidad y resiliencia, significativamente diferentes del control ( $P<0.05$ ). En cuanto al parámetro de cohesividad, la muestra control no presentó diferencias significativas ( $P>0.05$ ) con la muestras secadas a 50 °C-40 % HR y a 30 °C-80 % HR.

El análisis sensorial mostró que los panelistas no encontraron diferencias significativas ( $P>0.05$ ) en ninguno de los parámetros sensoriales estudiados (apariencia, textura, sabor, color, aceptabilidad global) entre fideos LG y fideos LG comerciales. En conclusión, las temperaturas y humedades de secado empleadas produjeron fi-

deos LG que luego de la cocción presentaron características de calidad similares a un buen fideo de trigo comercial.

## **5. CONCLUSIONES**

Las propiedades de resistencia a la rotura de las pastas LG estuvieron influidas por las condiciones de temperatura y humedad relativa del aire de secado. Las pastas LG secadas utilizando 50 °C-40 % HR o 30 °C-80 % HR, presentaron valores semejantes en elasticidad, cohesividad y fuerza de corte a la muestra control de trigo. Los valores obtenidos de las pérdidas por cocción y materia orgánica total para todas las condiciones de secado, fueron mayores que para las muestras control aunque se encontraron dentro los rangos de una pasta de buena calidad. Las pastas secadas utilizando 50 °C-40 % HR fueron las que presentaron en promedio características mas similares a las de la muestra control de trigo teniendo además una menor adhesividad.

## **AGRADECIMIENTOS**

Los autores agradecen el financiamiento del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCYT) y la Universidad Nacional de La Plata (UNLP). Los autores agradecen también la colaboración de Ovobrand s.a., Brandsen, Argentina.

## **6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- AACC (American Association of Cereal Chemists). Approved Methods of the AACC, Tenth ed. St Paul, MN, USA. 2000.
- AOAC (Asociación de Official Analytical Chemists). Official Methods of Analysis. 13a. Ed. Washington, 2000.
- BONOMI, F, D'Egidio, MG, Iametti, S, Marengo, M, Marti, A, Pagani, MA, Ragg, EM. Structure–quality relationship in commercial pasta: A molecular glimpse. *Food Chemistry*. 2012; 135: 348-355.
- D'EGIDIO MG, De Stefanis E, Fortini, S, Galterio G, Nardi S, Sgrulletta D, Bozzini A. Standardization of cooking quality analysis in macaroni and pasta products. *Cereal Foods World*. 1982; 27: 367-8.

- DE TEMMERMAN J, Verboven P, Nicolaï B, Ramon H. Modelling of transient moisture concentration of semolina pasta during air drying. *Journal of Food Engineering*. 2007; 80: 892–903.
- DICK JW, Youngs VL. Evaluation of durum wheat, semolina and pasta in the United States. En G. Fabriani and C Lintas (Eds.), *Durum wheat: Chemistry and technology*, 237–248. St. Paul, MN, USA: American Association of Cereal Chemist. 1988.
- LARROSA V, Lorenzo G, Zaritzky N, Califano A. Influence of cooking time on the quality attributes and rheology of gluten free pasta. *Book of Abstracts of “3rd International Symposium on Gluten-Free cereal Products and Beverages”*. Vienna, Austria. 2013a.
- LARROSA V, Lorenzo G, Zaritzky N, Califano A. Optimization of rheological properties of gluten-free pasta dough using mixture design. *Journal of Cereal Science*, 2013b; 57:520-6.
- LAWLESS HT, Heymann H. *Sensory evaluation of Food*. Chapman and Hall, England. 2010.
- SZCZESNIAK AS. Texture is a sensory property. *Food Quality and Preference*, 2002; 13:215–225.
- OLIVERA DF, Salvadori VO. Effect of freezing rate in textural and rheological characteristics of frozen cooked organic pasta. *Journal of Food Engineering*, 2006; 90(2):271-6.
- TSCHEUSCHNER HD. *Fundamentos de tecnología de los alimentos*. Ed. Acriba SA, España. 2001.

## 7. TABLAS Y FIGURAS

**TABLA 1.** Tiempos de cocción y propiedades de cocción para fideos secados en diferentes condiciones\*

|                 | TIEMPO DE COCCIÓN (MIN.) | AUMENTO DE VOLUMEN (%)    | ABSORCIÓN DE AGUA (%)     | PÉRDIDA POR COCCIÓN (%) | TOM (%)                  |
|-----------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|-------------------------|--------------------------|
| PASTA SIN SECAR | 10                       | 92.4 ± 3.0 <sup>ab</sup>  | 82.4 ± 7.2 <sup>a</sup>   | 5.0 ± 1.3 <sup>ab</sup> | 0.19 ± 0.05 <sup>a</sup> |
| 30 °C - 40 %HR  | 13                       | 76.0 ± 4.4 <sup>b</sup>   | 121.9 ± 4.6 <sup>b</sup>  | 6.9 ± 0.2 <sup>b</sup>  | 1.52 ± 0.28 <sup>c</sup> |
| 30 °C - 80 %HR  | 12                       | 45.5 ± 14.4 <sup>a</sup>  | 112.3 ± 7.0 <sup>b</sup>  | 9.6 ± 0.1 <sup>d</sup>  | 0.89 ± 0.16 <sup>b</sup> |
| 50 °C - 40 %HR  | 13                       | 114.6 ± 13.4 <sup>c</sup> | 120.1 ± 15.9 <sup>b</sup> | 8.2 ± 0.5 <sup>c</sup>  | 0.69 ± 0.12 <sup>b</sup> |
| 50 °C - 80 %HR  | 13                       | 61.9 ± 19.4 <sup>ab</sup> | 121.9 ± 6.5 <sup>b</sup>  | 8.2 ± 0.1 <sup>c</sup>  | 1.33 ± 0.22 <sup>c</sup> |

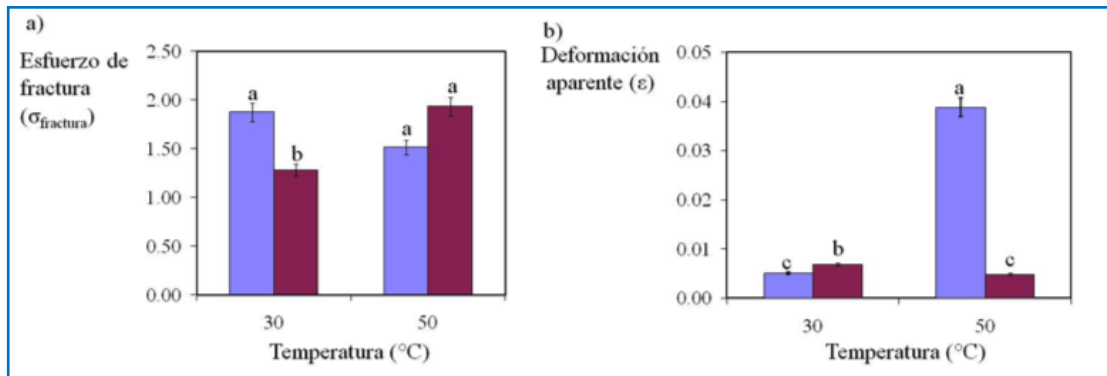
\*Letras diferentes en una misma columna indican diferencias significativas (P<0.05)



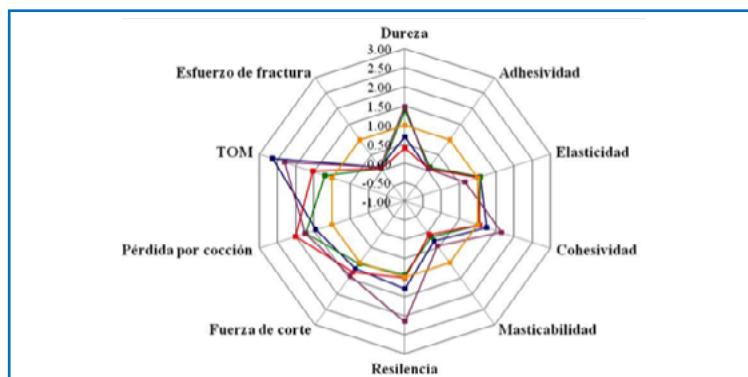
**TABLA 2.** Parámetros de textura para los fideos LG cocidos secados en diferentes condiciones

| CONDICIÓN   | F. DE CORTE (N)        | DUREZA (N)            | ADHESIVIDAD            | ELASTICIDAD            | COHESIVIDAD            | MASTICABILIDAD       | RESILENCIA             |
|-------------|------------------------|-----------------------|------------------------|------------------------|------------------------|----------------------|------------------------|
| 30°C-40 %HR | 14.2±1.8 <sup>a</sup>  | 4.7±1.5 <sup>b</sup>  | 0.07±0.07 <sup>b</sup> | 0.99±0.03 <sup>a</sup> | 0.81±0.03 <sup>b</sup> | 4.4±2.8 <sup>b</sup> | 0.68±0.06 <sup>b</sup> |
| 30°C-80 %HR | 15.6±1.4 <sup>ab</sup> | 2.7±0.6 <sup>c</sup>  | 0.09±0.05 <sup>b</sup> | 0.93±0.04 <sup>a</sup> | 0.69±0.02 <sup>c</sup> | 1.3±0.7 <sup>c</sup> | 0.53±0.07 <sup>b</sup> |
| 50°C-40 %HR | 12.3±1.3               | 9.5±4.2 <sup>a</sup>  | 0.18±0.06 <sup>a</sup> | 0.99±0.01 <sup>a</sup> | 0.67±0.02 <sup>c</sup> | 4.7±2.8 <sup>b</sup> | 0.49±0.04 <sup>b</sup> |
| 50°C-80 %HR | 17.0±1.5 <sup>b</sup>  | 10.2±3.6 <sup>a</sup> | 0.09±0.07 <sup>b</sup> | 0.60±0.19 <sup>b</sup> | 1.07±0.16 <sup>a</sup> | 6.8±3.0 <sup>a</sup> | 1.13±0.50 <sup>a</sup> |

\*Letras diferentes indican diferencias significativas (P<0.05)



**FIGURA 1.** a) Esfuerzo de fractura y b) Deformación aparente en función de las condiciones de secado. ■80 %HR ■ 40 %HR. Letras diferentes indican diferencias significativas (P<0.05)



**FIGURA 2.** Parámetros de calidad de textura de las fideos LG comparadas con una muestra comercial de fideos de trigo (—■—30 °C - 40 % HR; —■— 50 °C - 40 % HR; —■— 30 °C - 80 % HR; —■— 50 °C - 80 % HR; —■— Muestra control comercial, de harina de trigo)

# OPTIMIZACIÓN DEL SECADO DE HOJUELAS DE YACÓN UTILIZANDO SUPERFICIE DE RESPUESTA Y ALGORITMOS GENÉTICOS

Víctor Vásquez-Villalobos<sup>1</sup>, Julio Rojas-Naccha<sup>1</sup>, Julia Vásquez-Angulo<sup>1</sup>,  
Fanny Casimiro-Montoya<sup>1</sup>, Orlando Hernández-Bracamonte<sup>2</sup>

## 1. RESUMEN

El objetivo de la investigación fue comparar la optimización del secado por aire convectivo de hojuelas yacón (*Samallanthus sonchifolius*) utilizando Metodología de Superficie de Respuesta (MSR) y Algoritmos Genéticos (AG). Las variables a optimizar fueron la aceptabilidad general ( $Y_1$ ) y el tiempo de secado ( $Y_2$ ), ambas en función de la temperatura de secado ( $X_1$ ) y del espesor de lámina de yacón ( $X_2$ ). En el proceso de optimización se maximizó la función de aceptabilidad general ( $Y_1$ ) y se minimizó la función de tiempo de secado ( $Y_2$ ). Ambas funciones en  $f(X_1, X_2)$  presentaron valores de  $R^2$  ajustados mayores a 0.889 y correspondientes a ecuaciones cuadráticas de Superficie de Respuesta obtenidas del desarrollo de un Diseño Central Compuesto Rotable (DCCR) para un dominio de  $X_1$ : 50 a 80 °C y  $X_2$ : 1 a 7mm. Se desarrolló una matriz Hessiana, obteniéndose los valores máximos y mínimos de las funciones encontradas por MSR, las que fueron comparadas con los máximos y mínimos obtenidas con AG para las mismas funciones. Los parámetros aplicados en los AG para aceptabilidad sensorial y tiempo de secado fueron: 50 cromosomas, 33 genes (genes  $X_1=18$ , genes  $X_2=15$ ), probabilidad de cruce (*crossover*) = 0.25, probabilidad de mutación = 0.01. Para la aceptabilidad sensorial se realizaron 100 iteraciones y la para el tiempo de secado 1500 iteraciones. El valor máximo de la función de aceptabilidad general obtenidos por el desarrollo de la matriz Hessiana a partir del modelo de Superficie de Respuesta y por AG, fue similar

---

CONTACTO: Víctor Vásquez-Villalobos [vvasquez@unitru.edu.pe](mailto:vvasquez@unitru.edu.pe)

1. Instituto Regional de Investigación Agraria, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo, Perú.

2. Departamento de Matemáticas, Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas, Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo, Perú.

con un valor de 6.33; en una escala máxima de 7 puntos calificado como “me gusta muchísimo”. Los valores mínimos de la función de tiempo de secado obtenidos por el desarrollo de la matriz Hessiana y AG fueron 0.79 h y 0.80 h respectivamente. Las temperaturas de secado y espesores de lámina que corresponden a la máxima aceptabilidad sensorial fueron 73.62 °C, 2.22 mm y 72.99 °C, 2.24 mm para el modelo obtenido por MSR y AG respectivamente. Así como las temperaturas de secado y espesores de lámina que corresponden al mínimo tiempo de secado fueron 80 °C, 1.00 mm y 79.91 °C, 1.01mm para el modelo obtenido por MSR y AG respectivamente, los cuales son similares entre sí.

## 2. INTRODUCCIÓN

El yacón (*Smallanthus sonchifolius*) es una planta de interés por sus propiedades benéficas. Oriunda de la región Andina es consumida mayormente como “fruta”. Según Yan y Ma (2009) y Yang *et al.* (2009), contiene ácidos fenólicos, flavonoides, ésteres, aceite volátil, polisacáridos, aminoácidos esenciales y es rico en minerales. Su proporción de materia seca es de 10 a 14 %, rica en carbohidratos, principalmente oligofruktanos o fructooligosacáridos (FOS); los cuales representan entre el 45 al 65 % del total de los frutos secos (Graefe *et al.*, 2004) a los que se les confiere propiedades edulcorantes y funcionales (Yun y Song, 1993). Passos y Park (2003) han referido que los FOS promueven beneficios a la salud humana, como la reducción del colesterol sérico, en la prevención de algunos tipos de cáncer, como anticaries, acción contra la diabetes, ya que sus azúcares no se metabolizan en el intestino (Lachman *et al.*, 2003). Debido a que es una planta estacional, se recomienda su conservación (Figueira *et al.*, 2004) siendo la deshidratación una herramienta adecuada (Hatamipour *et al.*, 2007). Graefe *et al.* (2004) estudiaron la variación de FOS de yacón en estado de poscosecha deshidratado al sol durante 6 días, observando un aumento de la dulzura debido a la polimerización del azúcar. Por esta razón la conservación y estabilización de los FOS, a través la deshidratación debe ser rápida e inmediatamente después de la cosecha. Fener *et al.* (2009) estudiaron el comportamiento del secado de tubérculos de yacón con y sin vapor de blanqueado, utilizando aire forzado, observando hidrólisis de los FOS a 70 °C, con un incremento de la reducción de sus azúcares y reducción de los azúcares no reductores. Aspecto que denota la importancia de la temperatura de secado en el contenido de los FOS

y en el contenido de agua final. Investigaciones de procesos complejos, conllevan al empleo de métodos estadísticos como la Metodología de Superficie de Respuesta (MSR) desarrollada por Box y Wilson (1951), la que es ampliamente utilizada en Ciencia e Ingeniería para investigar la relación entre las respuestas y los factores de un proceso; proporcionando un marco para el diseño de un experimento, construcción de modelos empíricos y optimización. Bas y Boyaci (2007) sostienen que el modelo MSR es capaz de interpretar eficazmente los efectos interactivos de los factores en la respuesta, pero es limitante al ajustar los datos a una ecuación polinomial de segundo orden, lo cual es una desventaja cuando se presentan datos complejos. Yufen y Chao-Yen (2014) manifiestan que durante el proceso experimental, observaciones que son sospechosas (puntos atípicos y/o de influencia) pueden causar problemas, influyendo en la precisión de la Superficie de Respuesta (SR). Por lo que de acuerdo a Hampel (1974) la comprensión de los fenómenos de la perturbación puede proporcionar una herramienta útil para investigar la influencia de observaciones anormales; justificándose el uso de otras herramientas de optimización. La necesidad de optimizar una función es un problema que se presenta en las más diversas áreas del conocimiento humano, ya que es lógico esperar que al diseñar un equipo o sistema se desee que este funcione de la mejor forma posible (Cabezas, 2002). Los Algoritmos Genéticos (AG) son una alternativa para afrontar el problema de búsqueda de los valores extremos de una función. El hombre ha observado a través del tiempo que todas las especies vivientes se han adaptado a su entorno para poder sobrevivir, este proceso de adaptación fue posible gracias a los cambios genéticos y la selección natural. Por tanto, no resulta absurdo pensar en simular estos mecanismos y utilizarlos para resolver el problema de la optimización de sistemas de otro tipo (Cabezas, 2002). Según Goldberg (1989) los AG son un formalismo de optimización no lineal estocástica basada en Inteligencia Artificial, que generalmente se utiliza para optimizar funciones complejas. En este sentido las ecuaciones de regresión se pueden emplear como una función de la aptitud del AG y optimizarlas de acuerdo con las restricciones. Existen reportes de investigaciones de la aplicación de los AG en la optimización de ecuaciones de regresión, entre estos se tiene a los de Jaya-Shankar y Bandyopadhyay (2004), Singh *et al.* (2009). La principal ventaja de los AG, radica en que son capaces de evadir los extremos locales de las funciones, pero tienen en contra la cantidad de operaciones que hay que realizar. Los AG trabajan sobre parámetros codificados de la variable que se quie-

re optimizar y que son generados aleatoriamente. Busca la solución mediante una aproximación de una población de puntos. Utiliza reglas probabilísticas de búsqueda en lugar de reglas determinísticas. Este procedimiento solo utiliza la función y no es necesaria la derivada de esta o alguna otra función auxiliar. Tiene tres operadores básicos que son: selección, cruce (*crossover*) y mutación (Cabezas, 2002). Inicialmente, se forma una población de individuos al azar, la cual es evaluada mediante una función de la aptitud (*fitness*); aplicándose operaciones genéticas como mutación y cruce que son aplicados a individuos seleccionados según su aptitud para producir la próxima generación de individuos. Este proceso continúa hasta que se encuentre una solución óptima (Wang y Wan, 2009). En este contexto los AG imitan el principio de Charles Darwin de “supervivencia del más apto” para resolver problemas de optimización (Goldberg, 1989) y han ganado popularidad debido a que puede solucionar eficientemente funciones discontinuas o no-diferenciables (Singh *et al.*, 2009; Fang *et al.*, 2009). En la presente investigación se comparó la optimización del secado de hojuelas de yacón representado por MSR, determinándose los valores extremos de la función de SR con el Método Clásico de Cálculo Diferencial (MCCD) y AG. Para lo cual se evaluó la influencia del espesor de las láminas de yacón y temperatura de un secador convectivo en la aceptabilidad general y tiempo de secado.

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **MATERIALES Y EQUIPOS**

Se utilizó yacón variedad amarilla, procedente del distrito de Usquil, Provincia de Otuzco, Región La Libertad, Perú; secador de túnel de laboratorio con velocidad del aire de 2m/s con 68 % de humedad relativa. Software STATISTICA 5.0 Y WOLFRAM MATHEMATICA 9.0.

#### **METODOLOGÍA**

Al yacón se le determinó los sólidos solubles, humedad y pH (AOAC, 2012). Después de un lavado, desinfección con hipoclorito de sodio (40 ppm) se enjuagó, peló y cortó en láminas cuadradas de 1.7×1.7cm y 1 a 7mm de espesor, sumergiéndose en una solución de ácido ascórbico al 1 % (p/p) por 5 minutos para evitar su pardeamiento. La deshidratación se realizó por secado convectivo a temperaturas entre 50 y 80 °C hasta obtener hojuelas con humedad de 12 %, evaluándose su aceptabilidad ge-

neral y el tiempo de secado. La aceptabilidad se evaluó mediante una prueba de satisfacción sensorial empleando un panel de 30 jueces no entrenados de ambos sexos con edades entre 20 y 30 años. Se asignó un valor de 7 al criterio me “gusta muchísimo” y 1 para “me desagradó muchísimo”. Se utilizó un Diseño Compuesto Central Rotable (DCCR) para el desarrollo experimental (Tabla 1) (Rodríguez y Lemma, 2005), obteniéndose los coeficientes de regresión de los modelos estadísticos de acuerdo a:  $Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{12} X_1 X_2$ , donde:  $\beta_0$  es el coeficiente constante;  $\beta_1$ ,  $\beta_2$ , representan los coeficientes lineales;  $\beta_{11}$ ,  $\beta_{22}$ , son los coeficientes cuadráticos y  $\beta_{12}$  el coeficiente de interacción. Se determinó el coeficiente  $R^2$  y un análisis de varianza con error puro, para estimar la significancia de los modelos.

#### **OPTIMIZACIÓN UTILIZANDO LA METODOLOGÍA DE SUPERFICIE DE RESPUESTA (MSR)**

Se definió la función de aceptabilidad general  $f$  de  $[50,80] \times [1,7]$  en  $R$ , encontrándose el valor máximo de la aceptabilidad  $f(X_1, X_2) = Y_1$ , utilizándose el MCCD para determinar el valor máximo de la función  $f$ . Para minimizar la función de tiempo de secado se aplicó una metodología similar.

#### **OPTIMIZACIÓN UTILIZANDO ALGORITMOS GENÉTICOS (AG)**

Se generaron poblaciones (cromosomas) a partir de una población inicial construida aleatoriamente (Singh *et al.*, 2008), dichas poblaciones “evolucionaron” en cada generación (iteración) para adquirir un mejor valor de aptitud en comparación con sus predecesores (Lim *et al.*, 2000). Los valores de la aptitud de la progenie generados en cada iteración se evaluaron mediante la función de la aptitud (ecuaciones de regresión estadística en cada caso) (Singh *et al.*, 2008). Para reproducir las nuevas generaciones, se utilizaron tres operadores genéticos: selección, cruce (*crossover*) y mutación; los cuales se llevaron a cabo hasta lograr una solución óptima.

### **4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

El yacón tuvo un promedio de 16.7 °Brix, similar al reportado por Maldonado y Singh (2008) de  $16.95 \pm 3.86$ . En cuanto a su humedad inicial y pH, presentó valores promedios de 89.05 % y 5.7 respectivamente, indicando buenas condiciones para su procesamiento. La humedad final promedio de las hojuelas de yacón fue de

12±1.04 %. En la Tabla 1 se presentan los valores de las variables dependientes  $Y_1$  e  $Y_2$ . Notándose una mayor aceptabilidad y un menor tiempo de secado de las hojuelas de yacón en un rango de temperatura de 65 y 76 °C y a espesores entre 1.0 y 1.9 mm. Van-Arsdel y Coley (1979) han señalado que los factores externos que influyen en el proceso de secado son el tamaño y forma del material, y que diferencias en el grosor del alimento influyen significativamente en el tiempo de secado. Evaluación del tiempo de secado y espesor de trozos de arracacha (*Arracacia xanthorrhiza*) en el porcentaje de humedad de *snacks*, a una temperatura de 50 °C con espesores de 1 a 1.5 mm, se realizaron entre 2 a 3 h con un porcentaje de humedad de 8 a 12 % (Soberón, 2009). El análisis de la significancia de los coeficientes de regresión de los modelos de aceptabilidad general y tiempo de secado de las hojuelas de yacón, mostraron valores de  $p < 0.05$ , con valores de  $R^2 = 0.94499$  y  $R^2_{ajustado} = 0.88998$  así como  $R^2 = 0.94538$  y  $R^2_{ajustado} = 0.89075$  respectivamente. El análisis de varianza para las funciones de aceptabilidad general y tiempo de secado de las hojuelas de yacón igualmente mostraron significancia, junto a los altos grados de coeficientes de determinación, indicando que estos son adecuados para predecir la aceptabilidad ( $R^2 = 0.99970$ ) y el tiempo de secado ( $R^2 = 0.99959$ ) de acuerdo a:

$$Y_1 = f(X_1, X_2) = -17.2477 + 0.6083X_1 - 0.0041X_1^2 + 1.0619X_2 - 0.2024X_2^2 - 0.0022X_1X_2 \quad (1)$$

$$Y_2 = f(X_1, X_2) = -0.789283 + 0.090886X_1 - 0.000966X_1^2 + 1.037089X_2 - 0.034408X_2^2 - 0.006310X_1X_2 \quad (2)$$

Los niveles óptimos calculados para la función de aceptabilidad general máxima y tiempo de secado mínimo fueron calculados por el MCCD de segundas derivadas, desarrollo y análisis del Hessiano, para encontrar el punto crítico máximo y el valor mínimo en la frontera del dominio (Tabla 2). El valor máximo de la aceptabilidad general y el mínimo del tiempo de secado determinado con AG se observan en la Tabla 3, las que fueron obtenidas con 100 y 1500 iteraciones respectivamente (Figura 1). Lapczynska-Kordon *et al.* (2013) utilizaron AG en la optimización del secado de manzanas y apio empleando secado convectivo forzado y horno de microondas convectivo. El empleo de AG permitió minimizar los cambios en las características de calidad de manzanas y apios deshidratados, en función a la velocidad de flujo de aire y la potencia del microondas. En la optimización utilizaron Selección Ranking como modelo élite, basados en la selección de “lo mejor-lo peor”.

Una representación gráfica del desarrollo de los AG para la aceptabilidad general y tiempo de secado se observan en la Figura 2. En la Tabla 3 se muestran las temperaturas de secado y espesores óptimos de las láminas de yacón que permitieron obtener la máxima aceptación sensorial y el mínimo tiempo de secado de las hojuelas, conseguidos empleando el MCCD de la función de SR y AG, observándose que los valores se aproximan entre sí, asegurando la optimización del proceso, confirmando la inexistencia de problemas que hayan desestabilizado la aplicación de la MSR (Yufen y Chao-Yen, 2014). Fener *et al.* (2009) indican que a una temperatura de 70 °C se producen hidrólisis de los FOS con una disminución de la concentración de azúcares. En un contexto de comercial, el tiempo de secado no resultaría prioritario con respecto a la aceptabilidad y, en la presente investigación bajo las mismas condiciones de secado y sin llegar al tiempo mínimo (0.796-0.808 h), se ha estimado un tiempo de secado de 1.99 a 2.0 h para lograr la máxima aceptabilidad general de las hojuelas de yacón de 6.32, secadas a 70 °C.

## 5. CONCLUSIONES

Los valores máximos de aceptabilidad general de hojuelas de yacón obtenidos por MCCD de la función de SR y por AG fueron de 6.33 en una escala con valor máximo de 7 puntos calificada como “me gusta muchísimo”. Los valores mínimos de tiempo de secado obtenidos por MCCD de la función de SR y por AG fueron de 0.79 y 0.80 horas respectivamente.

Las temperaturas de secado y espesores de lámina que corresponden a la máxima aceptabilidad general fueron 73.62 °C y 2.22 mm obtenido por MCCD de la función de SR y 72.79 °C y 2.24 mm para AG. Las temperaturas de secado y espesores de lámina que corresponden al mínimo tiempo de secado fueron 80 °C y 1.00 mm para el modelo obtenido por MCCD de la función de SR y 79.91 °C y 1.01 mm para AG.

Los parámetros aplicados con AG para aceptabilidad general y tiempo de secado de hojuelas de yacón fueron: 50 cromosomas, 33 genes (genes  $X_1 = 18$ , genes  $X_2 = 15$ ), probabilidad de cruce (*crossover*) = 0.25, probabilidad de mutación = 0.01. Para la aceptabilidad sensorial se realizaron 100 iteraciones y la para el tiempo de secado 1500 iteraciones.



## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOAC international. 2012. Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL.19th Edition.
- BAS, D.;BOYACI, I. H. 2007. Modeling and optimization I: usability of response surface methodology. *J Food Eng.* 78:836-845.
- BOX, G.E.P.; WILSON, K.B.1951.On the experimental attainment of optimum conditions (with discussion). *J. Roy. Statist. Soc. Ser. B13:* 1-45.
- CABEZAS, C. 2002. Algoritmos genéticos, una opción para la optimización de funciones. *Tecnología Química. Volumen XII. N° 2. Universidad del Oriente.* 65-69.
- FANG, F.; NI, B.;YU, H. 2009.Estimating the kinetic parameters of activated sludge storage using weighted non-linear least-squares and accelerating genetic algorithm. *Water Res.* 43:2595-2604.
- FENNER, C.; de Oliveira, A.; Zapata, C. 2009. Hot air drying of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) and its effect on sugar concentrations. *International Journal of Food Science and Technology.* 44: 2169-2175.
- FIGUEIRA, G.M.; Park, K.J.; Brod, F.P.R.; Honorio, S.L. 2004. Evaluation of desorption isotherms, drying rates and inulin concentration of chicory roots (*Cichorium intybus L.*) with and without enzymatic inactivation. *Journal of Food Engineering.* 63: 273-280.
- GOLDBERG, D.E. 1989. Genetic algorithms in search, optimization, and machine learning. Addison Wesley Pub Co Inc.
- GRAEFE, S.; Hermann, M.; Manrique, I; Golombek, S.; Buerkert, A. 2004.Effects of post-harvest treatments on the carbohydrate composition of yacon roots in the Peruvian Andes. *Field Crop Res.* 86: 157-165.
- HAMPEL, F. 1974. The influence curve and its role in estimation. *J. Amer. Statist. Assoc.* 9:383-393.
- HATAMIPOUR, M.S.; Kazemi, H.H.; Nooralivand, A.; Nozarpour, A. 2007.Drying characteristics of six varieties of sweet potatoes in different dryers. *Food and Bioproducts Processing.* 85: 171-177.
- JAYA-SHANKAR, T.; Bandyopadhyay, S. 2004. Optimization of extrusion process variables using a genetic algorithm. *Food Bioprod Process.* 82:143-150.
- LACHMAN, J.; Fernández, E.C.; Orsák, M. 2003. Yacon [*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. et Endl.) H. Robinson] chemical composition and use - a review. *Plant Soil Environ.* 49: 283-290.

- LAPCZYNSKA-KORDON, B.; Fraczek, J.; Slipek, Z.; Ivanowa, T. 2013. Genetic algorithms in optimization of dried fruits and vegetables quality. Engineering for rural development. Latvian University of Agriculture.628-632.
- LIM, M.H.; Yuan, Y.; Omatu, S. 2000. Efficient genetic algorithms using simple genes exchange local search policy for the quadratic assignment problem. Comput Optim Appl. 15:249-268.
- MALDONADO, S.; Singh, J. 2008. Efecto de gelificantes en la formulación de dulce de yacón. Ciencia y Tecnología de Alimentos. Campinas. 28(2): 429-434.
- PASSOS, L.M.L.; Park, Y.K. 2003. Frutooligosacarídeos: implicações na saúde humana e utilização em alimentos. Ciência Rural. 33: 385-390.
- RODRÍGUEZ, M.; Lemma, A. 2005. Planeamiento de Experimentos y Optimización de Procesos. Una estrategia secuencial de planeamientos. Edit. Casa do Pao. Brasil.
- SINGH, V.; Khan, M.; Khan, S.; Tripathi, C.K.M. 2009. Optimization of actinomycin V production by *Streptomyces triostinicus* using artificial neural network and genetic algorithm. Appl Microbiol Biotechnol. 82:379-385.
- SINGH, A.; Majumder, A.; Goyal, A. 2008. Artificial intelligence based optimization of exocellular glucansucrase production from *Leuconostoc dextranicum* NRRL B-1146. Bioresour Technol. 99:8201-8206.
- SOBERÓN, I. 2009. Efecto del tiempo de secado y espesor de trozos de Arracacha (*Arracacia xanthorrhiza*) en el porcentaje de humedad de snacks. Tesis para obtener el Título de Ingeniero Agroindustrial. Universidad Nacional de Trujillo.
- VAN-ARSDDEL, B. S.; Copley, M. 1979. Food Dehydration. The AVI Publishing Company, Inc. USA.
- WANG, J.; Wan, W. 2009. Optimization of fermentative hydrogen production process using genetic algorithm based on neural network and response surface methodology. International Journal of hydrogen energy. 34: 255-261.
- YAN, H.P.; Ma, X.H. 2009. Optimum research on the technology condition of chlorogenic acid from *Smallanthus sonchifolius*. J Food Res Develop. 30(10):89-92.
- YANG, B.; Yang, G.; Chen, J.W. 2009. Study on storage and preventing browning technology of fresh-cut yacon. J Food IndSci Tech. 30(4):239-242.
- YUFEN, H.; Chao-Yen, H. 2014. Influence analysis in response surface methodology. Journal of Statistical Planning and Inference. 147: 188-203.
- YUN, J.W.; Song, S.K. 1993. The production of high-content fructooligosaccharides from sucrose by the mixed-enzyme system of fructosyltransferase and glucose oxidase. Biotechnol Lett. 15(6):573-576.

## 7. TABLAS Y FIGURAS

**TABLA 1.** Datos reales y codificados del DCCR para la aceptabilidad general y tiempo de secado

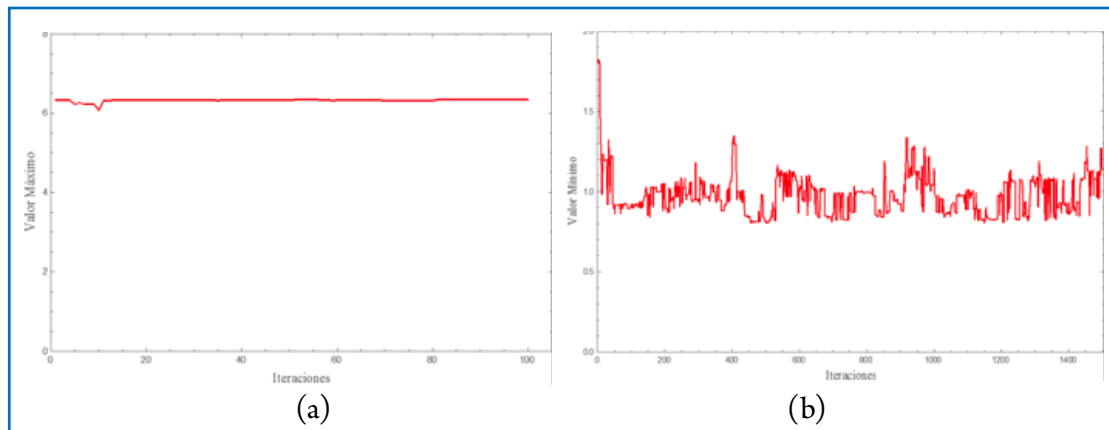
| ENSAYOS | VALORES CODIFICADOS |                | VALORES REALES                        |                                   | VARIABLES DEPENDIENTES                     |  |
|---------|---------------------|----------------|---------------------------------------|-----------------------------------|--|--|
|         | X <sub>1</sub>      | X <sub>2</sub> | X <sub>1</sub><br>Temperatura<br>(°C) | X <sub>2</sub><br>Espesor<br>(mm) | Y <sub>1</sub><br>Aceptabilidad<br>general | Y <sub>2</sub><br>Tiempo<br>secado (h) |
| 1       | -1                  | -1             | 54                                    | 1.9                               | 4.27                                       | 2.625                                  |
| 2       | 1                   | -1             | 76                                    | 1.9                               | 6.67                                       | 1.554                                  |
| 3       | -1                  | 1              | 54                                    | 6.1                               | 1.73                                       | 3.971                                  |
| 4       | 1                   | 1              | 76                                    | 6.1                               | 3.93                                       | 2.317                                  |
| 5       | -1.414              | 0              | 50                                    | 4                                 | 4.03                                       | 3.763                                  |
| 6       | 1.414               | 0              | 80                                    | 4                                 | 4.9  | 2.033                                  |
| 7       | 0                   | -1.414         | 65                                    | 1                                 | 5.87                                       | 1.444                                  |
| 8       | 0                   | 1.414          | 65                                    | 7                                 | 1.27                                       | 4.146                                  |
| 9       | 0                   | 0              | 65                                    | 4                                 | 5.47                                       | 3.027                                  |
| 10      | 0                   | 0              | 65                                    | 4                                 | 5.53                                       | 3.003                                  |
| 11      | 0                   | 0              | 65                                    | 4                                 | 5.4  | 2.946                                  |

**TABLA 2.** Valores de optimización obtenidas por Método Clásico de la función de Superficie de Respuesta y Algoritmos Genéticos

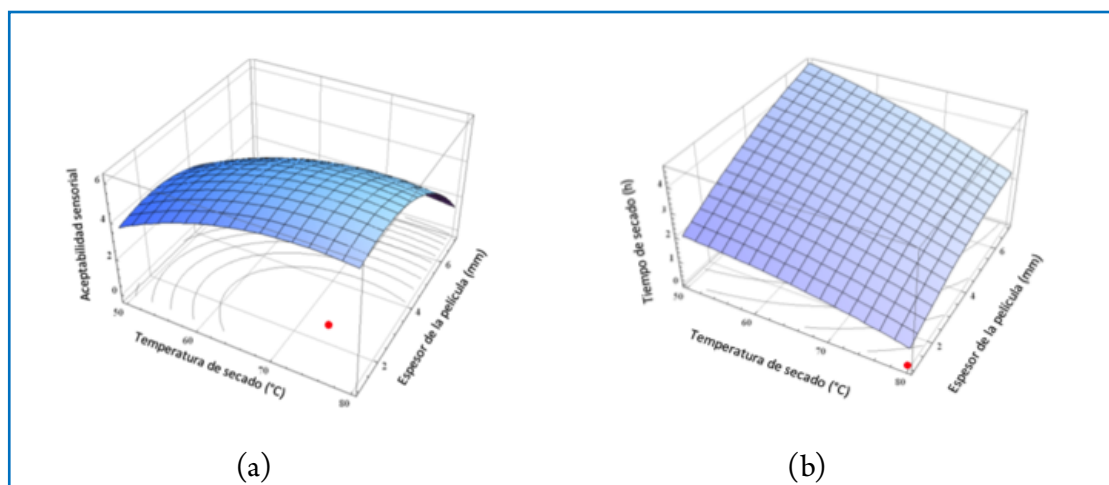
| VARIABLE                     | MCCD DE LA FUNCIÓN DE SR | AG       |
|------------------------------|--------------------------|----------|
| MÁXIMA ACEPTABILIDAD GENERAL | 6.33618                  | 6.33335  |
| TEMPERATURA DE SECADO (°C)   | 73.6231                  | 72.7990  |
| ESPESOR DE LÁMINA (mm)       | 2.22315                  | 2.24186  |
| MÍNIMO TIEMPO DE SECADO (h)  | 0.796758                 | 0.808926 |
| TEMPERATURA DE SECADO (°C)   | 80                       | 79.9145  |
| ESPESOR DE LÁMINA (mm)       | 1                        | 1.01337  |

**TABLA 3.** Parámetros y valores óptimos de la aceptabilidad general y tiempo de secado de hojuelas de yacón obtenidos con Algoritmos Genéticos (AG)

| PARÁMETROS DE LOS AG                       | ACEPTABILIDAD GENERAL | TIEMPO DE SECADO   |
|--|-----------------------|--------------------|
| <i>Fitness</i> (función de aptitud)        | Ecuación (1)          | Ecuación (2)       |
| Tamaño de la población (cromosomas)        | 50                    | 50                 |
| Genes $X_1 = 18$ , genes $X_2 = 15$        | 33                    | 33                 |
| Probabilidad de cruce ( <i>crossover</i> ) | 0.25                  | 0.25               |
| Probabilidad de mutación                   | 0.01                  | 0.01               |
| Iteraciones (generaciones)                 | 100                   | 1500               |
| Valor de $f(X_1, X_2)$                     | Máximo: 6.33335       | Mínimo: 0.808926 h |
| $X_1$ (°C)                                 | 72.7990               | 79.9145            |
| $X_2$ (espesor: mm)                        | 2.24186               | 1.01337            |



**FIGURA 1.** Desarrollo de las iteraciones con AG para el valor de (a) aceptabilidad máxima y (b) tiempo de secado mínimo de las hojuelas de yacón



**FIGURA 2.** Representación de la aceptabilidad general (a) y tiempo de secado desarrollada con AG

# PROPIEDADES MECÁNICAS Y SORCIÓN DE AGUA DE PELÍCULAS BIODEGRADABLES PREPARADAS A BASE DE LEVADURA

Juan Francisco Delgado<sup>1</sup>, Jorge Ricardo Wagner<sup>2,3</sup>, Orlando de la Osa González<sup>1</sup>

## 1. RESUMEN

Las películas multicomponentes se preparan utilizando biopolímeros, tales como proteínas, carbohidratos y lípidos para lograr diferentes propiedades de interés, ya sean propiedades mecánicas o de barrera. Se estudiaron las propiedades mecánicas y de hidratación de películas obtenidas a base de la biomasa completa de levadura aplicándoles combinaciones de tratamientos físicos (homogeneización por alta presión y tratamiento térmico). Las muestras fueron plastificadas con glicerol o sorbitol a diferentes porcentajes. Se halló que el incremento de 10 % a 30 % de glicerol respecto de la masa seca, disminuye el módulo elástico de  $88 \pm 7$  MPa a  $9 \pm 2$  MPa y en el caso del sorbitol, el aumento de 10 % a 30 %, disminuye el módulo de  $172 \pm 28$  MPa a  $34 \pm 6$  MPa. En el caso de la sorción de agua, se observó que a valores más altos de incorporación de plastificantes (30 %), las muestras con sorbitol requirieron menor cantidad de materia seca para incorporar un gramo de agua por día (disminuye el valor de K del modelo Pilosof, Boquet & Bartholomai). De acuerdo a los estudios realizados el material logrado tiene potencialidad para su empleo en bioempaques o cápsulas.

## 2. INTRODUCCIÓN

El creciente interés en materiales biodegradables ha puesto el foco en los biopolímeros, moléculas orgánicas capaces de ser utilizadas en envases y recubrimientos, con

---

CONTACTO: J. Francisco Delgado [delgado.jfrancisco@gmail.com](mailto:delgado.jfrancisco@gmail.com)

1. Laboratorio de Obtención, Modificación, Caracterización y Evaluación de Materiales (LOMCEM), Departamento de Ciencia y Tecnología, Universidad Nacional de Quilmes, Bernal, Argentina.

2. Laboratorio de Investigación en Funcionalidad y Tecnología de Alimentos (LIFTA), Departamento de Ciencia y Tecnología, Universidad Nacional de Quilmes, Bernal, Argentina.

3. CONICET, Argentina.

dos grandes atractivos. El primero es que se trata de fuentes renovables y el segundo, que la materia prima en muchos casos se encuentra en subproductos de plantas industriales, de manera que su empleo en la producción de películas mejora el uso y aprovechamiento de ellos. Además, algunas incorporan el concepto “películas comestibles” que forman parte del alimento y otras son matrices que contienen compuestos con el objetivo de extender la vida útil de él (Embuscado & Huber, 2009).

Los hidratos de carbono y las proteínas son muy utilizados en el desarrollo de películas, siendo las principales fuentes las proteínas de la leche, sueros lácteos, soja, almidones diversos. La técnica más difundida para la obtención de la película, a nivel laboratorio, es el casting, que consiste en el secado de una dispersión previamente preparada. Esta técnica posibilita la obtención y el estudio posterior a baja escala, siendo necesario el desarrollo de técnicas con características más afines a los requisitos del nivel industrial para pasar a una escala superior. Para alcanzar esta etapa, es necesario un conocimiento de base del material, de su comportamiento térmico y mecánico, así como sus propiedades de barrera, para aplicaciones futuras.

Las principales aplicaciones de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* están relacionadas con su capacidad fermentativa, la producción de CO<sub>2</sub> en los productos farináceos y la producción de etanol para las bebidas alcohólicas. En el caso de la industria de bebidas, principalmente las de cerveza y en menor medida las vitivinícolas generan una gran cantidad de levadura residual del proceso fermentativo. El destino principal del subproducto es la alimentación animal. La utilización de biomasa de levadura para la producción de películas abre otro campo de aplicación.

En este trabajo se propone el estudio de las propiedades mecánicas de las películas y su vínculo con la reología de las dispersiones que las originan y con la estructura que se obtiene luego del secado. Se tiene por objetivo también conocer la influencia de la incorporación de plastificantes a las películas frente a la sorción de agua.

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **PREPARACIÓN DE LAS DISPERSIONES DE PARTIDA**

Se preparó una dispersión madre utilizando levadura panadera (CALSA, AB Mauri Argentina, Tucumán). A partir de la misma se dividieron fracciones sobre las que

se realizaron los siguientes tratamientos físicos o combinaciones de los mismos, homogeneización por alta presión (H) y tratamiento térmico (C), utilizando el protocolo descrito por Delgado *et al.*, 2013. Las muestras estudiadas fueron HC, CH y HCH (la posición de las letras implica el orden en el que se realizaron los tratamientos). Los plastificantes, glicerol y sorbitol, fueron añadidos en diferentes porcentajes (10, 20, 30 % p/p respecto del peso seco de levadura en la dispersión) luego de los tratamientos aplicados. El secado posterior de las dispersiones se realizó en horno con circulación forzada de aire a  $55\pm 2$  °C colocando 20 ml de las muestras en placas de Petri de 8,6 cm de diámetro y 1,1 cm de alto. Esto garantizó un espesor constante. El secado se prolongó durante 12 horas.

### ESTUDIO REOLÓGICO

Se utilizó un reómetro oscilatorio modelo AR-G2 (TA Instruments, Delaware, EUA). El ensayo fue realizado a las dispersiones HC, CH y HCH con y sin el agregado de plastificante, a temperatura de 21 °C, barriendo velocidades de deformación entre  $0,1 \text{ s}^{-1}$  y  $1000 \text{ s}^{-1}$ . La geometría empleada en el ensayo fue un cono de acero de 2° y 40 mm de diámetro. Una vez obtenidos los resultados se aplicó el modelo de Herschel - Bulkley (ecuación 1) y se calcularon los parámetros característicos del modelo como  $\tau_0$ ,  $K$  y  $n$  utilizando el software Microcal Origin® 7.5 (Microcal Software Inc., EUA).

Ecuación 1

$$\tau = \tau_0 + K \left( \frac{dV_r}{d\theta} \right)^n$$

### PROPIEDADES MECÁNICAS

Los ensayos de tracción uniaxial se realizaron en una máquina universal de ensayos mecánicos Megatest® TC-500 serie II (Micrometric SRL, Buenos Aires, Argentina) a 21 °C. Las probetas fueron almacenadas hasta su análisis a la temperatura del ensayo y en una atmósfera dada por equilibrio con una solución saturada de  $\text{NaNO}_2$  ( $a_w$  registrada a 21 °C: 0,68). Las dimensiones de las probetas se realizaron conforme a la norma ASTM D-1708-02a. La celda de carga utilizada fue de 30 N, la velocidad, 5 mm/min. Los ensayos se realizaron sobre las muestras HCH con plastificante (desde el 10 % de glicerol o sorbitol, al 30 %) por quintuplicado.

El espesor promedio de todas las películas fue de  $0,30 \pm 0,03$  mm. Se tomaron 6 mediciones aleatorias de cada probeta con un calibre. Se calculó el esfuerzo a la ruptura, deformación máxima y módulo elástico según la norma ASTM-882-02.

### SORCIÓN DE AGUA

Las muestras, con las mismas dimensiones empleadas para las probetas de propiedades mecánicas, se pesaron en balanza analítica ( $\pm 0,0001$  g), secadas previamente a  $55$  °C durante 24 horas en estufa y se colocaron en recipientes sellados, con una solución saturada de  $\text{BaCl}_2$  a  $15$  °C ( $a_w$  registrada: 0,91).

La fracción de agua absorbida (F.A.A.) fue determinada según la ecuación 2.

$$\text{Ecuación 2} \quad F. A. A. = \frac{M_t - M_i}{M_i}$$

$M_i$  y  $M_t$  son las masas de muestra registradas al inicio del experimento y a tiempo  $t$ , respectivamente. El modelo de Pilosof, Boquet & Bartholomai fue utilizado para el ajuste de las curvas de sorción (Ecuación 3). El análisis se realizó a través del software Microcal Origin®7.5.

$$\text{Ecuación 3} \quad q = \frac{Q \cdot t}{B + t}$$

En este modelo,  $q$  es la cantidad total de agua adsorbida a tiempo  $t$ ,  $Q$  refiere a la capacidad de sorción de agua y  $B$  al tiempo necesario para sorber la mitad de la cantidad máxima de agua. Con esta ecuación se puede obtener un parámetro cinético  $K$  (Ecuación 4), derivando respecto del tiempo. Las unidades del parámetro son gramos de materia seca por cada gramo de agua sorbido por día.

$$\text{Ecuación 4} \quad K = \frac{1}{Q \cdot B}$$

### MICROSCOPÍA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM)

Las micrográficas electrónicas fueron tomadas en el Laboratorio de Microscopía Electrónica del INTI en su sede de San Martín, Provincia de Buenos Aires. El equipo



utilizado fue Feg SEM Quanta 200F (FEI Co, EUA). Para una mejor visualización al microscopio, las muestras fueron recubiertas con una capa de oro. Las magnificaciones empleadas fueron 6.000 X y 12.000 X con una diferencia de potencial de 5 kV. La presión absoluta durante el estudio fue de 80 Pa (condiciones de alto vacío).

#### **4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

##### **REOLOGÍA DE LAS DISPERSIONES**

Al aplicar una combinación de tratamientos, el comportamiento reológico de las dispersiones cambió de manera sustancial. En la Tabla 1 se entregan los valores correspondientes al modelo de Herschel-Bulkley aplicados a las muestras HC, CH y HCH. El tratamiento térmico en la posición final afectó de gran manera el comportamiento reológico de la muestra, el índice de consistencia (K) de la muestra HC es superior al de las dispersiones que finalizan con la homogeneización y el índice de flujo (n) cae por debajo de 0,5. Esto está relacionado con la liberación del contenido citoplasmático producida en la homogeneización, la posterior desnaturalización de las proteínas y el aumento de su hidrofobicidad por el tratamiento térmico (Wagner *et al.*, 2008).

Es natural esperar que la ruptura de los agregados modifique el comportamiento reológico de la muestra. En la muestra HCH, el índice de consistencia se reduce en 1 orden, respecto de la muestra HC, al mismo tiempo que aumenta el índice de flujo. El orden en que se aplican los tratamientos fue relevante para la reología. No tuvo el mismo efecto sobre la dispersión la aplicación del tratamiento térmico seguido de la homogeneización, para obtener la muestra CH, en comparación con el orden seguido para obtener la muestra HC. A pesar de que en ambos se produjo desnaturalización de las proteínas, la homogeneización en última instancia rompió agregados, mientras que el tratamiento térmico los formó, llegando las muestras a dos estados finales diferentes y de distinto desempeño.

No se apreciaron modificaciones por la adición de los plastificantes, aunque esto probablemente se haya debido a la cantidad adicionada (resultados no mostrados).

##### **PROPIEDADES MECÁNICAS**

A pesar de realizar varios lotes en los que se intentó obtener nuevas probetas de las muestras CH para los ensayos de tracción, no fue posible obtenerlas de manera

sana y en cantidad suficiente como requieren los ensayos mecánicos, debido a problemas ajenos a las mismas. Las muestras de la serie HC dieron muestras quebradizas. Es por ello que se presentan los valores correspondientes para las muestras HCH.

La adición de ambos plastificantes produjo una reducción del módulo elástico. Este resultado expone el trabajo del plastificante a nivel molecular, que efectuó cambios en el espaciado entre las moléculas, disminuyó las interacciones proteína – proteína o glucano – glucano y principalmente las de tipo proteína – glucano, permitiendo una mayor movilidad (Delgado *et al.*, 2013). Cada incremento en la adición de plastificante disminuyó la interacción entre cadenas, aumentó la movilidad y disminuyó la rigidez.

El descenso en el módulo elástico no se vio acompañado de un incremento acorde con la elongación al punto de ruptura (Tabla 2). Los valores obtenidos en el módulo de elasticidad, así como en el esfuerzo máximo fueron similares a los reportados en películas a base de aislado proteico de soja con porcentajes mayores de adición de glicerol y en condiciones de 25 °C y 50 % de humedad relativa (Guerrero *et al.*, 2010).

### **SORCIÓN DE AGUA**

Los valores de K obtenidos a través del modelo aplicado manifestaron una tendencia de incremento de la capacidad de captar agua en la muestra, conforme aumentó el porcentaje de plastificante, independientemente de su identidad (Figura 1). Con un porcentaje de adición del 10 %, las muestras CH y HCH presentaron valores similares de sorción, no obstante al incrementarse el porcentaje de adición de ambos plastificantes los valores de K de las muestras HCH cayeron frente a los de las muestras CH, a excepción de la película con 20 % de adición de sorbitol. Esto estaría relacionado con el tratamiento de homogeneización adicional que poseía la muestra HCH, que expuso aún más el material celular, rompió los agregados, desordenó el sistema y brindó mayor capacidad para interactuar con el agua.

### **MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM)**

En la disposición microscópica del material se encontraron presentes unidades de mayor tamaño actuando como carga, rodeadas por material con el rol de aglutinante. La geometría ovoidea del sistema de refuerzo particulado, existente en la

película, no permitió un desplazamiento lineal en la dirección del esfuerzo, lo que trajo como consecuencia una baja elongación al punto de ruptura. Esto puede comprobarse en la microscopía de la muestra CH (Figura 2). En ella se distinguen partículas ovoides de tamaño en la región de los 5  $\mu\text{m}$ , recorridas por un material que se ubicó entre estas partículas, actuando como adhesivo. Este material es el contenido citoplasmático liberado durante la homogeneización. Las partículas de forma ovoide son las paredes celulares que aún bajo la aplicación de un primer tratamiento intenso de alta presión conservaron, en gran medida, su forma original aunque fracturadas para liberar el citoplasma.

Luego de dos homogeneizaciones, como ocurre en la muestra HCH, se perdieron más estructuras de pared celular. A pesar de que luego de un primer tratamiento muchas estructuras mantienen su forma, cada operación sumada desintegra más las características iniciales de la pared. Como puede observarse en la Figura 3, las estructuras de pared celular ya no se diferencian con la misma facilidad que en la muestra CH.

## 5. CONCLUSIONES

El orden de los tratamientos aplicados repercutió en el comportamiento de las dispersiones, de acuerdo a lo expuesto para las muestras HC y CH. Además, el tratamiento final no gobernó las propiedades de la película sino que importó toda la historia de su preparación. Las muestras CH y HCH no tuvieron el mismo comportamiento en los estudios reológicos y de sorción de agua. En el caso de la reología, el índice de consistencia (K) de la muestra HC fue tres órdenes superior al de la muestra CH y un orden superior al de las HCH. A partir de las muestras HCH se logró obtener probetas para ensayos mecánicos, lo cual habla de sus buenas propiedades para formar películas. A pesar del descenso esperado en el módulo de elasticidad y en el esfuerzo máximo alcanzado conforme se incorpora glicerol o sorbitol, no aumentaron su elongación al punto de ruptura. El efecto plastificante del sorbitol a iguales porcentajes de adición respecto del glicerol fue menor, ya que produjo un descenso no tan marcado en los parámetros estudiados en propiedades mecánicas y al máximo valor de adición estudiado, incrementó la ganancia de masa de agua con respecto al otro plastificante. Por ejemplo, en lo que respecta al módulo de elasticidad, un 20 % de adición de glicerol produjo el mismo efecto que la adición del 30 % de sorbitol.

Al alcanzar el desarrollo de un material utilizando la biomasa de levadura, aprovechando sus características, se abre la posibilidad de emplear las fuentes que proporcionan levadura en forma masiva como subproducto industrial, lo cual suma valor agregado al mismo, ampliando el espectro de aplicaciones, limitado hoy en el universo industrial a la alimentación animal.

## **AGRADECIMIENTOS**

Los autores agradecen al laboratorio de Microscopía Electrónica del INTI-San Martín, en particular a la Lic. Gisela Maxia y a la Universidad Nacional de Quilmes por el soporte económico provisto a través del programa UNQ I+D 53/1007.

## **6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- ASTM (2002). Standard test method for tensile properties of plastics by use of microtensile specimens D1708. Annual Book of ASTM Standards. Philadelphia, USA.
- ASTM (2002). Test methods for tensile properties of thin plastic sheeting, D882-02. Annual book of ASTM. Philadelphia, USA.
- DELGADO, J. F., de la Osa, O., Wagner, J. R. (2013). Obtención de películas biodegradables a base de levadura, XIV Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos, AATA, Rosario, Argentina. ISSN: 978-987-22165-5-9.
- EMBUSCADO, M. E., & Huber, K. C. (2009). Edible films and coatings for food applications. Dordrecht, The Netherlands: Springer.
- GUERRERO, P., Retegi, A., Gabilondo, N. & DelaCaba, K. (2010). Mechanical and thermal properties of soy protein films processed by casting and compression. *Journal of Food Engineering*, 100, pp. 145-151.
- PILOSOF, A. M. R., Boquet, R., & Bartholomai, G. B. (1985). Kinetics of water uptake by food powders. *Journal of Food Science*, 50(1), pp. 278-279.
- WAGNER, J. R., Sceni, P., & Otero Rambla, M. A. (2008), "Aislamiento, propiedades térmicas y funcionales de proteínas de levadura", en: *Las levaduras y sus productos derivados como ingredientes en la industria de alimentos* (Wagner, J. R., Otero Rambla, M. A y Guerrero Legarreta, I.), 1ª Ed., Ed. UNQ, Bernal, pp. 215-232.

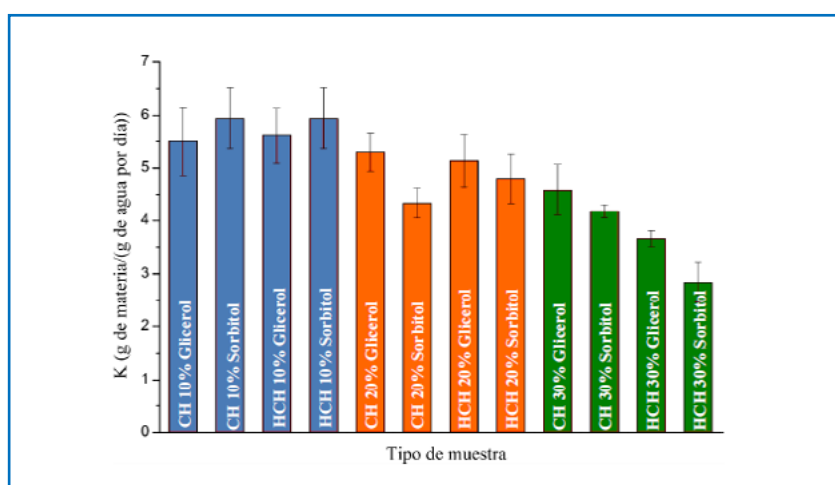
## 7. TABLAS Y FIGURAS

**TABLA 1**

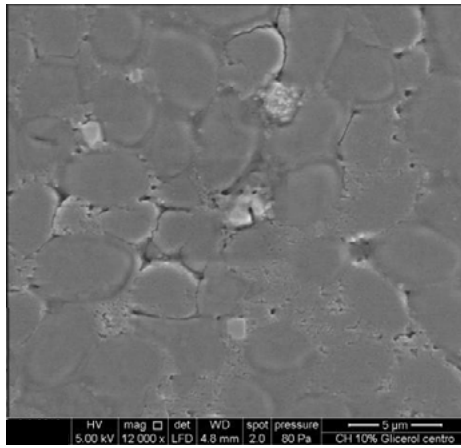
| MUESTRA | PARÁMETROS    |                  |             |
|---------|---------------|------------------|-------------|
|         | K (Pa.s)      | n (adimensional) | to (Pa)     |
| CH      | 0,0034±0,0002 | 0,96±0,03        | 0,050±0,005 |
| HC      | 1,9±0,2       | 0,47±0,01        | 2,2±0,1     |
| HCH     | 0,12±0,06     | 0,66±0,01        | 0,53±0,01   |

**TABLA 2**

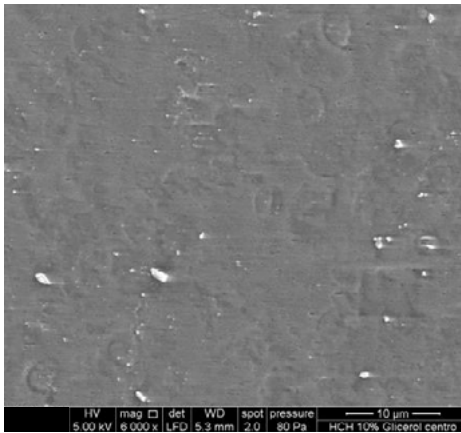
| HCH CANTIDAD DE PLASTIFICANTE (%) | MÓDULO ELÁSTICO (MPa) |          | ELONGACIÓN A LA RUPTURA (%) |          | ESFUERZO MÁXIMO ALCANZADO (MPa) |          |
|-----------------------------------|-----------------------|----------|-----------------------------|----------|---------------------------------|----------|
|                                   | Glicerol              | Sorbitol | Glicerol                    | Sorbitol | Glicerol                        | Sorbitol |
| 10 %                              | 88±7                  | 172±28   | 7                           | 4        | 3,1±0,5                         | 4,0±0,9  |
| 20 %                              | 31±4                  | 94±7     | 12                          | 10       | 1,4±0,2                         | 3,0±0,4  |
| 30 %                              | 9±2                   | 34±6     | 11                          | 7        | 0,7±0,2                         | 1,1±0,2  |



**FIGURA 1.** Gráfico de los valores de K obtenidos



**FIGURA 2.** Microscopía de barrido de una muestra CH con 10 % de glicerol (12.000X)



**FIGURA 3.** Superficie de una muestra HCH con adición de 10% de glicerol (6.000X)

# FRUCTAN RETENTION IN YACON SLICES: OPTIMIZATION OF OSMOTIC DEHYDRATION ASSISTED BY ULTRASOUND

Kamilla Soares de Mendonça, João Renato de Jesus, Marina Barbosa Vilela,  
Jefferson Luiz Gomes Corrêa

## 1. ABSTRACT

Yacon tuber is originated from the Andean regions of South America. Besides its prebiotic and hypoglycemic properties, connected to a high fructan content, it presents short shelf life. Osmotic dehydration is a pretreatment for drying that involves partial reduction of moisture content at moderate temperature. The osmotic dehydration assisted by ultrasound (ODAU) corresponds to the assistance of ultrasound energy in osmotic dehydration, promoting “sponge effect”, cavitation and the formation of microchannels, with consequent mass transfer increase. The aim of this study was to optimize the ODAU of yacon slices in xylitol solution with respect to water loss (WL), solid gain (SG), fructan retention (R<sub>fru</sub>) and water activity (a<sub>w</sub>). The evaluation of the effects of ultrasound application time (t<sub>us</sub>, 0 to 40 min) and osmotic solution concentration (SC, 20 to 60°B) in the process was performed with the aid of response surface methodology. A central composite rotatable design was used as experimental design, factorial 2<sup>2</sup>, with 4 axial points and 5 central points. The desirability function method was used to establish optimized conditions. The optimum conditions were 2.67 min of ultrasound application time, in a ODAU of 60° Brix xylitol solution. Under this condition the WL, SG, R<sub>fru</sub> and a<sub>w</sub> were 51.35 % (w.b.), 3.04 % (w.b.), 70.46 % (d.b.) and 0.963; respectively.

## 2. INTRODUCTION

Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) is a tuber originated from the Andean regions of South America (Graefe *et al.* 2004). The interest in this tuber has been increased by

---

CONTACTO: Kamilla Soares de Mendonça [keamendonca@msn.com](mailto:keamendonca@msn.com)  
Departament of Food Science, Federal University of Lavras, Lavras,  
MG, Brazil.

its prebiotic and hypoglycemic properties combined with a high fructan content, offructooligosaccharides (FOS) type (Bibas Bonet *et al.* 2010; Campos *et al.* 2012). Due to its high water activity and the rapid depolymerization reactions of fructans that occur in the postharvest (Narai-Kanayama *et al.* 2007), the yacon presents very short shelf life. The processing of yacon above 70 °C presented significant reduction in the FOS content by decomposition of the molecule into simple sugars (Lago *et al.* 2012), which does not provide the beneficial properties of FOS .

Osmotic dehydration (OD) is a process used to obtain partial reduction of moisture from biological products (Noshad *et al.* 2012; Nowacka *et al.* 2014). The preservation of nutrients is one of the advantages attributed to OD. This technique minimizes the thermal damage that occurs during conventional dehydration (Therdthai *et al.* 2011). The removal of moisture is promoted by the gradient of chemical potential between the sample and the solution, and simultaneously occurs a migration, often undesirable, of solids in the osmotic solution into the food matrix (Corrêa *et al.* 2010). Different osmotic agents may attribute different characteristics to the product. The use of sucrose substitutes such as polyols is recommended to obtain a low glycemic index product (Chauhan *et al.* 2011; Mendonça *et al.* 2013).

The assistance of ultrasound energy at OD systems has been shown effectiveness in the intensification of mass transfer (Fernandes *et al.* 2008; Li *et al.* 2012; Garcia-Noguera *et al.* 2010). The ultrasound waves produce alternating series of compressions and decompressions in the product, a phenomenon known as “sponge effect”, thereby creating microchannels on the structure. The cavitation is another phenomenon, when the applied ultrasonic energy reaches a threshold inherent in each system, the occluded gases within the matrix of the product generates cavitation bubbles. The development of these bubbles causes the collapse of the bubbles, which is characterized by points of high pressure and temperature and the emergence of microjets that inject solution on the surface of the product. These phenomena facilitate the release of water from the inside of food and the entrance of fluid from the external matrix, reducing the internal and external mass transfer resistance, intensifying the effects of OD (Cárcel *et al.* 2012). There are no previous works which report the behaviour of fructans in ODAU systems.

The aim of this work was to investigate the effects of ultrasound application time ( $t_{us}$ ) and osmotic solution concentration (SC) of xylitol on the mass transfer pa-



rameters and fructan retention of yacon slices, and to find the optimum operating conditions of ODAU with respect to water loss, solid gain, fructan retention and water activity.

### 3. MATERIALS AND METHODS

#### RAW MATERIAL

Yacon tubers (*Smallanthus sonchifolius*) were purchased in a local market (Lavras, MG, Brazil). They were selected to avoid mechanical damage and guaranteed homogeneous maturity. The tubers were washed, manually peeled and sliced (2.00 cm × 2.00 cm × 0.50 cm thickness, 150 g) with the aid of a stainless steel mold. The samples were readily immersed in 1 % citric acid solution at room temperature for 3 min with the goal of inhibit enzymatic browning (Reis *et al.* 2012).

The initial moisture content of fresh samples of yacon was  $91.60 \pm 0.52$ g/100g (w.b.), the water activity was  $0.991 \pm 0.020$  and the initial soluble solids content was  $12.0 \pm 0.5$  °Brix. The fructan content of fresh samples of yacon was  $60.47 \pm 5.48$ g/100g (d.b.). Similar results were reported in the literature (Campos *et al.* 2012; Kotovicz *et al.* 2013; Oliveira 2013).

#### OSMOTIC DEHYDRATION ASSISTED BY ULTRASOUND EXPERIMENTS

The yacon slices were individually accommodated in nylon mesh supports to guarantee the individualization of each sample and complete immersion. The osmotic solution of xylitol was placed directly into the ultrasound bath device (Unique, model USC 2850A, Indaiatuba, Brazil, ultrasound frequency 25 kHz, powder intensity  $8 \text{ kW m}^{-3}$ ). The temperature of the solution inside the ultrasonic bath was maintained constant at  $25 \pm 2$  °C with the aid of an ice bag. The ratio solution to sample was maintained at 10:1 (w:w) to avoid a significant dilution of the solution (Fernandes *et al.* 2008; Garcia-Noguera *et al.* 2010). All treatments had a total duration time of 40 min, the  $t_{us}$  in the beginning of the process and the xylitol SC were defined by the experimental design showed at Table 1. After removal from the solution, the osmodehydrated samples were immediately immersed in an ice-mineral water bath to stop the dehydration and remove the remaining osmotic solution in their surface, and gently dried with absorbent paper. The samples were sent to analysis.

## ANALYTICAL METHODS

The samples were analyzed in terms of water activity ( $a_w$ ), it was determined at 25 °C with the use of Aqualab equipment, model CX-2T (Decagon Devices Inc., Pullman, WA, USA).

The fructan retention (Rfru) was evaluated according to a modified methodology 999.03 AOAC (Megazyme Fructan HK Procedure, Megazyme, Bray, Ireland). After treatment samples were immediately frozen in liquid nitrogen and stored for up to 10 days at -80 °C, measurements are taken in duplicate. The determination of Rfru after processing disregarded the dry matter portion due to SG and considered the initial fructan content variations in different batches of samples (Oliveira 2013).

The moisture of yacon slices were evaluated according to AOAC (2007) to determine the water loss (WL) and solid gain (SG) according to the equations 1 and 2 (Garcia-Noguera *et al.* 2010; Corrêa *et al.* 2010), measurements are taken in triplicate:

$$WL[\%]=100.(X_0M_0-X_fM_f)/M_0 \quad (1)$$

$$SG[\%]=100.(M_f x_{sf} - M_0 x_{s0})/M_0 \quad (2)$$

where  $M$  is weight of sample [g];  $X$  corresponds to moisture content (w.b.) [kg/kg];  $x_s$  is dry matter content [kg/kg]. Subscript “0” is the initial data, and the subscript “f” to after ODAU data.

## EXPERIMENTAL DESIGN

Thirteen experiments were carried out according to a  $2^2$  factorial design, with 4 axial points and 5 replicates at central point. The levels of the factors ultrasound application time and osmotic solution concentration were defined at experimental design (Table 1). All the data of response variables were expressed as mean  $\pm$  standard deviation. The response surface methodology assumes that there is a polynomial function that relates the responses to the independent variables. Therefore, the experimental data obtained from the factorial design were fitted into a polynomial form (Equation 3):

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 t_{us} + \beta_2 C.S. + \beta_{11} t_{us}^2 + \beta_{22} C.S.^2 + \beta_{12} t_{us} C.S. + e \quad (3)$$

where is the predict value for response variable ( $a_w$ , Rfru, WL or SG);  $t_{us}$  and SC are independent variables;  $\beta_i$  are adjustable constants and “ $e$ ” is the residual association of the experiments.

The ANOVA statistical test was developed with a confidence level of 95 %, which includes the statistical significance of each term of the adjustable model (p-value), the estimated effects in each term ( $\beta_i$ ), the determination coefficient of the model ( $R^2 > 0.85$ ), in order to establish the accuracy of the model to represent the data using the software Statistica 8.0 (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, EUA) (STATISTICA 2008). The resulting models were optimized to determine the levels of the variables that gave the optimum values of the responses, complete models were adopted for prediction of the optimum condition of ODAU of yacon, whereas the final condition depends on all factors (Oliveira 2013).

### OPTIMIZATION

The simultaneous optimization of the multiple responses was also used by the Statistica 8.0 software. To develop an optimum solution, maximising WL and Rfru and minimising SG and  $a_w$ , the goals were combined into an overall composite function,  $D(x)$ , called the desirability function (Derringer & Suich 1980) (Equation 4), where  $d_i$  are the responses and  $D$  the disability value:

$$D = (d_1 \times d_2 \times d_3 \times d_4)^{\frac{1}{4}} \quad (4)$$

## 4. RESULTS AND DISCUSSION

The experimental data of dependent variables (WL, SG, Rfru and  $a_w$ ) are shown at Table 1. The regression coefficients for each model generated and their p-value are shown at Table 2. According to ANOVA (Table 3) the proposed models were adequate, statistically significant, with satisfactory determination coefficient ( $R^2 > 0.90$ ) what indicates that they are able to predict response variable behavior.

### WATER LOSS (WL) AND SOLID GAIN (SG)

WL was significantly dependent on  $t_{us}$  in the linear term ( $p = 0.026$ ). This could be attributed to the reduction of internal resistance to mass transfer provided by the ultrasonic waves. The effect of  $t_{us}$  increasing WL was observed in ODAU of

melon (Fernandes *et al.* 2008), mango (Kek *et al.* 2013) and kiwi (Nowacka *et al.* 2014). The sonication induce alternating series of compressions and expansions (sponge effect) in the product matrix. This process involves mechanical forces that can be higher than the surface tension that holding the moisture inside the capillaries of the product, creating microchannels that make the water removal easier (Fernandes *et al.* 2008; Cárcel *et al.* 2012; Li *et al.* 2012). Moreover, the formation of microscopic channels in the fruits tissue have been reported in studies with ODAU, they contribute to facilitate the mass transfer in the system (García-Noguera *et al.* 2010).

Only the quadratic term of  $t_{us}$  has significant effect on SG ( $p < 0.001$ ). Even in a ODAU with sucrose, only significant quadratic effect of  $t_{us}$  on the SG (Noshad *et al.* 2012). The influence of ultrasound in an osmotic process is attributed to the reduction of the external resistance to mass transfer by cavitation. The implosion of bubbles generated by cavitation, when near the sample surface, promotes the formation of microjets towards the surface that tends to contribute to the increment of SG by microinjection of solute (Mason & Lorimer 2002; Cárcel *et al.* 2012). Furthermore, the effect of  $t_{us}$  may be due to microchannels formed by the ultrasound application by distorting or cell collapse and described as facilitating mass transfer (García-Noguera *et al.* 2010; Li *et al.* 2012).

The solution concentration (SC) showed a significant positive effect on WL and SG in the linear term for both WL and SG and in the quadratic term for SG (Table 2). Kotovicz *et al.* (2013) in an ordinary osmotic dehydration of yacon in fructose solution observed positive effect of SC on the WL and SG of yacon. The high solution concentration carries out to high osmotic pressure that promotes the diffusion of the water, from the food to the solution and of the soluble solids, from the solution to the food sample (Mundada *et al.* 2010). The effect of SC ( $\beta = 7.573$ ) on WL was higher than the effect of  $t_{us}$  ( $\beta = 2.221$ ), both variables presented positive effects, meaning that the higher the  $t_{us}$  or SC, the higher the WL.

### FRUCTAN RETENTION

The  $t_{us}$  contributed negatively to fructan retention in samples ( $\beta = -12.343$ ) and there was not significant influence of SC (Table 2). The degradation of fructan molecules could be credited to cavitation. This phenomenon acts on carbohydrates reducing its molecular weight by formation of free radicals and mechanochemical

effects (Stojanovic & Silva 2007; Jambrak *et al.* 2010; Pingret *et al.* 2013). Sonication induces depolymerization mechanisms that act primarily by breaking polymer chains and then reducing its polydispersity (Popa-Nita *et al.* 2009). Baxter *et al.* (2005) reported the degradation of chitosan due to the application of ultrasound, what could be seen as an example. The fructan depolymerization by hydrolysis was described in papers that reported the formation of lower molecular weight molecules, such as reducing sugars, glucose and fructose and, on the other hand of decrease of inulin levels, as FOS (Kim *et al.* 2001; Lago *et al.* 2012).

### **WATER ACTIVITY**

The  $t_{us}$  and the SC showed significant negative linear effect on water activity of yacon slices after ODAU in linear and quadratic terms (Table 2). The SC effect ( $\beta=-0.008$ ) was more severe than the  $t_{us}$  effect ( $\beta=-0.002$ ) in reducing  $a_w$  of yacon slices after ODAU. The  $a_w$  reduction occurs due to enhance in mass transfers provided by increase of SC and  $t_{us}$ . Lower levels of  $a_w$  promote extension of food shelf life, due to the decrease of the physical, chemical and microbiological changes (Lee & Lim 2011) and ODAU aids to obtain an effective water loss ( $a_w < 0.60$ ) in a further treatment, as drying (Tonon *et al.* 2007).

### **OPTIMIZATION**

The results of the experimental design of response surface showed that all predicted models had a good fit to the data (Table 3). Then, the optimization ODAU of yacon slices could be done with the aid of the desirability function (D). The best condition is that could maximize WL and Rfr and minimize SG and  $a_w$ .

The optimized condition, then, was: 2.67 min of ultrasound application in the beginning of the process in a xylitol solution concentration of 60 °B. The D at this point of 0.88. Based on the optimum operation conditions of ODAU systems yacon slices, the predicted values for all responses are shown in Table 4. A D greater than 0.80 is considered acceptable and excellent (Akhnazarova & Kafarov 1982). The analysis showed that the optimal condition to ensure good retention of fructans the  $t_{us}$  in ODAU must be small, on the other hand concentration of the osmotic solution can be used at higher levels.

## 5. CONCLUSIONS

The xylitol solution could be used in an osmotic dehydration of yacon in an optimum concentration of 60 °B. The use of ultrasound in an osmotic dehydration of yacon in a xylitol solution could increase the WL and reduce the  $a_w$ . However, the time of ultrasound application should be small to avoid fructan degradation.

## 6. REFERENCES

- AOAC (2007). Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.
- AKHNAZAROVA, S. & KAFAROV, V. (1982). *Experiment optimization in chemistry and chemical engineering*. Mir, ed., Moscow.
- BAXTER, S., ZIVANOVIC, S. & JOCHEN, W. (2005). Molecular weight and degree of acetylation of high-intensity ultrasonicated chitosan. *Food Hydrocolloids*, 19, pp.821–830.
- BIBAS BONET, M.E. *et al.* (2010). Prebiotic effect of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) on intestinal mucosa using a mouse model. *Food and Agricultural Immunology*, 21(2), pp.175–189.
- CAMPOS, D. *et al.* (2012). Prebiotic effects of yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. & Endl), a source of fructooligosaccharides and phenolic compounds with antioxidant activity. *Food Chemistry*, 135, pp.1592–1599.
- CÁRCEL, J. A. *et al.* (2012). Food process innovation through new technologies: Use of ultrasound. *Journal of Food Engineering*, 110(2), pp.200–207.
- CHAUHAN, O.P. *et al.* (2011). Effects of Osmotic Agents on Colour, Textural, Structural, Thermal, and Sensory Properties of Apple Slices. *International Journal of Food Properties*, 14(5), pp.1037–1048.
- CORRÊA, J.L.G. *et al.* (2010). Mass transfer kinetics of pulsed vacuum osmotic dehydration of guavas. *Journal of Food Engineering*, 96 (4), pp.498–504.
- DERRINGER, G. & SUICH, R., 1980. Simultaneous optimization of several response variables. *Journal Quality Technology*, 12, pp.214–219.
- FERNANDES, F., GALLÃO, M. & RODRIGUES, S. (2008). Effect of osmotic dehydration and ultrasound pre-treatment on cell structure: Melon dehydration. *LWT-Food Science and Technology*, 41, pp.604–610.
- GARCIA-NOGUERA, J. *et al.* (2010). Ultrasound-assisted osmotic dehydration of strawberries: effect of pretreatment time and ultrasonic frequency. *Drying Technology*, 28 (2), pp.294–303.

- GRAEFE, S. *et al.* (2004). Effects of post-harvest treatments on the carbohydrate composition of yacon roots in the Peruvian Andes. *Field Crops Research*, 86(2-3), pp.157–165.
- JAMBRAK, A.R. *et al.* (2010). Ultrasound effect on physical properties of corn starch. *Carbohydrate Polymers*, 79 (1), pp.91–100.
- KEK, S., CHIN, N. & YUSOF, Y. (2013). Direct and indirect power ultrasound assisted pre-osmotic treatments in convective drying of guava slices. *Food and Bioproducts Processing*, 91, pp.495–506.
- KIM, Y., FAQIH, M. & WANG, S. (2001). Factors affecting gel formation of inulin. *Carbohydrate Polymers*, 46(2), pp.135–145.
- KOTOVICZ, V. *et al.*, 2013. Influence of process conditions on the kinetics of the osmotic dehydration of yacon (*Polymnia sonchifolia*) in fructose solution. *Journal of Food Process and Preservation*.
- LAGO, C.C. *et al.* (2012). Characterization of powdered yacon (*Smallanthus sonchifolius*) juice and pulp. *Food Bioprocess Technology*, 5, pp. 2183–2191.
- LEE, J. & LIM, L. (2011). Osmo-dehydration pretreatment for drying of pumpkin slice. *International Food Research Journal*, 18(4), pp.1223–1230.
- LI, H. *et al.* (2012). Mass transfer evaluation of ultrasonic osmotic dehydration of cherry tomatoes in sucrose and salt solutions. *International Journal of Food Science and Technology*, 47, pp.954–960.
- MASON, T.J. & Lorimer, J.P. (2002). *Applied Sonochemistry: The Uses Of Power Ultrasound in Chemistry and Processing*, Weinheim, Germany.: Wiley-VCH.
- MENDONÇA, K.S. *et al.* (2013). Otimização da desidratção osmótica de yacon assitada por ultrassom. In *Livro de resumos do XXXVI Congresso Brasileiro de Sistemas Particulados: ENEMP*. Maceió: Universidade Federal de Alagoas, p. 241.
- MUNDADA, M., SINGH, B. & MASKE, S. (2010). Optimisation of processing variables affecting the osmotic dehydration of pomegranate arils. *International Journal of Food Science and Technology*, 45, pp. 1732–1738.
- NARAI-KANAYAMA, A., Tokita, N. & Aso, K. (2007). Dependence of fructooligosaccharide content on activity of fructooligosaccharide-metabolizing enzymes in yacon (*Smallanthus sonchifolius*) tuberous roots during storage. *Journal of food science*, 72(6), pp. 381–7.
- NOSHAD, M. *et al.* (2012). Multi-objective optimization of osmotic–ultrasonic pretreatments and hot-air drying of quince using response surface methodology. *Food Bioprocess Technology*, 5, pp. 2098–2010.
- NOWACKA, M. *et al.* (2014). Effect of ultrasound treatment on the water state in kiwifruit during osmotic dehydration. *Food Chemistry*, 144, pp.18–25.

- OLIVEIRA, L.F. DE (2013). *Desidratação osmótica com pulso de vácuo e secagem a vácuo de yacon (Smallanthus sonchifolius)*. Universidade Federal de Lavras: Programa de Pós-graduação em Ciência dos Alimentos. Tese de doutorado.
- PINGRET, D., Fabiano-Tixier, A.-S. & Chemat, F. (2013). Degradation during application of ultrasound in food processing: a review. *Food Control*, 31, pp.593–606.
- POPA-NITA, S., Lucas, J. & Ladaviere, C. (2009). Mechanisms involved during the ultrasonically induced depolymerization of chitosan: characterization and control. , 10, pp.1203–1211.
- REIS, F.R. *et al.* (2012). Vacuum drying kinetics of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) and the effect of process conditions on fractal dimension and rehydration capacity. *Drying Technology*, 30(1), pp.13–19.
- STATISTICA (2008). Data Analysis Software System.
- STOJANOVIC, J. & Silva, J.L. (2007). Influence of osmotic concentration, continuous high frequency ultrasound and dehydration on antioxidants, colour and chemical properties of rabbiteye blueberries. *Food Chemistry*, (101), pp.898–906.
- THERDTHAI, N., Zhou, W. & Pattanapa, K. (2011). Microwave vacuum drying of osmotically dehydrated mandarin cv.(Sai-Namphaung). *International Journal of Food Science and Technology*, 46, pp.2401–2407.
- TONON, R., Baroni, A. & Hubinger, M. (2007). Osmotic dehydration of tomato in ternary solutions: Influence of process variables on mass transfer kinetics and an evaluation of the retention of carotenoids. *Journal of Food Engineering*, 82, pp. 509–517.



## 7. TABLES AND FIGURES

**TABLE 1.** Central composite rotational design with experimental values and standard deviations of response variables of yacon slices treated with xylitol

| $t_{us}$ [min] | C.S. [°B]    | WL [%]     | SG [%]    | Rfru [%]   | $a_w$       |
|----------------|--------------|------------|-----------|------------|-------------|
| 5.858 (-1)     | 25.858 (-1)  | 35.04±1.50 | 3.05±0.25 | 66.06±3.65 | 0.978±0.002 |
| 34.142 (1)     | 25.858 (-1)  | 38.74±0.78 | 3.33±0.75 | 49.57±3.21 | 0.974±0.001 |
| 5.858 (-1)     | 54.142 (1)   | 52.15±3.38 | 4.09±0.92 | 65.54±5.45 | 0.962±0.001 |
| 34.142 (1)     | 54.142 (1)   | 55.15±2.93 | 5.79±0.89 | 43.55±7.23 | 0.956±0.003 |
| 0 (-1.4142)    | 40 (0)       | 40.16±3.12 | 4.09±0.71 | 67.57±5.32 | 0.971±0.000 |
| 40 (1.4142)    | 40 (0)       | 47.98±5.21 | 5.54±0.34 | 24.96±3.91 | 0.969±0.002 |
| 20 (0)         | 20 (-1.4142) | 30.82±0.48 | 3.45±0.28 | 64.81±6.31 | 0.980±0.002 |
| 20 (0)         | 60 (1.4142)  | 49.96±3.72 | 7.48±0.60 | 56.18±5.87 | 0.958±0.001 |
| 20 (0)         | 40 (0)       | 45.13±2.28 | 7.20±0.68 | 59.67±4.91 | 0.964±0.002 |
| 20 (0)         | 40 (0)       | 44.82±2.52 | 7.23±0.61 | 50.76±5.27 | 0.964±0.001 |
| 20 (0)         | 40 (0)       | 45.43±3.26 | 7.27±0.25 | 59.68±4.22 | 0.963±0.001 |
| 20 (0)         | 40 (0)       | 42.20±3.10 | 7.37±0.18 | 51.33±6.13 | 0.963±0.003 |
| 20 (0)         | 40 (0)       | 42.69±3.04 | 7.49±0.55 | 54.41±5.05 | 0.964±0.001 |

Min: min; °B: Brix;  $t_{us}$ : ultrasound application time; SC: solution concentration; WL: water loss; SG: solid gain; Rfru: fructan retention;  $a_w$ : water activity. Values in parentheses represent the experimental points in the coded scale.

**TABLE 2.** Coefficients for the prediction models and p-values

|                   | RC                       | p-value | RC                       | p-value |
|-------------------|--------------------------|---------|--------------------------|---------|
|                   | Water loss (WL)          |         | Solid gain (SG)          |         |
| Intercept         | 44.052                   | <0.001* | 7.313                    | <0.001* |
| $\beta_1$         | 2.221                    | 0.026*  | 0.505                    | 0.065   |
| $\beta_{11}$      | 0.770                    | 0.394   | -1.517                   | <0.001* |
| $\beta_2$         | 7.573                    | <0.001* | 1,150                    | 0.002*  |
| $\beta_{22}$      | -1.072                   | 0.247   | -1.194                   | 0.002*  |
| $\beta_1 \beta_2$ | -0.174                   | 0.881   | 0.355                    | 0.312   |
|                   | Fructan retention (Rfru) |         | Water activity ( $a_w$ ) |         |
| Intercept         | 55.170                   | <0.001* | 0.964                    | <0.001* |
| $\beta_1$         | -12.343                  | <0.001* | -0.002                   | 0.022*  |
| $\beta_{11}$      | -3.753                   | 0.073*  | 0.003                    | 0.003*  |
| $\beta_2$         | -2.344                   | 0.201   | -0.008                   | <0.001* |
| $\beta_{22}$      | 3.362                    | 0.101   | 0.002                    | 0.009*  |
| $\beta_1 \beta_2$ | -1.376                   | 0.576   | <0.001                   | 0.541   |

(\*) significant at 5 % level;  $t_{us}$ : ultrasound application time; SC: solution concentration; CR: regression coefficient.

**TABLE 3.** Analysis of variance for predict models

| VARIABLES      | d.f. | MS                   | p-value | R <sup>2</sup> |
|----------------|------|----------------------|---------|----------------|
| WL             | 5    | 102.444              | <0.001  | 0.936          |
| SG             | 5    | 7.234                | 0.001   | 0.924          |
| Rfru           | 5    | 294.652              | 0.002   | 0.905          |
| a <sub>w</sub> | 5    | 1.2x10 <sup>-4</sup> | <0.001  | 0.973          |

**TABLE 4.** Optimum process condition and predict values ODAU of yacon slices

|                     | t <sub>us</sub> | SC    | WL      | SG     | Rfru    | a <sub>w</sub> |
|---------------------|-----------------|-------|---------|--------|---------|----------------|
| Goals               | -               | -     | max     | min    | max     | min            |
| Optimized condition | 2.67 min        | 60 °B | 51.35 % | 3.04 % | 70.46 % | 0.963          |

t<sub>us</sub>: ultrasound application time; SC: solution concentration; WL: water loss; SG: solid gain; Rfru: fructan retention; a<sub>w</sub>: water activity; min: min; °B: Brix.

# DRYING KINETICS OF VACUUM PULSE OSMOTICALLY DEHYDRATED PERSIMMON

Francemir José Lopes<sup>1</sup>, João Renato de Jesus<sup>1</sup>, Guilherme Eurípedes Alves<sup>2</sup>, Kamilla Soares de Mendonça<sup>1</sup>, Ronaldo Elias de Mello Júnior<sup>1</sup>, Jefferson Luiz Gomes Corrêa<sup>1,2</sup>

## 1. ABSTRACT

The present work aimed to study the convective drying kinetics of persimmon (*Diospyros Kakil L.*) cv Fuyu slices at 40 °C and 60 °C, 0.5 m/s. Moreover, the PVOD variables as fructose concentration (30 °B and 45 °B) and time of vacuum pulse (10 and 30 min) had their influence tested. The vacuum pressure was 100 mbar and the total time of the osmotic treatment was 2 hours. The relation fruit:solution ratio was 1:10 (w/w). Dincer and Dost and Fick model were used to fit drying kinetics. Fick's model was most suitable to describe the behavior of the drying of osmotically pretreated persimmon (PVOD) compared to the Dincer's model. The values of effective diffusivity ( $D_{\text{eff}}$ ) ranged from 3.63 to  $7.77 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$  for Fick's model and  $1.09 \times 10^{-9}$  to  $8.53 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$  for Dincer's model. In general, the  $D_{\text{eff}}$  was increased with the use of the pretreatment.

## 2. INTRODUCTION

Persimmon (*Diospyros kaki L.*) is grown mainly in subtropical and temperate climates (Vieites, 2012). This fruit is a source of ascorbic acid, tannins and carotenoids (Chung *et al.*, 1998; Rao and Rao, 2007), but presents low shelf life.

Drying is a process of food preservation that could be used for fruits as persimmon (Barbanti, Mastrocola and Pizzarani, 1995). However, it involves high tempe-

---

CONTACTO: Kamilla Soares de Mendonça [keamendonca@msn.com](mailto:keamendonca@msn.com)

1. Department of Food Science, Federal University of Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brazil.

2 Department of Agricultural Engineering, Federal University of Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brazil.

ratures for long time, which is a critical factor for the quality loss. For reducing the undesirable changes in food characteristics, pulsed vacuum osmotic dehydration (PVOD) could be used (Fante *et al.*, 2011; Viana, Corrêa and Justus, 2014).

PVOD is an osmotic dehydration process with reduced pressure for a short period in the beginning of the process. As a consequence, the air present in the pores of the product is removed and when the atmospheric pressure is restored, the osmotic solution fills the pores (Fito, 1994). Other characteristics attributed to PVOD are: mass transfer improvement and faster impregnation of solutes (Corrêa *et al.*, 2010; Viana, Corrêa and Justus, 2014). PVOD process is not able to reduce the moisture of the food product at levels that promote their conservation. The use of a more intensive process of moisture reduction, such as convective drying, is necessary.

The drying kinetics could be fitted by mathematical models as the Ficks diffusive model Crank (1975) or the Dincer and Dost model (1995) that consider the relation between the internal and external resistance to drying.

The present work aimed to study the convective drying kinetics of persimmon slices pretreated with pulsed vacuum osmotic dehydration with the aid of the models of Fick and Dincer and Dost.

### **3. MATERIALS AND METHODS**

#### **MATERIAL**

Persimmons (*Diospyros kaki* L.) cv Fuyu were selected according to uniform color and regular size, absence of disease and damages. The fruits were stored at 4 °C for 2 to 3 days until processing. The persimmons were washed with tap water and cut at dimensions 4.00 × 2.00 × 0.50 cm (length × width × thickness) with the aid of a stainless steel mold. The samples were composed of the pulp of the fruit. The peel and the seeds were discharged. The moisture content of fresh samples (4.22 ± 0.46, d.b.) was obtained by the gravimetric method in a vacuum oven (≤ 100 mmHg) at 70 °C until constant weight, according to the AOAC (2005) methodology (934.06) AOAC (2005).

#### **PULSED VACUUM OSMOTIC DEHYDRATION (PVOD)**

The system used for the PVOD tests was composed by an osmotic dehydrator covered for a jacket stainless steel with a useful volume of 50 L (Biasinox) with a vacuum

pump (Viana, Corrêa and Justus, 2014). The influences of the variables of PVOD as fructose concentration (30 and 45 ° Brix) and vacuum pulse time (10 and 30 minutes) in the first minutes of each experiment were tested. The ratio of persimmon: solution of 1:10 (w:w) and the vacuum pressure, 100 mbar. The total time of the osmotic dehydration was 120 min. After the osmotic process, the samples were removed from the dehydrator and immersed in a cold water bath to stop the dehydration process. The samples had their surface dried with absorbent paper and were weighted and had their moisture content determined.

## DRYING

The drying of the pretreated samples was performed in a convective drier (40 and 60 °C, 0.5 ms<sup>-1</sup>). The mass of the samples was measured at preset times for obtaining the drying kinetics. The drying was maintained until the samples reached 0.17 ± 0.02 % (d.b).

## DRYING KINETICS

The drying kinetics was mathematically modeled by Fick's diffusional model Crank (1975) and Dincer and Dost (1995) model. These models are concerned in the moisture ratio (MR) (Equation 1):

$$MR = \frac{(M - M_e)}{(M_0 - M_e)} \quad (1)$$

where M is the moisture content at any time of drying, M<sub>0</sub> is the initial moisture content and M<sub>e</sub> the equilibrium moisture content. The equilibrium moisture content of samples was obtained from the literature (TELIS *et al.*, 2000).

## FICK'S MODEL

The Fick's model effective diffusivity is based in the variation of the moisture with time and dimensions, according to Fick's law of diffusion and could be resolved considering semi-infinite plate with thickness 2L, an uniform initial amount of moisture,  $M_{(z,0)} = M_0$ ; the symmetry of concentration,  $\left. \frac{\partial M(t)}{\partial t} \right|_{z=0} = 0$ ; and the equilibrium content at the material surface,  $M_{(L,t)} = M_{eq}$ .

As a result, Fick's unidirectional diffusion equation (Crank, 1975) becomes:

$$MR = \frac{8}{\pi} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{1}{(2n+1)^2} \exp\left[-(2n+1)^2 \frac{\pi^2}{4} \frac{d_{eff} t}{L^2}\right] \quad (2)$$

where  $D_{eff}$  is the water effective diffusivity ( $m^2/min$ ),  $L$  is half of sample thickness (m),  $n$  is the number of terms,  $MR$  is the moisture ratio,  $t$  is the drying time (min).

#### DINCER AND DOST MODEL

Dincer and Dost (1995) proposed a mathematical model based on drying coefficient, Biot number, moisture diffusivity, and moisture transfer coefficient.

The consideration of infinite plate was applied. The MR was defined in terms of the drying coefficient and lag factor according to equation 3.

$$MR = J_1 \exp(-st) \quad (3)$$

where  $J_1$  is the lag factor (dimensionless) and  $S$  is the drying coefficient ( $s^{-1}$ ). By determining  $J_1$  values, the dimensionless Biot number (Bi) was calculated from Equation 4. The water diffusivity was obtained by using Equation 5.

$$J_1 = \exp\left(\frac{0.2533Bi}{1.3 + Bi}\right) \quad (4)$$

$$D = \frac{SL^2}{\mu_1^2} \quad (5)$$

where  $D$  is the water diffusivity ( $m^2 s^{-1}$ ),  $L$  is the half thickness of plate (m) and  $\mu_1$  is the root of the transcendental characteristic equation (dimensionless). In order to facilitate practical application in drying a simplified expression (Equation 6) was developed to calculate  $\mu_1$  with respect to Biot number for infinite plate geometry:

$$\begin{cases} \mu_1 = \frac{\pi}{2} & Bi \geq 100 \\ \mu_1 = \tan^{-1}(0.640443Bi + 0.380397) & 0 < Bi < 100 \end{cases} \quad (6)$$

The moisture transfer coefficient ( $K_m$ ) ( $m s^{-1}$ ) was determined by Equation 7:

$$K_m = \frac{BiD}{L} \quad (7)$$

#### 4. RESULTS AND DISCUSSION

The osmotic dehydration of persimmon resulted in moisture reduction from 4.22 to 2.8 with solution of 30 °B and to 2.5 with solution of 45 °B. It was observed that (Table 1) although there was no significant difference between the data by Tukey test ( $p > 0.5$ ), there was a trend to diminish the moisture content with increase concentration. The vacuum pulse was not influential on the moisture reduction. The difference between the concentrations was small and it should be the reason to the lack of significant difference among the data.

The convective drying kinetics are shown by Figure 1. It can be observed that the osmotic pretreatment carried out to similar kinetics to the untreated samples. Several works reported that osmotic dehydration could aid to reduce drying time (Prothon *et al.*, 2001; An *et al.*, 2013). However, most of those works were about dehydration with sucrose. The use of fructose at low concentration could be the reason of such similar kinetics. Regarding the temperature, it was observed (Figure 1) that the higher temperature, the faster the drying. The influence of temperature is well reported (Doymaz, 2012; Vega-Gálvez *et al.*, 2012; Shi, Zheng and Zhao, 2013). The increase of temperature results in higher excitation of the water molecules inside the material with consequent higher diffusivity and higher vapor pressure. Moreover, the relative humidity is reduced with temperature, improving the process.

#### DRYING KINETICS MODEL

The drying kinetics of persimmon was fitted by two models from the literature. Table 2 presents the parameters of the models like diffusivity and the fitting parameters. It was observed that Fick's model presented a good fit to the experimental data. Values of the effective diffusivity ( $D_{\text{eff}}$ ) of persimmon for different drying treatments have been obtained by conventional solution of Fick's diffusion equation model, as shown in Table 2.

The values of  $D_{\text{eff}}$  ranged from 3.63 to  $7.77 \times 10^{-10} \text{m}^2 \text{s}^{-1}$  according Fick's model. It was observed that the use of pretreatment did not influence the diffusivity values in comparison with no pretreated. As previously reported, a higher temperature caused an increase in diffusivity value, once there is an increase in water mobility in the solid. The values of  $D_{\text{eff}}$  are next to those reported by Doymaz (2012),  $7.05 \times 10^{-11}$  and  $2.34 \times 10^{-10} \text{m}^2 \text{s}^{-1}$  for drying persimmons, and by Guinea *et al.*, (2011),  $4.08 \times$

$10^{-8}$  and  $2.2 \times 10^{-7} \text{m}^2\text{s}^{-1}$  in the convective drying of pumpkin at 30-70 ° C. The diffusivity varies with characteristics of the sample, as variety, composition, geometry, air temperature and pretreatment, which explains some of the differences found in results compared to those reported by the literature.

#### **APPLICATION OF DINCER'S MODEL**

The dimensionless moisture ratio (MR) Eq. 1 was calculated during the process. The results of effective diffusivity ( $D_{\text{eff}}$ ) and  $J_1$  (indicates the internal moisture resistance) and has direct effect on the moisture transfer coefficient (km) as a function of Biot number are shown in Table 2.

For Dincer's model, the values diffusivity showed similar observed behavior with Fick's model with respect to the osmotic treatment and the temperature. The values of effective diffusivity ( $D_{\text{eff}}$ ) ranged from  $1.09 \times 10^{-9}$  to  $8.53 \times 10^{-10} \text{m}^2\text{s}^{-1}$ .

Comparing the behavior of Fick and Dincer (Table 2 and Figure 1), we note that the model of Fick adjusted better. Dincer's model did not present good fit to the experimental data, especially at the beginning of the drying process the Observed in Figura 1. The results are similar to those observed by Sadeghi, Mirzabeigi Kesbi and Mirrei (2013) in the drying of lemon using microwave-convective drying. The Dincer's model presents many other parameters adjustment (Table 2), however, the observed results by adjusting the Fick model are closer to experimental data.

Biot's number indicated the simultaneous presence of internal and external resistance, being lower in no pretreated samples. The lag factor ( $J_1$ ) increased with convective drying without pretreatment indicating the reduction of moisture internal resistance of the samples with the pretreatment. The coefficient of moisture transfer (km) ranged from  $1.41 \times 10^{-7}$  to  $8.81 \times 10^{-9} \text{m}^2\text{s}^{-1}$ , increasing in all cases with PVOD. This shows that in these conditions the mass transfer was higher with pretreated with fructose solution samples.

#### **5. CONCLUSIONS**

The application of higher temperatures during drying of persimmon slices reduced the drying time. Fick's model was most suitable to describe the behavior of osmotically pretreated persimmon (PVOD) during convective drying compared to the model proposed by Dincer.



It was observed that there was no difference in the values of  $D_{\text{eff}}$  for samples treated or not by osmotic dehydration.

## 6. REFERENCES

- AN, K., *et al.* Effect of osmotic dehydration with pulsed vacuum on hot-air drying kinetics and quality attributes of cherry tomatoes. *Drying Technology*, v.31, n.6, p.698-706. 2013.
- AOAC Official methods of analysis of Association of official Analytical Chemists International.: Gaithersburg: Horwitz 2005.
- BARBANTI, D., MASTROCOLA, D. and PIZZARANI, S. Air drying of plums. Influence of some process parameters on the specific drying kinetics. *Sciences des aliments*, v.15, n.1, p.19-29. 1995.
- CHUNG, K. T., *et al.* Tannins and human health: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v.38, n.6, p.421-464. 1998.
- CORRÊA, J. L. G., *et al.* Mass transfer kinetics of pulsed vacuum osmotic dehydration of guavas. *Journal of Food Engineering*, v.96, n.4, p.498-504. 2010.
- CRANK, J. *The mathematics of diffusion*. Clarendon Press: Oxford. 1975
- DINCER, I. and DOST, S. An analytical model for moisture diffusion in solid objects during drying. *Drying Technology*, v.13, n.1-2, p.425-435. 1995.
- DOYMAZ, İ. Evaluation of some thin-layer drying models of persimmon slices (*Diospyros kaki* L.). *Energy Conversion and Management*, v.56, p.199-205. 2012.
- FANTE, C., *et al.* Drying of plums (*Prunus sp.* c.v Gulfb blaze) treated with KCl in the field and subjected to pulsed vacuum osmotic dehydration. *International Journal of Food Science & Technology*, v.46, n.5, p.1080-1085. 2011.
- FITO, P. Modelling of vacuum osmotic dehydration of food. *Journal of Food Engineering*, v.22, n.1, p.313-328. 1994.
- PROTHON, F., *et al.* Effects of Combined Osmotic and Microwave Dehydration of Apple on Texture, Microstructure and Rehydration Characteristics. *LWT - Food Science and Technology*, v.34, n.2, 3//, p.95-101. 2001.
- RAO, A. and RAO, L. G. Carotenoids and human health. *Pharmacological research*, v.55, n.3, p.207-216. 2007.
- SHI, Q, ZHENG, Y. and ZHAO, Y. Mathematical modeling on thin-layer heat pump drying of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) slices. *Energy Conversion and Management*, v.71, p.208-216. 2013.
- TELIS, V., *et al.* Water sorption thermodynamic properties applied to persimmon skin and pulp. *Thermochimica Acta*, v.343, n.1, p.49-56. 2000.

VEGA-GÁLVEZ, A., *et al.* Effect of temperature and air velocity on drying kinetics, antioxidant capacity, total phenolic content, colour, texture and microstructure of apple (var. Granny Smith) slices. *Food Chemistry*, v.132, n.1, p.51-59. 2012.

VIANA, A. D., CORRÊA, J. L. G. and JUSTUS, A. Optimisation of the pulsed vacuum osmotic dehydration of cladodes of fodder palm. *International Journal of Food Science & Technology*, v.49, n.3, p.726-732. 2014.

VIEITES, R. L. Caqui. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v.34. 2012.

## 7. TABLES AND FIGURES

**TABLE 1.** Experimental design and final moisture content in different conditions do pretreatment

| OSMOTIC DEHYDRATION |                        |                         |                                     | DRYING                            |                                    |
|---------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|
| Test                | fructose concentration | Vaccum pulse time [min] | Moisture contente [kgw/kgsc] (b.s.) | Air velocity [ $\text{ms}^{-1}$ ] | Temperature [ $^{\circ}\text{C}$ ] |
| 1                   | 30 °B                  | 10                      | 2.74 +0.16                          | 0.5                               | 40 °C                              |
| 2                   | 30 °B                  | 30                      | 2.90+0.07                           | 0.5                               | 40 °C                              |
| 3                   | 30 °B                  | 10                      | 2.74+0.16                           | 0.5                               | 60 °C                              |
| 4                   | 30 °B                  | 30                      | 2.90+ 0.07                          | 0.5                               | 60 °C                              |
| 5                   | 45 °B                  | 10                      | 2.41+0.34                           | 0.5                               | 40 °C                              |
| 6                   | 45 °B                  | 30                      | 2.51+ 0.05                          | 0.5                               | 40 °C                              |
| 7                   | 45 °B                  | 10                      | 2.41 + 0.34                         | 0.5                               | 60 °C                              |
| 8                   | 45 °B                  | 30                      | 2.51+ 0.05                          | 0.5                               | 60 °C                              |
| 9                   | *                      | *                       | -                                   | 0.5                               | 40 °C                              |
| 10                  | *                      | *                       | -                                   | 0.5                               | 60 °C                              |

\* No pretreated

**TABLE 2.** Parameters and determination coefficients of Fick's and Dincer and Dost model for dried persimmon

| FICK MODEL |   |                |                |        | DINCERAND DOST MODEL                        |                |       |                |                   |         |                |
|------------|---|----------------|----------------|--------|---|----------------|-------|----------------|-------------------|---------|----------------|
| Teste      | $D_{eff} (m^2 \cdot s^{-1}) \times 10^{10}$ | SD x $10^{11}$ | R <sup>2</sup> | % var  | $D_{eff} (m^2 \cdot s^{-1}) \times 10^{10}$ | SD x $10^{11}$ | Bi    | J <sub>1</sub> | $K_m \times 10^7$ | $\mu_1$ | R <sup>2</sup> |
| 1          | 4.83  | 6.00           | 0.9954         | 99.151 | 2.17  | 3.19           | 0.520 | 0.969          | 881               | 2.279   | 0.9854         |
| 2          | 3.85  | 2.83           | 0.9951         | 99.306 | 5.36  | 2.97           | 0.628 | 0.789          | 1.67              | 1.005   | 0.9800         |
| 3          | 6.11  | 7.16           | 0.9958         | 99.409 | 1.58  | 0.127          | 0.764 | 0.697          | 3.60              | 0.844   | 0.9058         |
| 4          | 6.29  | 3.95           | 0.9924         | 98.654 | 1.16  | 0.150          | 0.644 | 0.896          | 1.41              | 0.986   | 0.9403         |
| 5          | 3.63  | 6.59           | 0.9890         | 98.202 | 8.53  | 0.156          | 0.792 | 0.673          | 2.01              | 0.813   | 0.9070         |
| 6          | 4.31  | 4.94           | 0.9949         | 98.844 | 0.130                                       | 34.1           | 0.882 | 0.586          | 2.27              | 0.723   | 0.88,18        |
| 7          | 5.78  | 0.00174        | 0.9968         | 99.61  | 0.109                                       | 0.214          | 0.618 | 0.795          | 2.00              | 1.019   | 0.9541         |
| 8          | 6.98  | 0.147          | 0.9972         | 99.451 | 0.155                                       | 5.19           | 0.756 | 0.703          | 3.49              | 0.853   | 0.9198         |
| 9          | 3.93  | 3.22           | 0.9986         | 99.523 | 4.72  | 0.279          | 0.302 | 0.926          | 42.5              | 1.546   | 0.9943         |
| 10         | 7.77  | 0.1            | 0.9982         | 99.581 | 6.40  | 0.0149         | 0.414 | 0.888          | 78.8              | 1.328   | 0.9658         |

\*SD = standard deviation

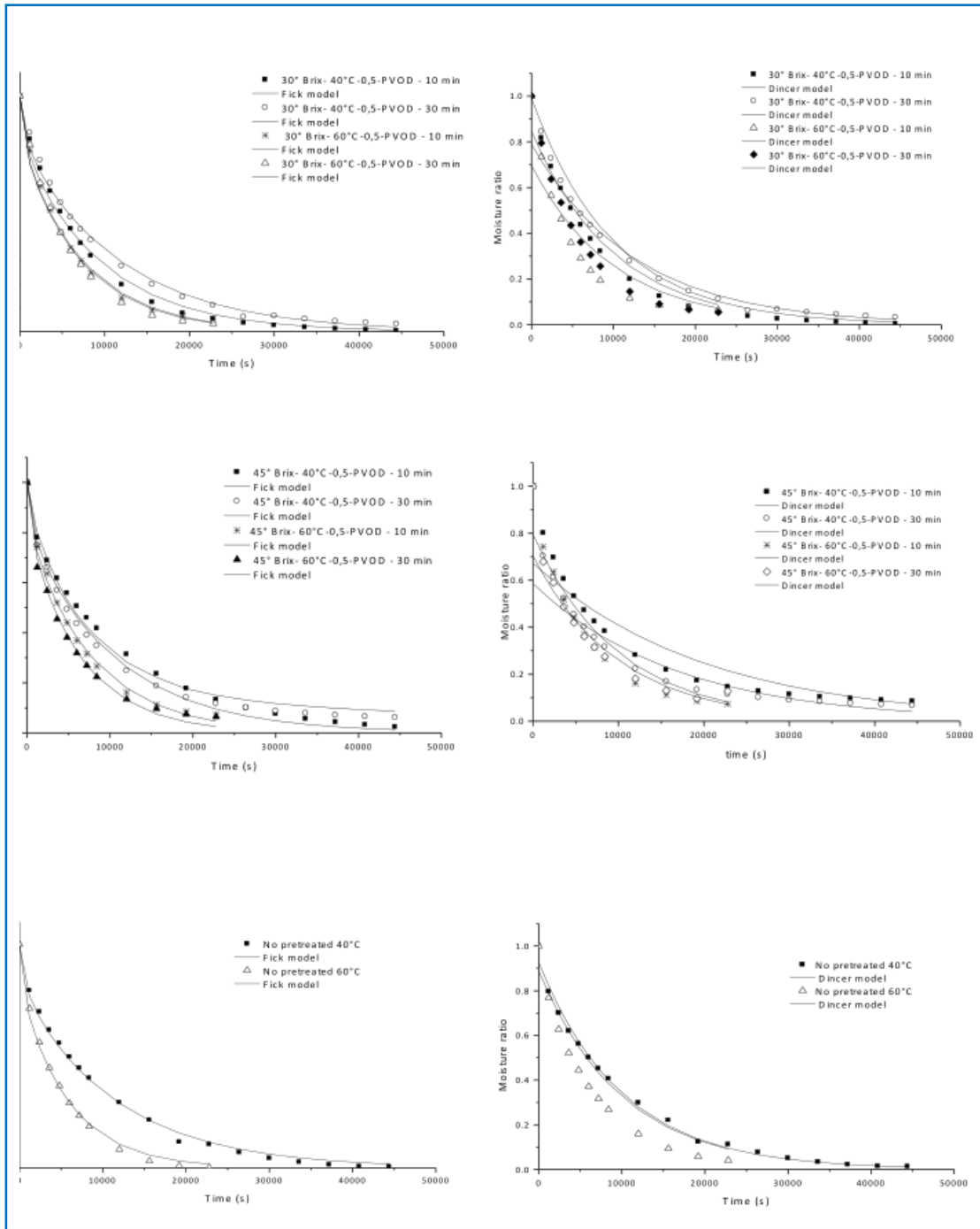


FIGURE 1. Drying kinetics of persimmon slices model

# OPTIMIZACIÓN DE LAS VARIABLES DE PRETRATAMIENTO (MICROONDAS) EN LA EXTRACCIÓN DE ACEITE DE CANOLA

Luciana Berenice Ramos<sup>1</sup>, Ramiro Julián Sánchez<sup>1</sup>, Ana Karina de Figueiredo<sup>1</sup>, Guillermo Héctor Crapiste<sup>3</sup>, Susana María Nolasco<sup>1</sup>, María Belén Fernández<sup>1,2</sup>

## 1. RESUMEN

El aceite de canola es clasificado como uno de los aceites vegetales más saludables debido a su composición de ácidos grasos (bajo contenido de ácidos grasos saturados y gran cantidad de ácidos grasos esenciales). Dada sus propiedades físico-químicas, es además adecuado para la producción de combustibles alternativos al petróleo. Los tratamientos previos a la etapa de extracción debilitan las membranas celulares facilitando la liberación del aceite, por lo que en las últimas décadas ha crecido la demanda de nuevas técnicas, como la radiación por microondas, que acorten los tiempos de extracción y disminuyan el consumo de solventes orgánicos. En este trabajo se irradiaron con microondas granos de canola a dos potencias absorbidas: 457 W y 607 W. Se utilizó un diseño central compuesto con ocho réplicas del centro, siendo las variables del proceso estudiadas (factores) humedad inicial del grano y tiempo de tratamiento por microondas; cada una en 5 niveles, de 5 a 10 % b.s. y de 0,17 a 5,83 min, respectivamente. Tanto las muestras tratadas como la muestra sin tratar fueron sometidas a molienda y posterior extracción del aceite por Soxhlet (hexano), durante 4 hs. Para el análisis de las variables, se empleó la metodología de superficie de respuesta, obteniéndose modelos de ajuste para el rendimiento de aceite. Para ambas potencias, se observó un aumento del rendimiento de aceite con el incremento del tiempo de

---

CONTACTO: Ramiro J. Sánchez [ramiro.sanchez@fio.unicen.edu.ar](mailto:ramiro.sanchez@fio.unicen.edu.ar)

María Belén Fernández [mbfernan@fio.unicen.edu.ar](mailto:mbfernan@fio.unicen.edu.ar)

1. Núcleo TECSE, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Olavarría, Argentina.

2. CIFICEN, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires – CONICET, Tandil, Argentina.

3. Planta piloto de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Sur – CONICET, Bahía Blanca, Argentina.

pretratamiento, mientras que a mayor humedad inicial de la muestra, el rendimiento disminuyó. El modelo determinado para representar los datos de rendimiento de aceite resultó adecuado y permitió optimizar las variables estudiadas en función de esta respuesta (5,2 y 5,7 % b.s. de humedad; 4,2 y 5,0 minutos, para 457 y 607 W de potencia respectivamente). Finalmente, se logró un aumento del rendimiento de aceite en los respectivos óptimos debido al pretratamiento aplicado con ambas potencias (aproximadamente entre 6 y 12 %), destacándose que con el pretratamiento a 607 W se obtuvo un rendimiento de aceite (50,9 % b.s.) significativamente mayor que a 457 W (48,5 % b.s.). En las condiciones óptimas, en general no se detectaron diferencias significativas en el contenido de tocoferoles e índices de calidad del aceite (acidez libre e índice de peróxido) entre las muestras tratadas y sin tratar.

## 2. INTRODUCCIÓN

El aceite de canola es el tercer aceite más producido a nivel mundial, a su vez, es reconocido como uno de los aceites más importantes nutricionalmente dada su composición de ácidos grasos, con una adecuada relación de ácidos grasos esenciales  $\omega$ -6 y  $\omega$ -3 (aproximadamente 2:1) y niveles significativos de fitoesteroles, conocidos inhibidores de la absorción del colesterol. La obtención convencional de aceites a partir de semillas oleaginosas se lleva a cabo industrialmente por prensado y/o extracción con solvente (hexano). En las últimas décadas ha habido una demanda creciente de nuevas técnicas de pretratamiento y/o extracción, que acorten los tiempos de extracción y disminuyan el consumo de solventes orgánicos, reduciendo a su vez la contaminación. Entre los pretratamientos de tecnología emergente se incluyen la radiación por microondas, ultrasonido y pretratamientos enzimáticos. La tecnología de microondas ofrece tiempos de procesamiento reducidos y ahorros energéticos, ya que la energía es entregada directamente a los materiales a través de interacción molecular con el campo electromagnético, de manera que el calor es generado a través del volumen del material y es posible alcanzar un calentamiento rápido y uniforme en materiales de un espesor relativamente mayor (Uquiche *et al.*, 2008). El objetivo del presente trabajo fue analizar la influencia, sobre el rendimiento y la calidad del aceite extraído con solvente, y optimizar las variables (humedad inicial y tiempo de pretratamiento) del proceso de pretratamiento asistido por microondas del grano de canola.

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **MATERIA PRIMA**

Se utilizaron granos de canola Hornet obtenida comercialmente, los cuales se caracterizaron en función del contenido de aceite (IUPAC 1.122 1992), humedad (ASAE S352.2 DEC 97, 1999), proteínas (AOCS Ai 4-91, 1997), fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácida (FDA) y lignina (Goering y Van Soest, 1970). El contenido de hemicelulosa y celulosa se evaluó como las diferencias entre FDN y FDA y entre FDA y lignina, respectivamente.

#### **PRETRATAMIENTO CON MICROONDAS**

Se utilizó un microondas BGH Quick Chef (modelo 36960, 2450 MHz, Argentina), el mismo fue calibrado (agua, tratamiento durante un minuto) para obtener las potencias absorbidas por las muestras. Para cada tratamiento, se colocaron 45 g de muestra repartida en 5 cápsulas de vidrio (10 cm de diámetro) dentro del microondas. Las muestras fueron tratadas con el 80 y 100 % de potencia del microondas (457 W y 607 W de potencia absorbida).

#### **ESTUDIO DE LAS VARIABLES DEL PROCESO Y OPTIMIZACIÓN.**

Para el estudio de variables de proceso (contenido de humedad y tiempo de tratamiento por microondas) sobre el rendimiento de aceite, se empleó la metodología de superficie de respuesta (Montgomery, 1991). Se empleó un diseño central compuesto (factorial completo  $2^2$ , más puntos con configuración estrella) con 8 réplicas del centro. Los factores analizados son tiempos de tratamiento (0,17 - 5,83 minutos) y humedad del grano (5 - 10 % b.s.). El acondicionamiento de las muestras a diferentes humedades se realizó por secado en estufa de aire forzado a 35 °C o por humidificación mediante el rociado con la cantidad de agua necesaria. El orden en que se realizaron los ensayos del diseño experimental se determinó aleatoriamente (Función Random, Microsoft Excel, 2010). Para el análisis estadístico de las respuestas, el desarrollo de modelos a partir de datos experimentales, la construcción de superficies de respuesta y la predicción de las condiciones que mejoran el rendimiento de aceite se empleó el software Statgraphics Centurión XVI.I.

Los datos experimentales se ajustaron a un modelo polinomial de segundo orden generalizado según la ecuación (1):

$$Y_i = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_{11}X_1^2 + b_{22}X_2^2 + b_{12}X_1X_2 \quad (1)$$

Donde  $Y_i$  (variable dependiente) es la respuesta, rendimiento de aceite;  $X_1^1$  (Contenido de humedad) y  $X^2$  (Tiempo de tratamiento) representan las variables independientes en valores codificados. A los fines de validar el modelo, se realizó un ensayo experimental adicional, en diferentes condiciones a las del diseño experimental planteado. Además, se optimizó la respuesta rendimiento de aceite maximizándolo en función del modelo hallado.

#### **EXTRACCIÓN DEL ACEITE POR SOLVENTE Y MEDIDAS DE CALIDAD**

El aceite fue extraído de los granos según el método IUPAC 1.122 (1992). El tiempo de extracción empleado fue de 4 horas, siendo el óptimo determinado por Ramos *et al.* (2013) para la extracción de aceite de canola pretratada con microondas.

La acidez libre y el índice de peróxido del aceite se determinaron empleando los métodos IUPAC 2.201 y 2.501 (1992), respectivamente. La concentración de tocoferoles en el aceite de canola se cuantificó según la metodología AOCS Ce 8-89 (AOCS, 1997). Se utilizó un equipo Dionex Ultimate 3000 (Thermo Scientific, Germany) con detector de fluorescencia (Agilent, 1100 Series Fluorescence Detector G1321A, Palo Alto, CA, USA) con un set de excitación/emisión de 290/330 nm, con una columna HicCHROM, Lichrosorb Si 60, 250×4,6 mm i.d. y 5 µm de tamaño de partícula. Se usó hexano:isopropanol (99,5:0,5 v/v) como fase móvil, con un flujo de 1,5 ml/min.

A los fines de detectar si existen diferencias entre las características de calidad observadas en el aceite obtenido de la muestra sin tratar respecto al aceite extraído a partir de la muestra irradiada con microondas se utilizó el análisis de la varianza (ANOVA) en conjunto con el Test de Tukey, considerándose que las medias eran significativamente diferentes si  $p < 0,05$  (Infostat, 2004).



## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### CARACTERIZACIÓN DE LA MATERIA PRIMA

En la Tabla 2 se muestra la caracterización de los granos de canola Hornet utilizados en el presente trabajo. Los granos presentaron un contenido de aceite dentro del rango reportado en la literatura (33-55 %, Windauer y Ploschuk, 2006). Por otra parte, la harina residual de extracción (harina desgrasada) presentó un contenido de proteína de 14,4 % (en base seca), que corresponde a un valor de 29,6 % en base a harina desgrasada menor a los valores reportados por Thakor *et al.* (1995, 38-43 %). El contenido de FDN en harina desgrasada es de 30,9 % similar al encontrado por Slominski *et al.* (1994; 25,7 % b.s.).

### ANÁLISIS ESTADÍSTICO Y EFECTOS DE LAS VARIABLES DEL PROCESO

Los efectos de las diferentes condiciones de pretratamiento por microondas sobre el rendimiento de extracción para ambas potencias absorbidas (457 y 607 W) se informan a través de los coeficientes de los polinomios de segundo orden establecidos (Tabla 3).

Para 457 W de potencia, los factores tiempo y humedad inicial presentan efectos lineales y cuadráticos estadísticamente significativos sobre el rendimiento de aceite, resultando también significativo el término de interacción entre dichas variables independientes ( $p \leq 0,05$ ). Mientras que para la potencia de 607 W solamente fueron significativos los efectos lineales de ambas variables independientes y el término cuadrático del tiempo de tratamiento ( $p \leq 0,05$ ). Para ambos casos (457 W y 607 W de potencia absorbida), se puede observar que el rendimiento de aceite se incrementa a medida que se aumenta el tiempo de pretratamiento; en contraste, el rendimiento disminuye a medida que la humedad inicial aumenta.

La ecuación (3) presenta el modelo simplificado (despreciando los términos no significativos), para el rendimiento a 607 W de potencia de microondas ( $R^2_{aj.} = 0,89$ . Valor p falta de ajuste = 0,1647).

$$Y_1 = 49,34 - 0,6234X_1 + 1,317X_2 - 0,2913X_2^2 \quad (3)$$

Para una mayor visualización, las superficies de respuesta de los modelos simplificados se muestran en la Figura 1, donde se puede ver el efecto de los factores

Humedad inicial ( $X_1$ ) y Tiempo ( $X_2$ ) sobre el rendimiento de aceite extraído por solvente.

Los valores de  $R^2$  denotan una buena correlación entre los valores observados y los predichos por los modelos, indicando que más del 80 % de la variabilidad de las respuestas pueden ser explicadas por estos modelos. Asimismo, la prueba de falta de ajuste con valores  $p$  superiores a 0,05 en todos los casos, en conjunto con los  $R^2$  mayor a 0,8 permitiría inferir, en principio, que el modelo desarrollado sería adecuado para describir los valores de rendimiento de aceite dentro del rango experimental evaluado (Ixtaina *et al.*, 2010). Sin embargo se hace necesario un ensayo de confirmación de estos modelos a los fines de asegurar su validez.

### VALIDACIÓN DEL MODELO Y OPTIMIZACIÓN

A los fines de validar los modelos, se utilizó para ambos casos el punto (-1,3; 0,67) correspondiente a 5,2 % b.s. y 4,2 min. En el caso del pretratamiento a 457 W, el valor predicho del rendimiento de aceite es del 48,86 %, siendo el valor observado 48,47 %; lo que arroja un error relativo de 0,8 %. Para 607 W, el valor predicho fue de 50,90 % y el valor observado 51,36 %, arrojando un error relativo de 0,9 %. En función de los errores obtenidos, se puede inferir que el modelo es adecuado para predecir el rendimiento de extracción.

Los valores óptimos del pretratamiento con microondas para la extracción de aceite con sus respectivas respuestas se muestran en la Tabla 4. El pretratamiento a 607 W de potencia permitió obtener un rendimiento de aceite significativamente mayor que a 457 W de potencia. Asimismo, ambos rendimientos fueron mayores, estadísticamente significativos, al obtenido, en iguales condiciones de extracción, a partir de la muestra sin tratar con su humedad inicial -MST (45,7 % b.s.). Estos resultados podrían asociarse a un efecto del pretratamiento más pronunciado debido a la aplicación de potencia superior, lo que conlleva a una menor humedad final y, a su vez, a una mayor modificación de la estructura celular (Azadmard-Damirchi *et al.*, 2010).

Para corroborar que el incremento del rendimiento de aceite por el pretratamiento aplicado a los granos se obtiene a partir de un cambio en la estructura de los granos y no sólo por la humedad final de los mismos, se secaron granos en estufa de circulación forzada a 35 °C hasta una humedad final igual a la obtenida en las muestras tratadas a ambas potencias en las condiciones óptimas (3,3 % b.s. y 2,3 % b.s. para 607 W y 457 W, respectivamente), realizándose una posterior extracción del

aceite. En las muestras sin tratamiento con microondas se obtuvo un rendimiento menor (43,50 y 42,94 % b.s.) al hallado en las tratadas con microondas (50,99 % b.s. y 48,47 % b.s., respectivamente).

#### **ANÁLISIS DEL ACEITE OBTENIDO EN EL PUNTO ÓPTIMO**

En la Tabla 5 se muestran los índices de calidad, acidez libre e índice de peróxidos (I.P.), y el contenido de tocoferoles para las muestras tratadas con microondas en las condiciones indicadas en la Tabla 4 y para la muestra sin tratar. Al comparar el aceite obtenido de las muestras tratadas (457 y 607 W) entre sí y con la muestra sin tratar (MST), no se detectan diferencias estadísticamente en los índices de calidad analizados ni en el contenido de tocoferoles, exceptuando el mayor índice de peróxidos en el aceite de la muestra con un pretratamiento a 457 W (Tabla 5). El menor índice de peróxido en el aceite obtenido a partir de granos pretratados con microondas a 100 % de la potencia del equipo respecto al pretratado a 80 % de la misma, y similar al del aceite proveniente de granos sin tratar, podría estar asociado a la formación de compuestos fenólicos con alto poder antioxidante durante el pretratamiento con microondas. Spielmeyer *et. al.* (2009), observaron un aumento del 576 % en el contenido de canolol (4-vinilsiringol) en granos de colza tratados con microondas durante 4,5 minutos. Futuras investigaciones son necesarias al respecto.

Chu (1995) observó en soja un aumento en el contenido de tocoferoles en el aceite al aplicar el pretratamiento con microondas a granos con humedad inicial entre 15 y 18 %, pero a menor humedad (12 %) , dicho contenido no fue afectado significativamente. En el presente trabajo, a un contenido inicial de humedad del grano de canola del 5,2 % b.s. el contenido de tocoferoles no fue afectado significativamente por los tratamientos aplicados. Estos resultados sugieren que bajos contenidos de humedad en los granos ayudarían a mantener el contenido de tocoferoles en los granos al ser tratados con microondas.

#### **5. CONCLUSIONES**

El pretratamiento de los granos con microondas, previo al proceso de extracción sólido-líquido, permitió aumentar el rendimiento de aceite, siendo superior a la mayor potencia utilizada. Para ambas potencias analizadas, el rendimiento del aceite aumentó con el incremento del tiempo de pretratamiento, mientras que un au-

mento de la humedad inicial del grano impactó negativamente en el mismo. Los modelos matemáticos estadísticamente significativos determinados para representar los datos del rendimiento de aceite permitieron optimizar las variables del pretratamiento con microondas. Los resultados de optimización mostraron que las condiciones óptimas del pretratamiento con microondas (457 W y 607 W) para maximizar el rendimiento de aceite, consisten en tratar durante 4,2 y 5,0 minutos los granos de canola con un contenido de humedad del 5,2 y 5,7 % b.s., respectivamente. En general, en las condiciones óptimas no se detectaron diferencias significativas en el contenido de tocoferoles e índices de calidad del aceite (acidez libre e índice de peróxido). Sin embargo, se identificó una disminución en el índice de peróxidos en la muestra tratada a 607 W con respecto a la tratada a 457 W posiblemente asociada a la acción de compuestos antioxidantes formados durante el pretratamiento.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOCS (1997). Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society, 5th edn., D. Firestone (ed), AOCS Press, Champaign.
- ASAE. (1999). Standard Engineering Practices data, 46 th edn. American Society of Agricultural Engineers, St. Joseph, USA.
- AZADMARD-DAMIRCHI S., Habibi-Nodeh F., Hesari J., Nemati M., Achachlouei B.M. (2010). Effect of pretreatment with microwaves on oxidative stability and nutraceuticals content of oil from rapeseed. *Food Chemistry* 121: 1211–1215.
- CHU, Y. (1995). Effects of Soybean Pretreatments on Crude Oil Quality. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 67: 368-372.
- GOERING, H. K., Van Soest P. J. (1970). Forage Fiber Analysis (Apparatus, Reagents, Procedures and Some Applications). *Agriculture Handbook*, U.S. Department of Agriculture. 379.
- IUPAC (1992). Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivatives, 7th edn., edited by C. Paquot and A. Hautfenne, International Union of Pure and Applied Chemistry, Blackwell Scientific, Oxford.
- IXTAINA, V.Y., Vega, A., Nolasco, S. M., Tomás M.C., Gimeno M., Bázquez E., Tecante A.. (2010). Supercritical carbon dioxide extraction of oil from Mexican chia seed (*Salvia hispanica* L.): Characterization and process optimization. *The Journal of Supercritical Fluids* 55: 192-199.

- MONTGOMERY D.C. (1991). Diseño y Análisis de experimentos. Editorial Grupo Editorial Iberoamérica. México, 369.
- RAMOS L. B.; de Figueiredo A. K.; Crapiste G. H.; Nolasco S. M.; Fernández M. B. (2013). Aplicación de tecnología emergente (microondas) en la extracción de aceite de canola. VII Congreso Argentino de Ingeniería Química y 2da Jornadas Argentinas de Seguridad de procesos (CAIQ 2013 y 2da JASP), Santa Fe, Argentina. ISSN: 1850-3519.
- SŁOMINSKI B.A., Campbell L.D., Guenter W. (1994). Carbohydrates and Dietary Fiber Components of Yellow- and Brown-Seeded Canola. Journal of Agriculture and Food Chemistry 42: 704 - 707.
- SPIELMEYER A., WAGNER A., JAHREIS G. (2009). Influence of thermal treatment of rapeseed on the canolol content. Food Chemistry 112: 944-948.
- THAKOR N. J., Sokhansanj S., Sosulski F.W., Yannacopoulos S. (1999). Mass and dimensional changes of single canola kernels during drying. Journal of Food Engineering 40: 153-160.
- UQUICHE E., Jerez M., Ortiz J. (2008). Effect of pretreatment with microwaves on mechanical extraction yield and quality of vegetable oil from Chilean hazelnuts (*Gevuina avellana* Mol). Innovative Food Science and Emerging Technologies 9: 495-510.
- WINDAUER L.B., Ploschuk E.L. (2006). Cultivos productores de aceites. En de la Fuente E.B., Gil A., Gimenez P.I., Kantolic A.G., López Pereira M., Ploschuk E.L., Sorlino D.M., Vilariño P., Wassner D.F., Windauer L.B. (Eds). Cultivos Industriales. Editorial Facultad de Agronomía (UBA). Buenos Aires, Argentina. 65.

## 7. TABLAS Y FIGURAS

**TABLA 1.** Caracterización de los granos de canola Hornet

| COMPONENTES (% b.s.) | CANOLA |
|----------------------|--------|
| Humedad              | 8,0    |
| Aceite               | 51,5   |
| Proteína             | 14,4   |
| FDN                  | 15,0   |
| FDA                  | 11,9   |
| Lignina              | 4,7    |
| Celulosa             | 7,3    |
| Hemicelulosa         | 3,1    |

b.s.: base seca.

**TABLA 2.** Coeficientes de regresión del modelo establecido para el rendimiento de aceite en función de la humedad inicial del grano y el tiempo de tratamiento, R<sup>2</sup>, y p o valores de probabilidad. Factores: Humedad inicial y Tiempo de tratamiento. Respuesta:

| Rendimiento de extracción |                |                |                |                 |                 |                 |                              |                         |      |
|---------------------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------------------|-------------------------|------|
| COEFICIENTES DE REGRESIÓN | b <sub>0</sub> | b <sub>1</sub> | b <sub>2</sub> | b <sub>11</sub> | b <sub>22</sub> | b <sub>12</sub> | R <sup>2</sup> <sub>aj</sub> | valor p falta de ajuste |      |
| POTENCIA ABSORBIDA (W)    | 457            | 46,74          | -1,90***       | 0,84***         | -0,63**         | -0,95***        | -0,67**                      | 0,96                    | 0,60 |
|                           | 607            | 49,41          | -0,62***       | 1,32***         | -0,14           | -0,29*          | -0,10                        | 0,88                    | 0,10 |

Subíndices: 1 = humedad inicial, 2 = tiempo de pretratamiento.

\*Significativo a nivel 0,05; \*\*Significativo a nivel 0,01; \*\*\*Significativo a nivel 0,001.

**TABLA 3.** Valores óptimos experimentales para el rendimiento a potencias 457 y 607 W

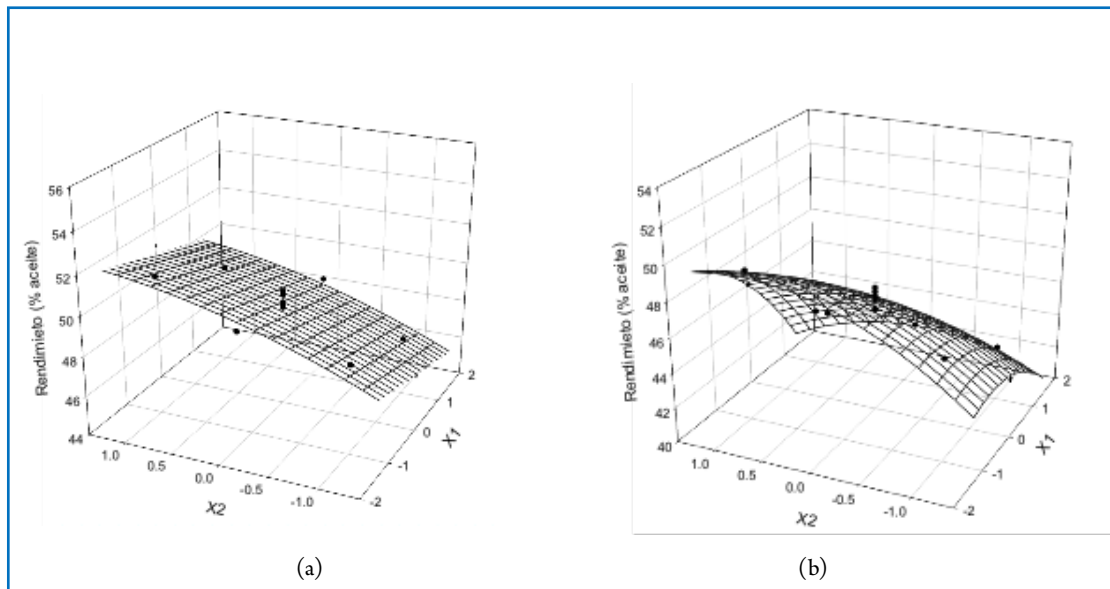
| Potencia absorbida (W) | X <sub>1</sub> | X <sub>2</sub> | Humedad (% b.s.) | Tiempo (min.) | Rendimiento (%) |
|------------------------|----------------|----------------|------------------|---------------|-----------------|
| 457                    | -1,3           | 0,67           | 5,2              | 4,2           | 48,47           |
| 607                    | -1             | 1              | 5,7              | 5,0           | 50,99           |

**TABLA 4.** Índices de calidad y contenido de tocoferoles para las muestras tratadas y sin tratar

| DETERMINACIÓN             | SIN TRATAR                | 457 W                     | 607 W                     |
|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Acidez libre (% oleico)   | 0,81 <sup>a</sup> ± 0,016 | 0,77 <sup>a</sup> ± 0,010 | 0,79 <sup>a</sup> ± 0,002 |
| I.P (meq/kg)              | 1,75 <sup>a</sup> ± 0,030 | 1,92 <sup>b</sup> ± 0,010 | 1,81 <sup>a</sup> ± 0,015 |
| Tocoferoles totales       | 732 <sup>a</sup> ± 16,8   | 698 <sup>a</sup> ± 4,5    | 715,3 <sup>a</sup> ± 1,3  |
| α-tocoferol (µg/g aceite) | 292 <sup>a</sup> ± 6,1    | 280 <sup>a</sup> ± 1,6    | 287,5 <sup>a</sup> ± 0,9  |
| β-tocoferol (µg/g aceite) | 2 <sup>a</sup> ± 0,2      | 2 <sup>a</sup> ± 0,1      | 2 <sup>a</sup> ± 0,1      |
| γ-tocoferol (µg/g aceite) | 437 <sup>a</sup> ± 9,5    | 415 <sup>a</sup> ± 2,9    | 426 <sup>a</sup> ± 0,6    |

Medias con una letra común en la misma línea no son significativamente diferentes

(Test de Tukey, p>0,05)



**FIGURA 1.** Superficie de respuesta de los modelos simplificados en función de los valores codificados. Respuesta: Rendimiento de aceite (% b.s.). (a) Potencia de microondas 607W.  
(b) Potencia de microondas 457 W

# EFFECTO DE LA HUMIDIFICACIÓN DURANTE EL HORNEADO EN LA CALIDAD DE PANIFICADOS DULCES

Micaela Ureta<sup>1</sup>, Daniela Olivera<sup>1,3</sup>, Viviana Salvadori<sup>1,2</sup>

## 1. RESUMEN

El horneado es una etapa muy importante en la elaboración de panificados debido a que implica numerosos cambios físicos, químicos y bioquímicos, entre otros la evaporación de agua, la formación de la estructura de la miga, la expansión de volumen, la desnaturalización de las proteínas y la gelatinización del almidón. Las condiciones operativas del proceso son determinantes a la hora de obtener las características deseadas de calidad final. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto combinado de la temperatura de proceso y la incorporación de vapor de agua a la cámara de cocción durante el horneado en la calidad final de un panificado dulce, *madalena*. Se utilizó un horno semi-industrial con convección forzada, operando con y sin inyección de vapor en el rango de temperaturas de 140 °C a 220 °C. Se determinó el rendimiento del proceso, así también como el espesor de corteza mediante ultrasonido, el contenido de humedad tanto de corteza como de miga, y se cuantificó la relación corteza/miga del producto obtenido. Adicionalmente, se caracterizó la estructura de la miga: densidad, porosidad y textura. La incorporación de vapor de agua a la cámara de horneado permitió obtener un producto con menor espesor de corteza. Esta disminución se corrobora en la pérdida de peso, considerada una medida directa del rendimiento. Para altas temperaturas de operación la presencia de humedad generó un producto con miga más porosa, aireada y liviana, de menor densidad. Por último, la relación masa de corteza / masa de miga también resulta menor al agregar humidificación. En términos generales, la humidi-

---

CONTACTO: Daniela Olivera [danielaolivera@conicet.gov.ar](mailto:danielaolivera@conicet.gov.ar)

1. Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA - CONICET La Plata). Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina.

2. Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de La Plata.

3. Facultad de Veterinaria, Universidad Nacional de La Plata.



ficación permite obtener un producto con atributos altamente apreciados por parte de los consumidores.

## 2. INTRODUCCIÓN

Las *madalenas*, producto de gran consumo en varios países europeos y de América Latina con apariencia similar a la de una torta pequeña, pertenecen al grupo de panificados batidos debido a que para su preparación los ingredientes son mezclados hasta formar una emulsión. Durante el horneado, dicha emulsión se convierte en una estructura sólida porosa gracias a numerosos cambios físicos, químicos y bioquímicos, entre otros la evaporación de agua, la formación de la estructura de la miga, la expansión de volumen, la desnaturalización de las proteínas y la gelatinización del almidón.

Las condiciones operativas del proceso de horneado son determinantes a la hora de obtener las características deseadas de calidad final. La posibilidad de generar un ambiente saturado en la cámara del horno en la práctica panadera afecta el avance de la reacción de Maillard (responsable del desarrollo del color del panificado), la velocidad de cocción, y el desarrollo de las reacciones responsables de las características sensoriales del producto. Esto se ve reflejado en atributos de calidad de la corteza, como espesor, contenido de humedad y color, y en las características de expansión volumétrica que afectan directamente el tamaño y forma del producto horneado (Le Bail y col., 2011).

En este sentido Xue y col. (2004) estudiaron diferentes atributos de calidad de pan, bizcochuelo y galletitas horneados con distintos niveles de humedad en la cámara del horno; encontrando que al aumentar la humedad en la cámara del horno se obtienen productos con un color superficial más claro, de mayor volumen específico y mayor rendimiento, menor pérdida de contenido de humedad, y de menor firmeza en los tres tipos de productos panificados estudiados.

Por su parte, Sommier y col. (2005) monitorearon la pérdida de masa, la expansión volumétrica y la formación de corteza durante el horneado de pan francés variando la temperatura del horno y la cantidad de vapor inyectado. Los autores encontraron que la inyección de vapor durante la primera etapa del proceso favorece la expansión global, el desarrollo gradual de la corteza y disminuye la constricción volumétrica sobre el final del proceso de cocción del pan francés.

Schirmer y col. (2011) estudiaron la influencia del vapor agregado en la cámara del horno teniendo en cuenta también la cantidad de humedad liberada por el producto durante el proceso de cocción de pan. Como conclusiones generales establecieron que la humedad del aire en la cámara del horno afecta directamente al espesor de la corteza y a su color y luminosidad.

En el marco de un estudio completo acerca del efecto de distintas condiciones de horneado, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto combinado de la temperatura de proceso y la incorporación de vapor de agua a la cámara de cocción durante el horneado en la calidad final de un panificado dulce, *madalena*.

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **MUESTRAS**

Las madalenas fueron preparadas a partir de una premezcla comercial (Satin Tregal Cream Cake Purato S.A.), la cual se bate junto con margarina, leche y huevo, obteniendo como resultado una emulsión fluida. La composición nutricional de la mezcla preparada, calculada en base a las fracciones en masa de los distintos ingredientes consiste en 46.2 % de hidratos de carbono, 5.3 % de proteínas, 14.0 % de grasas y 34.5 % de agua. Para cada muestra, se dosificaron 40 g de emulsión en un molde individual de aluminio de 47 mm de diámetro y 50 mm de alto.

#### **COCCIÓN /HORNEADO**

Las experiencias de horneado se realizaron en un horno eléctrico semi-industrial de convección forzada, Multiequip HCE-3, cuyas dimensiones útiles son 0.42 m largo, 0.40 m de profundidad y 0.35 m de altura (58 l de volumen útil). La circulación de aire es propulsada por un ventilador que provee una velocidad de circulación de aire igual a 2.8 m/s. El equipo está equipado con un depósito externo de agua líquida, que permite la inyección de pequeños volúmenes de agua que se vaporizan en el interior de la cámara de cocción. En consecuencia, los ensayos se efectuaron bajo dos modos: convección forzada (CF) y convección forzada con humidificación (CFH). Para este último, se inyectó vapor en tres instantes de la cocción: al comienzo de la misma y en dos momentos intermedios, a intervalos definidos en función de la duración total de cada ensayo (300 ml totales).

Para ambas series de ensayos, se preestablecieron cinco niveles de temperatura de horno,  $T_h$ : 140, 160, 180, 200 y 220 °C. En cada corrida experimental, el horno fue precalentado durante unos minutos, sin colocar muestra, hasta alcanzar la temperatura correspondiente. A su vez, para caracterizar cada condición ensayada, se registró la temperatura en una zona cercana a la ubicación de las muestras con termocuplas tipo T (Omega, USA) conectadas a un adquisidor de datos (Keithley DASTC, USA).

#### **PÉRDIDA DE PESO GLOBAL**

Se calculó la pérdida de peso de las madalenas al final del proceso de cocción, definida como la diferencia en porcentaje entre el peso inicial y el peso a tiempo final  $t$  (base húmeda), expresado como  $W_i$  y  $W$ , respectivamente. Esto es:

$$WL = \frac{(W_i - W)}{W_i} \times 100 \quad (ec 1)$$

#### **ESPESOR DE CORTEZA**

Para cuantificar el espesor de corteza de las madalenas, se recurrió a un método no destructivo de análisis de imágenes empleando ultrasonido de baja intensidad o ecografías (Kossoff, 2000). Para la adquisición de las imágenes, se empleó un ecógrafo portátil Mindray modelo 2200, con transductor lineal 17 cm regulado a 3.5 Mhz. Luego de dejar enfriar unos minutos las muestras recién horneadas, se realizaron las mediciones de ultrasonidos colocando el transductor sobre la superficie de cada muestra, adquiriendo la imagen a partir de la cual es factible medir el espesor de la corteza. El ensayo se realizó por triplicado para las condiciones de temperatura de horno 140, 180 y 220 °C, debido a que la medición es costosa y requiere un traslado rápido de las muestras (el ecógrafo se encuentra en la Facultad de Ciencias Veterinarias).

#### **RELACIÓN CORTEZA/MIGA**

La relación corteza/miga fue calculada de acuerdo a la metodología propuesta por Le-Bail y col. (2011): las muestras fueron retiradas del horno y se dejaron enfriar unos minutos. La corteza fue separada de la miga utilizando un bisturí, considerando la corteza como la zona deshidratada localizada en la superficie del producto de color más oscuro. La relación corteza/miga es expresada como relación másica peso en peso (g/g) en base húmeda.

## **CONTENIDO DE HUMEDAD**

El contenido de humedad del producto fue cuantificado en las dos regiones características de los productos panificados: miga y corteza, utilizando la corteza removida cuidadosamente de acuerdo al procedimiento explicado precedentemente. Estas determinaciones se realizaron por secado de 3 a 5 g de muestra aproximadamente, en estufa a temperatura constante de 103 °C, hasta alcanzar peso constante. El contenido de humedad se expresa en porcentaje en base húmeda.

## **DENSIDAD**

Para determinar la densidad de miga ( $\rho_m$ ) se tomó un cilindro de la región central del producto. El volumen del cilindro de miga fue calculado de acuerdo a sus dimensiones (diámetro y altura), medidos con calibre, luego cada cilindro fue pesado en balanza analítica. Los resultados se presentan en g/cm<sup>3</sup>.

## **POROSIDAD**

La porosidad de la miga, ( $\phi$ , cel/cm<sup>2</sup>), fue definida como la relación entre el número de poros y el área. El número de poros fue medido por análisis de imágenes de acuerdo al siguiente procedimiento: la muestra horneada se corta transversalmente a la mitad, y se obtienen imágenes de la miga con una cámara digital Samsung ST60 (Samsung, Indonesia), con una resolución de 3,264×2,448 (8 M). Las imágenes adquiridas se transforman del sistema RGB a escala de grises (imágenes binarias) mediante las herramientas para el procesamiento de imágenes del programa Matlab 7.0 (Matlab, USA), permitiendo observar como secciones de color negro los poros (de 0.2mm<sup>2</sup> a 35 mm<sup>2</sup>). Luego, las imágenes binarias se procesan con un editor de imágenes (Microsoft Picture Manager, USA), donde se contabiliza el número de poros presentes en un área normalizada de 2.8 cm<sup>2</sup>, seleccionada aleatoriamente.

## **TEXTURA**

La textura de la miga se caracterizó mediante pruebas de compresión utilizando el texturómetro TA.XT2i Texture Analyzer (Stable Micro Systems, UK) con plato de aluminio de 75 mm de diámetro (sonda P/75). El nivel de deformación se fijó en 80%, tomando como referencia el método estandarizado AACCC 74-09. Se analizaron cilindros de la miga del centro del producto de 2.65 cm de diámetro y 1 cm de alto. Los resultados se expresan como nivel de firmeza de la muestra (resistencia a la deformación).

Todas las determinaciones experimentales mencionadas previamente fueron realizadas por cuadruplicado para cada condición estudiada.

#### **4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

El registro de las temperaturas efectivas de operación permitió observar que en la zona de cocción la temperatura medida difiere sensiblemente de la temperatura nominal seleccionada en el horno. Por esta razón, el análisis de los resultados se presenta de acuerdo a la condición ensayada y a la temperatura efectiva de operación, definida como la temperatura media registrada durante el proceso. Puede observarse en las figuras 1 y 2 que la temperatura efectiva siempre es menor que la temperatura nominal, siendo más importante la disminución para la condición CFH.

En la Figura 1 se presentan los resultados de pérdida de peso. En ambas condiciones, al aumentar la temperatura de operación, la pérdida de peso global disminuye, manteniendo una dependencia lineal. Sin embargo, bajo la condición de convección forzada con humidificación los valores son sensiblemente menores. Teniendo en cuenta que este parámetro suele utilizarse para cuantificar el aprovechamiento de la materia prima (rendimiento), el horneado con incorporación de vapor favorece un mayor rendimiento (en masa) de la materia prima.

Como consecuencia de la transferencia de calor hacia el centro del producto durante el horneado, se induce el transporte de agua y por lo tanto, un cambio en la distribución de agua en su interior. Tan pronto el producto es situado en el horno, la capa superficial comienza a secarse, absorbiendo calor latente de vaporización. De este modo, se desarrolla una zona de secado, la cual lentamente aumenta en espesor y forma la corteza. En la Figura 2 se presentan los valores de contenido de humedad en las dos regiones principales de este tipo de producto: corteza y miga. También en la mencionada figura se presenta el contenido de humedad de la emulsión inicial previa al horneado. Del análisis de los resultados surge que la humedad de la miga presenta una leve disminución con respecto a la humedad inicial cuando el proceso ocurre bajo convección forzada, mientras que el horneado bajo convección forzada con humidificación presentó un contenido de humedad en la miga prácticamente igual al valor de la emulsión inicial, comportamiento similar observaron Schirmer y col. (2011) durante el horneado de pan.

Por otro lado, la corteza presenta una deshidratación importante, el contenido de humedad medido en esta región se encontró en el rango de 10-12.5 %, no encontrándose diferencias entre las condiciones CF y CFH. Sin embargo, el aumento de la temperatura de operación favoreció la formación de una corteza con mayor contenido de humedad. Esto se puede atribuir a que mayores temperaturas requieren tiempos de proceso significativamente menores.

En la Figura 3 se presentan a modo de ejemplo las imágenes obtenidas a partir de los ensayos de ultrasonido. Los resultados obtenidos mostraron que la incorporación de vapor de agua a la cámara de horneado permitió obtener un producto con menor espesor de corteza, reduciéndose en promedio un 18 % con respecto a convección forzada (Tabla 1), asimismo la condición convección forzada con humidificación presentó una menor relación corteza/miga en general para todas las temperaturas ensayadas, resultados que siguen las tendencias establecidas por Le Bail y col., 2011. Para ambas condiciones se observó una reducción de la proporción corteza/miga al incrementar la temperatura operativa.

En la Tabla 2 se presentan los valores promedio de firmeza (N) de las madalenas horneadas bajo las distintas condiciones estudiadas. Los resultados indican que el efecto del agregado de vapor a la cámara del horno durante el proceso provoca una leve disminución de la firmeza en general, no siendo influenciado este parámetro por la temperatura de operación. Estos resultados concuerdan con los informados por Xue y col. (2004) y Ahrné y col. (2007) quienes reportan que una atmósfera rica en humedad provoca cambios en la textura del panificado, logrando un desarrollo más suave y gradual de esta característica sensorial. En la misma Tabla 2 se presentan también los valores calculados de densidad de miga. Las muestras horneadas bajo convección forzada con humidificación presentaron valores menores de densidad a los calculados para convección forzada y más uniformes, sin una influencia marcada de la temperatura de operación.

Si bien las muestras obtenidas bajo convección forzada presentaron valores sensiblemente mayores de porosidad que las obtenidas con humidificación, resulta importante mencionar que esta última condición favoreció el desarrollo de poros de menor tamaño y más uniformes, los cuales en la transformación de las imágenes no llegaron a distinguirse. Por lo cual, para hacer referencia al nivel de aireado del producto, resulta fundamental analizar este parámetro en conjunto con densidad de miga y textura.

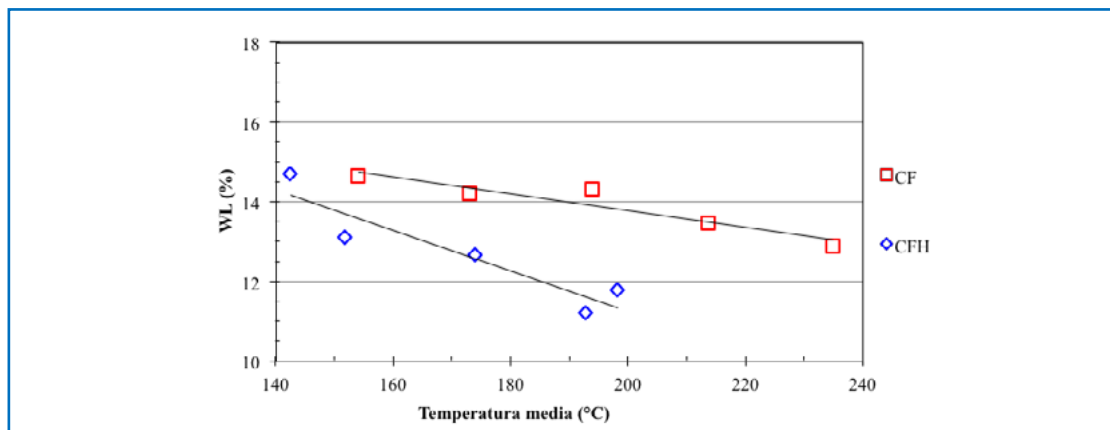
## 5. CONCLUSIONES

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos y el análisis realizado sobre los mismos, se puede afirmar que, la presencia de humedad generó un producto con menor corteza, y con una miga más aireada y liviana, de menor densidad. Esto se puede atribuir a que la presencia de humedad en la cámara de horneado favorecería la extensibilidad y la expansión de la masa durante la cocción. Estudios propios preliminares empleando análisis sensorial indican que estos atributos de corteza y miga son altamente apreciados por los consumidores. Por lo tanto, en términos generales, la humidificación beneficia el desarrollo de características de calidad favorables para la aceptación de este tipo de productos en el mercado.

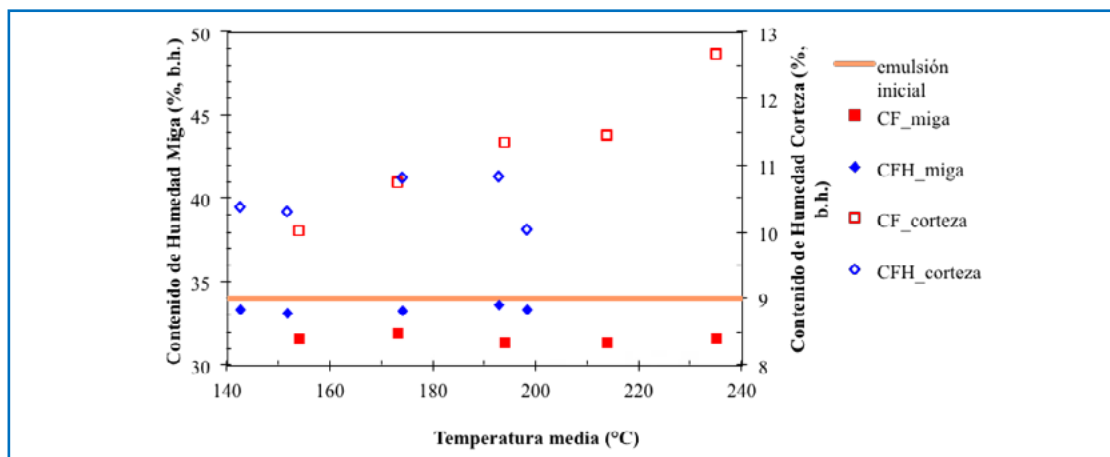
## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHRNÉ, L., Andersson, C.G., Floberg, P., Rosén, J., Lingnert, H. (2007). Effect of crust temperature and water content on acrylamide formation during baking of white bread: steam and falling temperature baking, *LWT - Food Science and Technology*, 40: 1708–1715.
- KOSSOFF, G. (2000). Basic physics and imaging characteristics of ultrasound. *World Journal of Surgery* 24(2):134-42.
- LE BAIL, A., Dessev, T., Leray, D., Lucas, T., Mariani, S., Mottollese, G., Jury, V. (2011). Influence of the amount of steaming during baking on the kinetic of heating and on selected quality attributes of bread. *Journal of Food Engineering*, 105, 379-385.
- SCHIRMER, M., Hussein, W.B., Jekle, M., Hussein, M.A., Becker, T., (2011). Impact of air humidity in industrial heating processes on selected quality attributes of bread rolls. *Journal of Food Engineering* 105, 647-655.
- SOMMIER, A., Chiron, H., Colonna, P., Della Valle, G., Rouille, J. (2005). An instrumented pilot scale oven for the study of French bread baking. *Journal of Food Engineering* 69, 97-106.
- XUE, J., Lefort, G., Walker, C.E. (2004). Effects of oven humidity on foods baked in gas convection ovens. *Journal of Food Processing Preservation*, 28, 179-200.

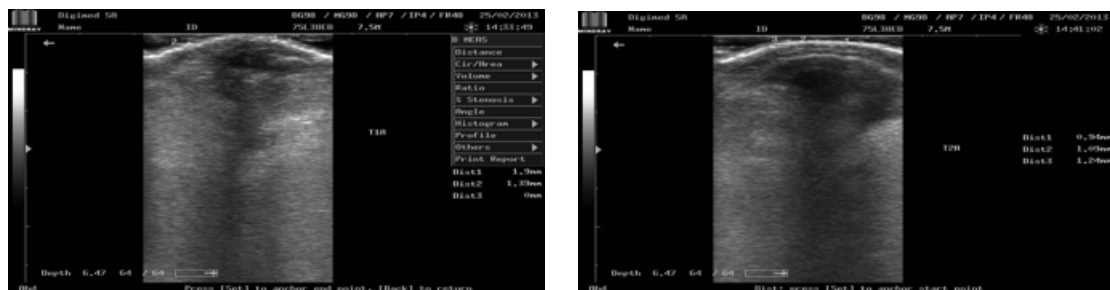
## 7. TABLAS Y FIGURAS



**FIGURA 1.** Pérdida de peso global en función de la temperatura de operación para condición forzada (CF) y condición forzada con humidificación (CFH). Valores promedio, con un error asociado menor a 1.0% en todos los casos



**FIGURA 2.** Contenido de Humedad en la miga y la corteza de las muestras horneadas para las distintas condiciones estudiadas. Valores promedio, con un error asociado menor a 0.8% en todos los casos



**FIGURA 3.** Imágenes de las muestras obtenidas mediante ecografía. A. Convección forzada.  
B. Convección Forzada con Humidificación



**TABLA 1.** Resultados de caracterización de miga y corteza de las madalenas horneadas a las distintas temperaturas ensayadas bajo **convección forzada**

|     | RELACIÓN CORTEZA/MIGA<br>(g/g) | ESPELOR DE CORTEZA<br>(mm) | POROSIDAD<br>(cel/cm <sup>2</sup> ) | FIRMEZA<br>(N) |
|-----|--------------------------------|----------------------------|-------------------------------------|----------------|
| CF1 | 0.21±0.020                     | 1.62±0.12                  | 9.14±0.54                           | 6.46±0.50      |
| CF2 | 0.16±0.004                     | -----                      | 11.20±0.59                          | 8.06±1.60      |
| CF3 | 0.15±0.013                     | 1.51±0.06                  | 12.64±0.61                          | 6.52±0.55      |
| CF4 | 0.16±0.009                     | -----                      | 12.90±0.95                          | 5.03±0.65      |
| CF5 | 0.14±0.010                     | 1.54±0.09                  | 11.40±0.54                          | 4.70±0.88      |

**TABLA 2.** Resultados de caracterización de miga y corteza de las madalenas horneadas a las distintas temperaturas ensayadas bajo **convección forzada con humidificación**

|      | RELACIÓN CORTEZA/MIGA<br>(g/g) | ESPELOR DE CORTEZA<br>(mm) | POROSIDAD<br>(cel/cm <sup>2</sup> ) | FIRMEZA<br>(N) |
|------|--------------------------------|----------------------------|-------------------------------------|----------------|
| CFH1 | 0.084±0.026                    | 1.26±0.13                  | 6.9±1.0                             | 4.51±0.19      |
| CFH2 | 0.066±0.044                    | -----                      | 7.4±1.2                             | 3.18±0.43      |
| CFH3 | 0.062±0.048                    | 1.35±0.17                  | 8.1±1.08                            | 3.36±0.83      |
| CFH4 | 0.059±0.049                    | -----                      | 8.7±1.3                             | 3.14±0.50      |
| CFH5 | 0.065±0.020                    | 1.35±0.13                  | 8.30±1.0                            | 4.04±0.44      |

# OPTIMIZACIÓN DE OBTENCIÓN DE *ENTEROCOCCUS LACTIS* MEDIANTE SPRAY DRYING

Aníbal Slavutsky<sup>1</sup>, Mónica Chávez<sup>2</sup>, Alejandra Bertuzzi<sup>1</sup>

## 1. RESUMEN

Los alimentos fermentados forman parte de la dieta integral de los humanos y los cultivos iniciadores constituyen la base de estos alimentos. Las bacterias lácticas son los principales microorganismos empleados en los cultivos iniciadores que se emplean en la producción de quesos, yogurt, leches ácidas, etc. Los sistemas caprinos de los Valles y Quebradas del Noroeste Argentino, presentan muy buenas condiciones ambientales para el desarrollo de bacterias lácticas con potenciales tecnológicos y diferentes a las existentes hoy en el mercado, ya que no se comercializan bacterias de origen caprino. Estudios realizados sobre estos sistemas, han demostrado un muy buen perfil de calidad de leche para elaboración de quesos. El secado por pulverización (spray drying), es una tecnología económica y efectiva, que consiste en una operación en la cual un alimento líquido se transforma en un producto en polvo, disminuyendo su volumen y contenido de humedad, lo que favorece la preservación del alimento. Por ello, el objetivo del presente trabajo, fue obtener cultivos iniciadores deshidratados a partir de una cepa de *Enterococcus lactis* obtenida de leche de cabra, seleccionada del cepario del INTA-Salta, y estudiar el efecto de tres parámetros del proceso de secado por espray: Temperatura de entrada del aire (Te), Flujo del aire (FA) y Caudal de entrada de la suspensión de células (CA) sobre la calidad del producto obtenido. El secado de los fermentos mediante spray drying, se realizó en un equipo BUCHI 290 (Suiza). Se evaluó el efecto de las variables mencionadas mediante un análisis factorial N<sup>K</sup> fraccionado y diseño compuesto central rotacional (DCCR) y se analizaron los resultados me-

---

CONTACTO: Aníbal Slavutsky [amslavutsky@gmail.com](mailto:amslavutsky@gmail.com)

1. Instituto de Investigaciones para la Industria Química. Facultad de Ingeniería. CONICET. UNSa, Salta, Argentina.

2. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, INTA-Cerrillos, Salta, Argentina.

dian­te grá­fi­cos de Super­ficie-Res­pues­ta. El efec­to de los pa­rá­me­tros de se­ca­do so­bre la ca­li­dad del pro­duc­to, se e­va­luó me­diante el es­tudio del % de so­bre­vi­da de las bac­te­rias lue­go del pro­ce­so (%T), % de hu­me­dad (%H) y el ren­di­mien­to (%R) del pro­duc­to ob­te­ni­do. Me­diante el aná­li­sis del de­se­ño ex­pe­ri­men­tal, se pu­die­ron ob­te­ner las ecua­cio­nes de re­gre­sión, que per­mitie­ron op­ti­mi­zar el pro­ce­so de ob­te­ni­ción de cul­ti­vos ini­cia­do­res. Los re­sul­ta­dos ob­te­ni­dos, in­di­can que tra­ba­jan­do con una  $T_e$ : 165 °C,  $CA$ : 500 mL/h y  $FA$ : 675 L/h, se ob­tie­ne un pro­duc­to con una hu­me­dad del 4.4 %, %T de 72 % y un %R del 77 %. El se­ca­do por es­pray se pre­sen­ta como una al­ter­na­ti­va vi­able para la ob­te­ni­ción de cul­ti­vos ini­cia­do­res de bac­te­rias lácti­cas, de­bi­do a su ver­sa­tili­dad en el con­tro­l de las va­ria­bles ope­ra­cio­na­les, lo que per­mite op­ti­mi­zar el pro­ce­so, con el ob­je­ti­vo de ob­te­ner una ma­yor vi­abi­li­dad ce­lu­lar, con ma­yo­res ren­di­mien­tos y me­no­res con­te­ni­dos de hu­me­dad en el pro­duc­to fi­nal.

## 2. INTRODUCCIÓN

La pro­duc­ción a gran es­cala de pro­duc­tos fer­men­ta­dos se ha con­ver­ti­do en una rama im­por­tante de la in­dus­tria ali­men­ta­ria. Por otra parte, el con­sumi­dor va­lo­ra los pro­duc­tos fer­men­ta­dos ar­tesa­na­les por sus ex­cep­cio­na­les ca­li­da­des sen­so­ria­les y nu­tri­cio­na­les. Los cul­ti­vos ini­cia­do­res (stater cul­tures) con­sti­tu­yen la base de es­tos ali­men­tos. Un cul­ti­vo ini­cia­dor, se puede de­finir como una pre­pa­ra­ción mi­cro­bia­na de un gran nú­me­ro de cé­lu­las de al me­nos un tipo de mi­croor­ga­ni­smo, que se a­ña­de a una ma­te­ria pri­ma para pro­ducir un ali­men­to fer­men­ta­do. Las Bac­te­rias Áci­do Lácti­cas (BAL) ocu­pan un pa­pel cen­tral en es­tos pro­ce­sos, y se han apli­ca­do his­tó­ri­ca­mente en la pro­duc­ción de ali­men­tos y be­bi­das fer­men­ta­das. Su prin­ci­pal ca­rac­te­rís­ti­ca, es cau­sar la aci­di­fi­ca­ción rá­pi­da de la ma­te­ria pri­ma a tra­vés de la pro­duc­ción de áci­dos or­gá­ni­cos, prin­ci­pal­mente áci­do lácti­co. Ade­más, es im­por­tante la pro­duc­ción de áci­do acé­ti­co, etanol, aro­mas, bac­te­riocinas, exo­po­li­sa­cá­ri­dos, y va­rias en­zi­mas, ya que se me­jora la vi­da útil y la se­gu­ri­dad mi­cro­bia­na, apor­tando a la tex­tu­ra, y con­tri­bu­yen­do al per­fil sen­so­ri­al agra­da­ble del pro­duc­to fi­nal. Las BAL (lactococos, lactobacilos, estreptococos, enterococos, etc.) son un grupo im­por­tante de cul­ti­vos ini­cia­do­res, apli­ca­dos en la pro­duc­ción de ali­men­tos fer­men­ta­dos como el yo­gur, que­so, sal­chi­cha, sa­lame, pan amargo, etc. (Leroy & De Vuyst, 2004). Los avan­ces en Bio­tec­no­lo­gía, hi­cie­ron po­si­ble que es­tos cul­ti­vos se in­cor­po­ra­ran de forma di­rec­ta en la for­mu­la­ción de ali­men­tos, uti­li­zan­do para

ello, métodos de concentración y conservación. Además, se reducen los costos de producción, disminuye el riesgo de contaminación con bacteriófagos y estandariza la calidad de la producción a condiciones previamente seleccionadas.

La liofilización es una de las principales técnicas empleadas en la obtención de cultivos iniciadores en polvo para su posterior uso en la industria. Dentro de sus desventajas, se pueden citar los elevados costos de producción, la necesidad de una mano de obra especializada y los largos tiempos de procesamiento (Peighambar-doust *et al.*, 2011).

La técnica de secado por spray o pulverización (spray drying), se presenta como una alternativa económica y efectiva para la producción de cultivos iniciadores. Se trata de una operación que consiste en convertir un alimento líquido en un producto en polvo, con mínima manipulación del material, disminuyendo su tamaño y su contenido de humedad, lo que favorece la preservación del alimento (Vinderola, 2008). Dentro de sus ventajas, se pueden citar, el bajo costo de producción y el corto tiempo de procesamiento. La versatilidad del proceso de secado por pulverización y los considerables progresos realizados a través de la innovación tecnológica, han llevado a una mayor flexibilidad en el manejo de esta tecnología, lo que permite cumplir con los requisitos biotecnológicos, especialmente en lo referido a tratamientos térmicos más suaves, a fin de evitar la pérdida de actividad microbiana.

Las etapas del proceso se pueden resumir de la siguiente manera: I) Preparación del inóculo, que comprende todo lo relativo a la producción de la biomasa (composición del medio de cultivo, pH, fase de crecimiento, etc.), II) Formulación de las suspensiones de los microorganismos en las que se pueden incorporar matrices protectoras, donde se debe tener en cuenta las condiciones de procesamiento y almacenamiento posteriores (comportamiento reológico, estabilidad térmica, rehidratación, etc.), III) Deshidratación, que incluye todo lo referido a las condiciones operacionales del equipo de secado (temperatura y flujos de las corrientes, tiempo de exposición, etc.), IV) Almacenamiento y envasado del producto deshidratado obtenido, que contempla las diferentes condiciones de almacenamiento (humedad, temperatura, tiempo, etc.) y V) Rehidratación del polvo y estudio de la viabilidad de los microorganismos, donde se evalúa la calidad del producto obtenido.

El estudio de cada una de estas etapas, es determinante en la calidad del producto final, no obstante, las investigaciones realizadas hasta el momento, indican que los parámetros operacionales del equipo y las sustancias protectoras empleadas, juegan

un rol determinante en la viabilidad microbiana final (Wang *et al.*, 2004; Fu & Chen, 2011). Por ejemplo, dentro de las matrices empleadas, se pueden citar gelatina, goma arábica, almidón soluble (Lian *et al.*, 2002) y aislado de proteínas de suero de leche (Ananta *et al.*, 2005). A su vez, dentro de los parámetros operacionales, que hacen al secado de las BAL, se puede mencionar que a mayores temperaturas de entrada y salida del aire, menor es la viabilidad de los cultivos obtenidos. Además, tanto el flujo de aire, como el caudal de alimentación de la suspensión de bacterias y la concentración en que se incorpora la matriz encapsulante, producen efectos determinantes en la característica de los cultivos obtenidos (Rouissi *et al.*, 2013).

De acuerdo a Klijn, Weerkamp, y de Vos (1995), los cultivos puros aislados de ecosistemas complejos, donde se producen alimentos fermentados por métodos tradicionales, exhiben una diversidad de actividades metabólicas que difieren considerablemente de las de las cepas comerciales utilizadas como iniciadores a escalas industriales. Estas cepas difieren en la tasa de crecimiento y el crecimiento competitivo que presentan en cultivos mixtos, la adaptación a un sustrato en particular o de materias primas, la presencia de propiedades antimicrobianas, y el sabor, aroma, y atributos de calidad que pueden aportar a un producto en particular (Ayad *et al.*, 2002).

En la provincia de Salta, la producción caprina se caracteriza por ser empleada para la obtención de leche, carne y quesos, constituyendo además, la actividad de subsistencia de un gran número de productores minifundistas. Cabe destacar, que los sistemas caprinos de los Valles y Quebradas del Noroeste Argentino, presentan muy buenas condiciones ambientales para el desarrollo de bacterias lácticas con potenciales tecnológicos y diferentes a las existentes hoy en el mercado. En efecto, en estos ecosistemas, la producción lechera de cabras está radicada desde hace mucho tiempo, posiblemente desde la época de la conquista española; estos productores han sostenido prácticas productivas acordes con los recursos de la zona. Estudios realizados sobre estos sistemas, han demostrado un muy buen perfil de calidad de leche para elaboración de quesos (Chávez *et al.*, 2011).

La preservación de prácticas en un ecosistema de altura, sin contaminación, es lo que permitió plantear la hipótesis sobre la existencia de bacterias lácticas, de origen sistema caprino de leche, con propiedades de interés para su industrialización. Particularmente, la caracterización y tipificación de estas bacterias con destino a la producción de fermentos, se está llevando a cabo desde el año 2007, por medio de investigaciones conjunta entre CONICET (Universidad Nacional de Salta) e

INTA-Salta. En este marco, se procedió al rescate de bacterias lácticas de ecosistemas de altura (Amblayo-Valles Calchaquies, aproximadamente 2300msnm) y templados (Salta-Valle de Lerma, aproximadamente 1000msnm). Se aislaron en forma aleatoria 80 cepas, 40 de cada región, las que fueron identificadas como lactococos (Gram +, nitrato, catalasa y movilidad negativas); sobre las mismas se aplicaron pruebas de inocuidad, técnicas bioquímicas y biotecnológicas (16S y RAPID) de caracterización (Torres *et al.*, 2009), mediante las cuales se realizó la identificación de diferentes cepas con un gran potencial tecnológico y que podrían ser aplicados en la industria de los fermentos lácticos. Sin embargo, es necesario destacar, la necesidad de desarrollar metodologías adecuadas que puedan ser empleadas para la obtención de cultivos iniciadores que puedan ser posteriormente transferidos al sector industrial.

La importancia del estudio que se plantea, radica en el desarrollo de una tecnología simple, económica, efectiva, fácilmente escalable y transferible para la conservación de cepas de bacterias lácticas de origen caprino para su aplicación posterior en alimentos fermentados.

Por ello, el objetivo del presente trabajo, fue obtener cultivos iniciadores deshidratados a partir de una cepa de *Enterococcus lactis* obtenida de leche de cabra, seleccionada del cepario del INTA-Salta, y estudiar el efecto de tres parámetros del proceso de secado por spray: Temperatura de entrada del aire ( $T_e$ ), Flujo del aire (FA) y Caudal de entrada de la suspensión de células (CA) sobre la calidad del producto obtenido.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### CULTIVO

Se empleó una cepa de *Enterococcus lactis* perteneciente al cepario del INTA-Cerillos (Salta). La misma fue aislada a partir de muestras de leche caprina provenientes de los ecosistemas de Amblayo de la provincia de Salta. La cepa se cultivó en 5 mL a 37 °C durante 24hr, en condiciones de microaerofilia, en medio infusión-cerebro-corazón (BHI, Britania, Argentina). El cultivo se repicó en 100 mL de BHI y se llevó a estufa durante 24 hr a 37 °C. Este cultivo presentó un recuento de  $1.64 \times 10^9$  UFC/g<sub>b,s</sub> que se tomó como valor inicial.

### **PROCEDIMIENTO DE SECADO POR ESPRAY**

Finalizada la etapa de producción de biomasa, se procedió al secado de las muestras, mediante el empleo de un Mini Spray Dryer B-290 (BUCHI, Suiza). Se estudió el efecto de la temperatura del aire de entrada ( $T_e$ ) y del caudal de entrada de la materia prima (CA) y el flujo del aire (FA), sobre el rendimiento de biomasa recuperada, la humedad del producto y la viabilidad microbiana del producto. Se optó como modelo estadístico, el Diseño Compuesto Central Rotacional (DCCR) y para analizar el efecto de las variables independientes, sobre las variables respuesta, se empleó el Modelo Lineal Generalizado, y se evaluaron los resultados mediante análisis ANOVA y gráficos de Superficie-Respuesta. En la Tabla 1, figuran las variables empleadas en el diseño experimental. El % de aspiración (100%) permaneció constante.

### **RENDIMIENTO (%R) Y HUMEDAD DE LAS MUESTRAS OBTENIDAS (%H)**

El rendimiento de recuperación de biomasa se determinó a partir de la biomasa seca presente en el medio de cultivo y la biomasa recuperada luego de finalizada la etapa de secado. La biomasa seca inicial, se determinó a partir del secado de una alícuota del cultivo bacteriano, en estufa a 104 °C durante 24 hs. La humedad del producto obtenido se determinó empleando el método propuesto por la AOAC (AOAC, 1984).

### **ESTUDIOS DE VIABILIDAD MICROBIANA**

La viabilidad de los fermentos frescos y deshidratados se estudió mediante el siguiente análisis microbiológico: se determinó el número de células viables de cada fermento, antes y después de los diferentes tratamientos, por recuento en placa. Para ello, se realizaron diluciones decimales en solución fisiológica y se utilizó como medio BHI. Las placas se incubaron a 37 °C en condiciones de microaerofilia. El recuento se informó en UFC/g de biomasa seca. La tasa de supervivencia (%T), se calculó como la división entre las UFC/g finales e iniciales, luego del tratamiento de secado por spray. El resultado se expresó en porcentaje.

### **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

El análisis matemático del modelo elegido, la realización de los gráficos Superficie-Respuesta y la optimización de modelo, se realizó mediante el Software estadístico STATGRAPHICS Centurion XVI.

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1, se observan los resultados obtenidos, para las variables dependientes estudiadas. En la Figura 1, se observan los gráficos de superficie, en base a las ecuaciones de regresiones obtenidas, a partir del modelo de regresión lineal generalizado empleado. En las ecuaciones 1-3, se indican los el valor de los estimadores obtenidos, mediante la aplicación del paquete estadístico empleado.

$$\%R = 331.40 + 3.94.Te + 0.52.FA - 0.53.CA - 0.011.Te^2 - 0.00035.FA^2 + 0.00049.CA^2 \quad (1)$$

$$\%H = -93.95 + 1.50.Te - 0.10.FA + 0.016.CA - 0.0045.Te^2 + 7.54.10^{-5}.FA^2 \quad (2)$$

$$\%T = -2100.17 + 22.71.Te + 0.72.FA - 0.067.Te^2 - 0.00055.FA^2 + 9.00.10^{-5}.CA^2 \quad (3)$$

Todas las ecuaciones de regresión, tuvieron un coeficiente de regresión mayor a 0.90 y los estimadores obtenidos, un  $p < 0.05$ , indicando que el modelo presenta un elevado coeficiente de ajuste.

Solo se muestran algunas de las combinaciones de los gráficos de superficie, para las tres variables dependientes estudiadas, a fin de poder ayudar a la interpretación de los resultados. En términos generales, se puede mencionar que un aumento del FA, produce un aumento del %R, una disminución de %H, y un aumento de %T. En el caso del CA, se observa que un aumento del mismo, produce una disminución del %R y %T y un aumento del %H. Un aumento de Te, produce una disminución del %H y un aumento del %R y %T, hasta temperaturas de 170 °C. A su vez, se observa que la Te y el FA, son las variables que mayor efecto presenta sobre las variables estudiadas, influyendo los valores extremos, ya sea aumentando a un máximo o un mínimo, el %R y el %H.

Mediante el software estadístico, se determinaron condiciones operacionales, a fin de poder optimizar el proceso de obtención de los cultivos starter. En la Tabla 2, se observan los valores predichos por el modelo, los valores experimentales obtenidos de las variables respuestas y el %Error del modelo. Los resultados indican, que el modelo empleado y la optimización realizada, magnifica el %T y %R, a espensas de una humedad de aproximadamente el 5 %. Además, el error que se obtiene, es menor al 10 % en todos los casos, excepto en el %H, donde el modelo presenta un pobre ajuste, debido a la variabilidad que presenta el análisis.



## 5. CONCLUSIONES

La obtención de cultivos starter mediante spray drying, es un proceso complejo, ya que las variables operacionales del equipo, tienen una gran influencia sobre la calidad del producto final obtenido. El empleo del diseño experimental y estudio estadístico realizado, permitió obtener las variables de proceso optimizadas, a fin de obtener un producto con mayor viabilidad y rendimiento. A su vez, el producto obtenido posee una humedad cerca del 5 %, lo que permitiría que su calidad se mantenga por mayor periodo de tiempo.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANANTA, E., Volkert, M. and Knorr, D. (2005). Cellular injuries and storage stability of spray-dried *Lactobacillus rhamnosus* GG. *International Dairy Journal*, 15, 399-409.
- AOAC, 1984. *Official Methods of Analysis*, 14th edn. AOAC, Arlington, VA, USA.
- AYAD, E. H. E., Verheul, A., Wouters, J. T. M. and Smit, G. (2002). Anti-microbial producing wild lactococci isolated from artisanal and non-dairy origins. *Int. Dairy J.* 12, 145-150.
- CHÁVEZ, M.; Orosco, S.; Sanchez, V.; Martinez, M.; Torres, N. y Candotti J. (2011). Sistema de Producción de Leche Caprina: Valles Áridos y Quebradas del NOA como caso de estudio. Ier Taller Nacional sobre Tecnologías Productivas disponibles para el sector de los Pequeños Rumiantes en la República Argentina (Mendoza). CD pag. 10.
- FU, N., and Chen, X. D. (2011). Towards a maximal cell survival in convective thermal drying process. *Food Research International*, 44, 1127-1149.
- KLIJN, N., Weerkamp, A. H., de Vos, W. M. (1995). Detection and characterization of lactose-utilizing *Lactococcus* spp. in natural ecosystems. *Appl. Environ. Microbiol.* 61, 788-792.
- LEROY, F., and De Vuyst, L. (2004). Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science & Technology*, 15(2), 67-78.
- LIAN, W. C., Hsiao, H. -C., and Chou, C. -C. (2002). Survival of bifidobacteria after spray drying. *International Journal of Food Microbiology*, 74, 79-86.
- PEIGHAMBARDOUST, S. H., Golshan Tafti, A., and Hesari, J. (2011). Application of spray drying for preservation of lactic acid starter cultures: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 22(5), 215-224.

- ROUISSI, T., Mahmoudi, A., Tyagi, R. D., Brar, S. K. and Pre, D. (2013). Optimisation of spray drying by response surface methodology for the production of *Sinorhizobium meliloti* powder formulation by using starch industry wastewater, 4.
- TORRES, N; Chavez, M; Audisio C. (2009). Microbiological characteristics and technological screening of goat milk lactic acid bacteria from temperate valley of Salta (Argentina). III Simposio Internacional de bacterias lácticas. II Encuentro de la red BAL, Libro de actas n.º E27 pag. 154.
- VINDEROLA G. (2008). Dried cell-free fraction of fermented milks: new functional additives for the food industry. *Trends in Food Science & Technology* 19, 40-46.
- WANG, Y. -C., Yu, R. -C., & Chou, C. -C. (2004). Viability of lactic acid bacteria and bifidobacteria in fermented soymilk after drying, subsequent rehydration and storage. *International Journal of Food Microbiology*, 93, 209–217.

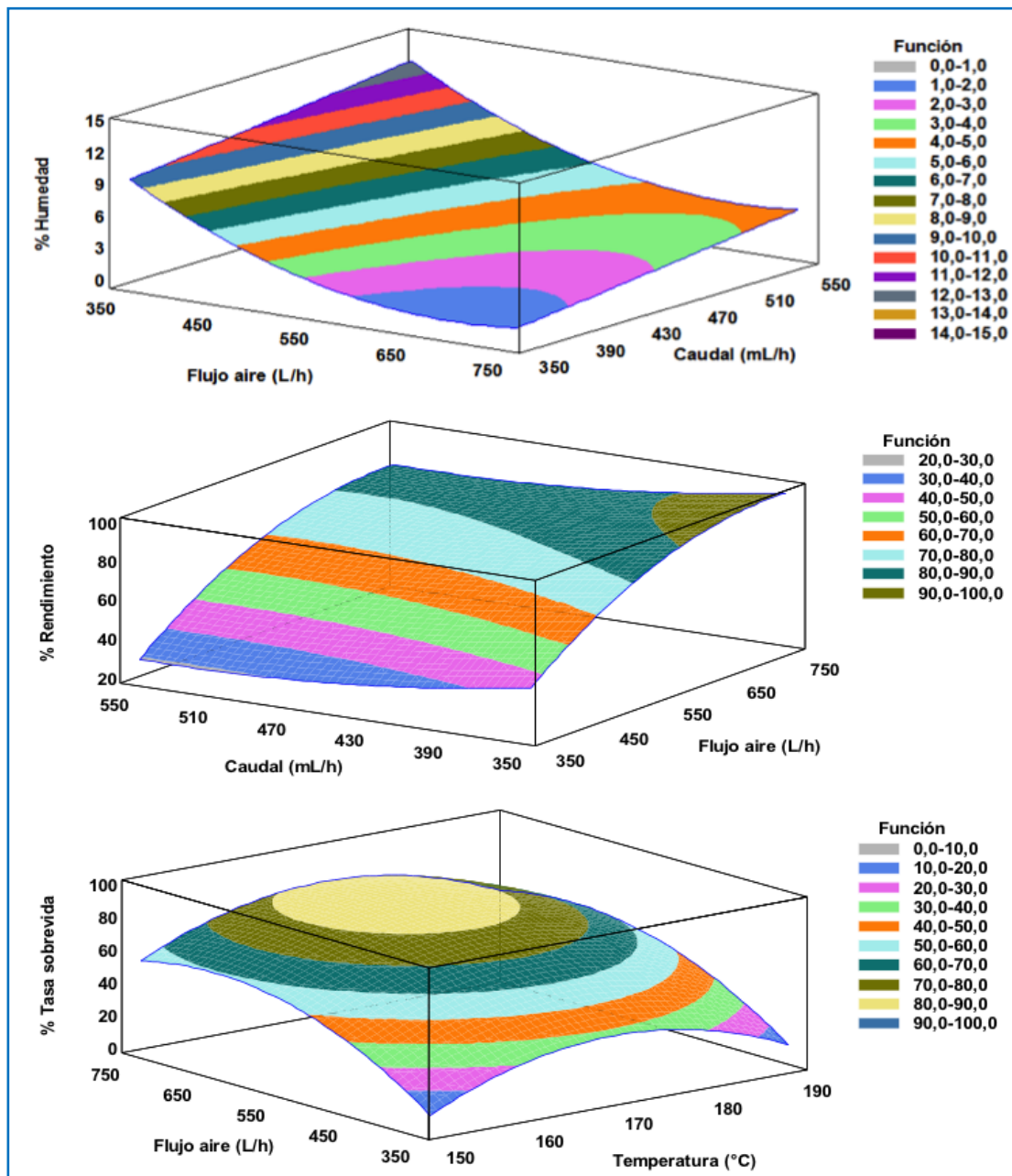
## 7. TABLAS Y FIGURAS

**TABLA 1.** Diseño factorial empleado y resultados obtenidos de las variables dependientes estudiada

| Muestra | Te (°C) | FA (mm/L/hr) | CA (%/mL/h) | %H    | %R    | %T    |
|---------|---------|--------------|-------------|-------|-------|-------|
| 1       | 150     | 356          | 515         | 11,23 | 21,74 | 9,70  |
| 2       | 190     | 356          | 365         | 5,64  | 37,96 | 0,00  |
| 3       | 150     | 720          | 365         | 0,00  | 90,00 | 50,61 |
| 4       | 150     | 720          | 515         | 2,54  | 76,43 | 63,07 |
| 5       | 170     | 538          | 565         | 7,04  | 69,40 | 92,49 |
| 6       | 170     | 538          | 440         | 4,60  | 71,46 | 80,51 |
| 7       | 170     | 845          | 440         | 4,85  | 79,22 | 58,81 |
| 8       | 170     | 538          | 440         | 4,60  | 71,46 | 80,51 |
| 9       | 190     | 720          | 365         | 0,00  | 92,65 | 52,55 |
| 10      | 136     | 538          | 440         | 0,00  | 57,75 | 4,28  |
| 11      | 190     | 356          | 515         | 8,54  | 24,39 | 11,65 |
| 12      | 190     | 720          | 515         | 0,00  | 79,07 | 65,01 |
| 13      | 203     | 538          | 440         | 0,00  | 62,20 | 7,54  |
| 14      | 170     | 538          | 315         | 2,16  | 92,23 | 71,53 |
| 15      | 170     | 538          | 440         | 4,60  | 71,46 | 74,25 |
| 16      | 170     | 230          | 440         | 19,46 | 0,00  | 0,00  |
| 17      | 150     | 356          | 365         | 8,33  | 35,32 | 0,00  |

**TABLA 2.** Valores óptimos, valores predichos y valores experimentales obtenidos

| Factor | Óptimo  | Variable dependiente | Predicho | Experimental | %Error |
|--------|---------|----------------------|----------|--------------|--------|
| Te     | 167,616 | %R                   | 82,95    | 80.15        | 2.43   |
| CA     | 536,133 | %H                   | 4,33     | 5,03         | 16.16  |
| FA     | 740,505 | %T                   | 85.07    | 77.53        | 8.86   |



**FIGURA 1.** Gráficos de superficie obtenidos a partir de las ecuaciones de regresión determinadas. A) %H en función de FA y CA. B) %R en función de FA y CA.)  
%T en función de FA y Te

# NUEVO MÉTODO DE CÁLCULO DE LA ENERGÍA DE ACTIVACIÓN PARA ANALIZAR LA CINÉTICA DE DESHIDRATACIÓN DE ALIMENTOS: CONCEPTO DE LA TEMPERATURA CARACTERÍSTICA

Silvana María Demarchi<sup>1</sup>, Sergio Adrián Giner<sup>1,2,3</sup>

## 1. RESUMEN

En este trabajo se estudiaron las cinéticas de deshidratación de laminados de tomate (leathers) a 40, 60 y 80 °C y se registraron las historias térmicas correspondientes. En vista de que el producto apenas alcanza la temperatura del aire en los tramos finales de un secado prolongado (entre 300 y 560 minutos), se propuso en forma original el concepto de “temperatura característica del producto”, definida como la temperatura correspondiente al tiempo en el que se alcanza una velocidad instantánea de secado igual a la velocidad media de todo el proceso. Se calcularon y compararon los valores de la energía de activación ( $E_a$ ) para la difusión del agua, obtenidos por dos metodologías: (1) correlación de los coeficientes de difusión ajustados ( $D$ ) con la temperatura del aire de secado, y (2) correlación alternativa de los mismos coeficientes con la temperatura característica del producto. El método (1) arrojó un valor de  $E_a$  de 21.4 kJ/ mol mientras que, mediante el método propuesto en este trabajo, el valor hallado fue de 37.3 kJ/ mol. Este último resultado es comparable a la entalpía de desorción del agua pura (40.6 kJ/ mol), lo cual podría justificar o darle un sentido físico al uso de la temperatura característica del producto para el cálculo de la  $E_a$ , o al menos abrir debate al respecto. Las observaciones sugieren que la temperatura característica es un parámetro de utilidad, ya que des-

---

CONTACTO: Silvana M. Demarchi [silvanademarchi@hotmail.com](mailto:silvanademarchi@hotmail.com)

1. Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecología de Alimentos (CIDCA), CONICET, Universidad Nacional de La Plata, 47 y 116, La Plata (B1900 AJJ), Argentina.

2. Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de La Plata, 1 y 47, La Plata, Argentina.

3. Comisión de Investigaciones Científicas (CIC), Provincia de Buenos Aires, 526 e/ 10 y 11, La Plata, Argentina.

cribe con mayor eficacia la historia térmica con un solo valor, y está vinculado con los parámetros cinéticos a través de la velocidad media de secado. Estos resultados tienen una fuerte implicancia tecnológica, dado que los programas de simulación para el diseño de secaderos se basan en el valor de la  $E_a$  para predecir el efecto de la temperatura del aire sobre el consumo energético específico y, por tanto, sobre el costo del proceso.

## NOMENCLATURA

|              |  |              |   |
|--------------|--|--------------|---|
| $a_w$        | actividad acuosa   | $T_{c\ abs}$ | temperatura característica absoluta del producto ( $^{\circ}\text{K}$ ) |
| $Bi_m$       | número de Biot de transferencia de masa                        | $t$          | tiempo (min)  |
| $D$          | coeficiente de difusión del agua ( $\text{m}^2/\text{s}$ )     | $t_c$        | tiempo característico (min)   |
| $d$          | espesor medio del producto (m)                                 | $W_{ad}$     | contenido de humedad adimensional                                       |
| $E_a$        | energía de activación (kJ/mol)                                 | $W_e$        | contenido de humedad de equilibrio (kg agua/kg materia seca)            |
| $h_r$        | humedad relativa del aire de secado (%)                        | $W_f$        | contenido de humedad final (kg agua/kg materia seca)                    |
| $m_i$        | masa inicial del producto (kg)                                 | $W_i$        | contenido de humedad inicial (kg agua/kg materia seca)                  |
| $m_t$        | masa del producto a tiempo $t$ (kg)                            | $W_t$        | contenido de humedad al tiempo $t$ (kg agua/kg materia seca)            |
| $r^2$        | coeficiente de determinación                                   | $\beta_n$    | raíces de la ecuación $\beta_n \text{tg } \beta_n - Bi_m = 0$           |
| $T_a$        | temperatura del aire ( $^{\circ}\text{C}$ )                    |              |   |
| $T_{a\ abs}$ | temperatura absoluta del aire ( $^{\circ}\text{K}$ )           |              |   |
| $T_c$        | temperatura característica del producto ( $^{\circ}\text{C}$ ) |              |   |

## 2. INTRODUCCIÓN

La deshidratación de alimentos es un fenómeno complejo que involucra transferencias simultáneas de calor y materia. La migración del agua en la matriz del producto puede estar gobernada por una combinación de mecanismos aunque, a temperaturas moderadas, predomina la difusión líquida. El estudio de las cinéticas de secado, además de contribuir al conocimiento de los mecanismos involucrados

en la deshidratación, aporta información valiosa para las industrias de productos deshidratados, acerca de cuestiones prácticas como, por ejemplo, el diseño de secaderos (Ratti, 2001). El modelado matemático de las cinéticas experimentales permite determinar coeficientes de difusión de agua. Dicho parámetro describe, con fundamento físico, la transferencia de masa dentro del producto y resulta útil en modelos de simulación para predecir tiempos de secado y determinar las dimensiones de los secaderos (Crapiste & Rotstein, 1997). En innumerables estudios cinéticos se ha calculado la energía de activación ( $E_a$ ) del secado mediante la correlación de Arrhenius, entre el coeficiente de difusión y la inversa de la temperatura absoluta del aire de secado, que usualmente se mantiene constante durante el proceso (Zogzas *et al.*, 1996). Dicho procedimiento tiene sentido cuando se trabaja con productos de baja humedad, como cereales u oleaginosas, que rápidamente alcanzan el equilibrio térmico con el aire. Sin embargo, los alimentos de alta humedad como frutas, verduras o formulaciones a base de ellas, presentan temperaturas inferiores a la del aire durante gran parte del tiempo de secado. Por lo tanto, la  $E_a$  determinada mediante el estudio cinético clásico pierde sentido físico para los productos de alta humedad. En este trabajo se propone correlacionar los coeficientes de difusión con un valor representativo de la temperatura del producto en lugar de hacerlo con la temperatura del aire. Para ello se introdujo el concepto original de “temperatura característica del producto”, definida como la temperatura correspondiente al tiempo en el que se alcanza una velocidad instantánea de secado igual a la velocidad media de todo el proceso. Esta innovación en el cálculo de  $E_a$  podría tener importantes consecuencias prácticas: los programas de simulación de secado, alimentados con valores más precisos de  $E_a$ , generarían predicciones más acertadas del efecto de la temperatura del aire de secado sobre el consumo energético y, por consiguiente, sobre los requerimientos de combustible para un tiempo de proceso dado.

El objetivo de este trabajo fue comparar los valores de  $E_a$  obtenidos por dos métodos: (a) correlación del coeficiente de difusión con la inversa de la temperatura absoluta del aire y (b) correlación con la inversa de la temperatura característica absoluta del producto. Dicha comparación se realizó para el secado de laminados de tomate (leathers), un producto estable a temperatura ambiente con potencial aplicación en pizzas, sándwiches y otros productos elaborados tipo snack.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

La formulación, preparada en base a puré de tomate, se diseñó para que ocurriese una gelificación del tipo “azúcar-ácido-pectina de alto metoxilo” durante la deshidratación, tal como lo describe Fiorentini *et al.* (2008). Se trata de una formulación de consistencia fluida cuya composición aproximada, calculada por balance de masa, es la siguiente (% p/p): humedad, 88.20; polidextrosa, 5.75; azúcares, 2.60; proteínas, 1.10; pectina agregada, 1.00; fibra, 0.90; ácido cítrico, 0.25; y minerales, 0.20.

#### HUMEDAD INICIAL DE LA FORMULACIÓN

La humedad inicial de la formulación se determinó por el método AOAC 984.25 (AOAC, 1998) a presión atmosférica y 105 °C hasta alcanzar peso constante en un analizador de humedad Mettler LP 16 con precisión de 0.01 g. Se midieron ocho replicados. Se trabajó con muestras de 10 g a fin de remover como mínimo 8 g de agua, asegurando así un error máximo del 0.125 %. Los métodos gravimétricos aceptados toleran errores de hasta 0.3 % (Greensmith, 1998).

#### CINÉTICAS DE SECADO

La formulación fluida se colocó en bandejas cuadradas de acero inoxidable de 0.20 m de lado y 0.02 m de profundidad, alcanzando un espesor inicial de  $7.5 \times 10^{-3}$  m. Se trabajó en un secadero de bandejas a escala piloto con pesada *in-situ* y control automático de temperatura y velocidad del aire (Leiva Díaz *et al.*, 2009). Las cinéticas se registraron por duplicado, a 40, 60 y 80 °C, con una velocidad de  $2.0 \pm 0.1$  m/s, usualmente utilizada en secaderos industriales (Greensmith, 1998). A partir de la humedad inicial ( $W_i$ ), determinada como se indica en el apartado anterior, se calcularon los subsecuentes valores de humedad mediante un balance de masa, asumiendo masa seca constante durante el secado (Ec. (1)).

$$W_t = \frac{m_t(1 + W_i)}{m_i} - 1 \quad (1)$$

$W_t$  y  $m_t$  son respectivamente la humedad (kg agua/ kg material seca) y la masa (kg) del producto al tiempo  $t$ , mientras que  $W_i$  y  $m_i$  son los valores iniciales correspon-

dientes. Los valores experimentales de  $m_i$  y  $m_f$  se obtuvieron operando el sistema de pesada *in-situ* a diferentes tiempos, mediante una balanza digital OHAUS (precisión, 0.01 g; capacidad, 3000 g, OHAUS Corporation, USA).

#### CONDICIONES OPERATIVAS DE SECADO

Durante todas las experiencias de secado, realizadas en una planta piloto, se registró simultáneamente la temperatura y humedad relativa del aire ambiente con un termohigrómetro Testo 608 H2 (Testo AG, Germany). Dicha información se introdujo al software psicrométrico Akton (Akton Associates Inc., USA) para determinar la humedad relativa del aire de secado ( $h_r$ ). La humedad de equilibrio ( $W_e$ ) en las condiciones de cada experiencia se calculó con el modelo de Halsey (Ec. (2)) (Cheng & Mujumdar, 2008; Mujumdar, 2006), que fue ajustado previamente para la isoterma del producto a 40 °C con un coeficiente de determinación de 0.999 (Demarchi *et al.*, 2013):

$$W_e = \left( \frac{-0.083}{\ln(a_w)} \right)^{10.990} \quad (2)$$

donde se asume que la actividad acuosa del producto ( $a_w$ ) es igual a  $h_r/100$  en condiciones de equilibrio. En general, las isotermas de frutas frescas y leathers no se ven afectadas por la temperatura por debajo de actividades acuosas de 0.15 (Demarchi *et al.*, 2013; Kaya & Kahyaoglu, 2005; Mrad *et al.*, 2012). Esta consideración permite el cálculo de  $W_e$  a partir de la Ec. (2) para todas las temperaturas de secado ensayadas, ya que la humedad relativa del aire de secado ( $h_r$ ) nunca fue superior al 13.2 %, por lo tanto los valores de  $a_w$  del producto en el equilibrio nunca excedieron de 0.132 en las condiciones experimentales (ver Tabla 1).

#### TEMPERATURA SUPERFICIAL DEL PRODUCTO DURANTE EL SECADO

Las curvas de temperatura superficial del producto se registraron por un método sin contacto, usando un termómetro infrarrojo Testo 830 T2. En la parte superior del secadero, justo sobre las bandejas, se encuentra un orificio con una tapa removible a través de la cual se apuntó el instrumento, registrando cinco valores de temperatura en un lapso de 10 s. El procedimiento se repitió a distintos intervalos de tiempo durante el proceso de secado.



## MODELADO MATEMÁTICO DE LAS CURVAS DE SECADO

Se empleó la solución analítica de la ecuación de difusión de agua en un sólido en estado no estacionario (Crank, 1975), integrada en el espesor del laminado, la cual predice la humedad adimensional media del producto ( $W_{ad}$ ) en función del tiempo ( $t$ ) para el caso general en que tanto la resistencia interna a la transferencia de masa como la externa, son relevantes. Se observó que el ajuste no mejoraba, en términos de  $r^2$ , más allá de los dos primeros términos de la serie, por lo que el modelo se redujo a la Ec. (3):

$$W_{ad} = \frac{W_t - W_e}{W_i - W_e} = 2 \left[ \frac{Bi_{m2} \exp\left[-\frac{\beta_1^2 D t}{d^2}\right]}{(\beta_1^2 + Bi_m^2 + Bi_m)\beta_1^2} + \frac{Bi_{m2} \exp\left[-\frac{\beta_2^2 D t}{d^2}\right]}{(\beta_2^2 + Bi_m^2 + Bi_m)\beta_2^2} \right] \quad (3)$$

El número de Biot de transferencia de masa ( $Bi_m$ ) y el coeficiente de difusión de agua ( $D$ ) son los parámetros de ajuste,  $d$  es el espesor medio del laminado y  $\beta_n$  es la  $n$ -ésima raíz de la siguiente ecuación trascendental (Ec.(4)):

$$f(\beta_n) = \beta_n \operatorname{tg}(\beta_n) - Bi_m = 0 \quad (4)$$

Las raíces  $\beta_1$  y  $\beta_2$  se expresaron en función del Biot, haciendo uso de una correlación desarrollada por Leiva Díaz *et al.*(2009). Por medio de una regresión no lineal en un programa estadístico (Systat, 1990), se obtuvieron los valores de  $Bi_m$  y  $D$  correspondientes a cada temperatura de secado.

## CÁLCULO DE LA TEMPERATURA CARACTERÍSTICA DEL PRODUCTO

Al observar la diferencia considerable entre la temperatura del producto y la del aire de secado, surgió la necesidad de contar con un valor representativo de la temperatura del producto. Por ello se propuso en forma original el concepto de “temperatura característica del producto” ( $T_c$ ), definida como la temperatura correspondiente al tiempo en el que la velocidad instantánea de secado ( $dW_t/dt$ ) iguala el valor de la velocidad media de todo el proceso ( $\Delta W/\Delta t$ ). Con el fin de calcular el tiempo característico ( $t_c$ ), la Ec. (3) fue reacomodada y derivada para obtener  $dW_t/dt$  (Ec. (5)).

$$\frac{dW_t}{dt} = -2Bi_{m2}(W_i - W_e) \left[ \sum_{n=1}^2 \frac{\beta_n^2 D}{(\beta_n^2 + Bi_m^2 + Bi_m)\beta_n^2 d^2} \exp\left(\frac{-\beta_n^2 D t}{d^2}\right) \right] \quad (5)$$

Por otro lado, la velocidad media de secado se calculó a partir de los datos experimentales, como  $\Delta W/\Delta t = (W_f - W_i)/t_f$  donde  $W_f$  y  $t_f$  representan la humedad final del producto y el tiempo total de proceso. Luego se aplicó la función *fzero* del entorno MATLAB (MATLAB, 2007) para determinar el tiempo ( $t_c$ ) al cual la velocidad instantánea ( $dW_i/dt$ ) toma el valor de la velocidad media ( $\Delta W/\Delta t$ ). Finalmente, una vez obtenido el valor de  $t_c$ , las historias térmicas experimentales se modelaron con la función *shape-preserving interpolant* (MATLAB, 2007) para encontrar la temperatura correspondiente a  $t_c$ , es decir, la temperatura característica del producto ( $T_c$ ).

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La humedad inicial ( $W_i$ ) de la formulación fue  $8.219 \pm 0.851$  kg agua/kg materia seca. Mientras que el espesor inicial del producto fue de  $7.5 \times 10^{-3}$  m, el espesor medio  $d$ , estimado con un modelo de encogimiento desarrollado previamente (Leiva Díaz *et al.*, 2009), fue:  $4.4 \times 10^{-3}$  m a  $40^\circ\text{C}$ , y  $4.3 \times 10^{-3}$  m a  $60$  y  $80^\circ\text{C}$ . Los valores ajustados de  $Bi_m$  y  $D$  se muestran en la Tabla 1, junto a las correspondientes temperaturas características del producto y las del aire de secado. El valor hallado para el Biot fue de 0.97 para todas las temperaturas, en concordancia con el planteo de un control interno/externo sobre la transferencia de masa. La Figura 1 ilustra las curvas de secado experimentales junto a los correspondientes modelos, mientras que las historias térmicas se presentan en la Figura 2. La gráfica tipo Arrhenius de la Figura 3, muestra el logaritmo natural de los coeficientes de difusión en función de la inversa de la temperatura del aire ( $1/T_{a\text{ abs}}$ ) y de la temperatura característica del producto ( $1/T_{c\text{ abs}}$ ), ambas expresadas en la escala absoluta Kelvin. En el primer caso, según la correlación tradicional, se encontró una energía de activación de 21.4 kJ/mol, comparable con valores hallados en otros alimentos mediante el mismo método (Di Scala & Crapiste, 2008; Maskan *et al.*, 2002). Por otro lado, al aplicar el método alternativo, los mismos coeficientes de difusión se correlacionaron con un rango más estrecho de temperaturas, generando una pendiente mayor, lo que resultó en una energía de activación de 37.3 kJ/mol. Dado que la temperatura característica del producto es más representativa que la del aire como valor constante con el cual relacionar los coeficientes de difusión, el sentido físico del mayor valor de  $E_a$  estaría mejor fundamentado. De hecho, el valor hallado al usar la correlación con  $1/T_{c\text{ abs}}$  es comparable al de la entalpía de vaporización del agua pura (40.63 kJ/mol), lo cual podría justificar el uso de  $T_c$ , o al menos abrir debate al respecto.

## 5. CONCLUSIONES

Al aplicar la correlación tradicional de Arrhenius entre el coeficiente de difusión y la temperatura del aire para el secado de laminados de tomate, se halló una energía de activación de 21.4 kJ/mol, comparable con lo reportado en otros trabajos. Sin embargo, al usar la temperatura característica del producto, la energía de activación fue de 37.3 kJ/mol. Este valor tiene sentido físico por ser comparable a la entalpía de vaporización del agua pura. Por tanto, la temperatura característica del producto podría ser un concepto útil, ya que representa la historia térmica mejor que la temperatura del aire de secado, y además guarda relación con parámetros cinéticos a través de la velocidad media del proceso. Estos resultados tienen una fuerte implicancia tecnológica, dado que los programas de simulación para el diseño de secaderos se basan en el valor de la  $E_a$  para predecir el efecto de la temperatura del aire sobre el consumo energético específico y, por tanto, sobre el costo del proceso.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOAC (1998). *Official methods of analysis* (16th ed.). Gaithersburg, USA: AOAC International.
- CRANK, J. (1975). *The mathematics of diffusion* (2d ed.). Oxford, Eng: Clarendon Press.
- CRAPISTE, G. H., & Rotstein, E. (1997). Design and performance evaluation of dryers. In K. J. Valentas, E. Rotstein & R. P. Singh (Eds.), *Handbook of food engineering practice* (pp. 718-726). Boca Raton, Fla.: CRC Press. Retrieved from <http://uclibs.org/PID/97000>.
- CHENG, X. D., & Mujumdar, A. S. (2008). *Drying technologies in food processing*. Hoboken, NJ, USA: Blackwell publishing Ltd.
- DEMARCHI, S. M., Quintero Ruiz, N. A., De Michelis, A., & Giner, S. A. (2013). Sorption characteristics of rosehip, apple and tomato pulp formulations as determined by gravimetric and hygrometric methods. *LWT - Food Science and Technology*, 52(1), 21-26. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2012.12.007>
- DI SCALA, K., & Crapiste, G. (2008). Drying kinetics and quality changes during drying of red pepper. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 41, 789-795.
- FIorentini, C., Leiva Diaz, E., & Giner, S. A. (2008). A mass-transfer model for the drying of an innovative tomato gel. *Food Science and Technology International*, 14(1), 39-46. doi: [10.1177/1082013208090035](http://dx.doi.org/10.1177/1082013208090035)

- GREENSMITH, M. (1998). *Practical dehydration* (2nd ed.). Boca Raton, Fla.: CRC Press.
- KAYA, S., & Kahyaoglu, T. (2005). Thermodynamic properties and sorption equilibrium of pestil (grape leather). *Journal of Food Engineering*, 71(2), 200-207. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2004.10.034
- LEIVADÍAZ, E., Giannuzzi, L., & Giner, S. (2009). Apple pectic gel produced by dehydration. [10.1007/s11947-007-0035-9]. *Food and Bioprocess Technology*, 2(2), 194-207.
- MASKAN, A., Kaya, S., & Maskan, M. (2002). Hot air and sun drying of grape leather (pestil). *Journal of Food Engineering*, 54(1), 81-88.
- MATLAB.(2007). MATLAB 7.0.01992.0 (R14). Natick, MA, USA: The MathWorks, Inc.
- MRAD, N. D., Bonazzi, C., Boudhrioua, N., Kechaou, N., & Courtois, F. (2012). Moisture Sorption Isotherms, Thermodynamic Properties, and Glass Transition of Pears and Apples. *Drying Technology*, 30(13), 1397-1406. doi: 10.1080/07373937.2012.683843
- MUJUMDAR, A. S. (2006). *Handbook of Drying Technology* (3<sup>rd</sup>ed.). Boca Raton, USA: CRC Press.
- RATTI, C. (2001). Hot air and freeze-drying of high-value foods: a review. *Journal of Food Engineering*, 49(4), 311-319. doi: http://dx.doi.org/10.1016/S0260-8774(00)00228-4
- SYSTAT.(1990). Systat 5.02. Evanston IL, USA 60201: Systat, Inc.
- ZOGZAS, N. P., Maroulis, Z. B., & Marinos-Kouris, D. (1996). Moisture Diffusivity Data Compilation in Foodstuffs. *Drying Technology*, 14(10), 2225-2253. doi: 10.1080/07373939608917205

## 7. TABLAS Y FIGURAS

**TABLA 1.** Condiciones operativas y parámetros cinéticos para el secado de laminados de tomate

| $T_a$ (°C) | $h_r$ (%)  | $W_e$ (kg agua/kg mat. seca) | $T_c$ (°C) | $Bi_m$ | $D$ (m <sup>2</sup> /s) | $r^2$ |
|------------|------------|------------------------------|------------|--------|-------------------------|-------|
| 40 ± 0.5   | 13.2 ± 1.4 | 0.0397 ± 0.0021              | 30.50      | 0.969  | 1.50 x10 <sup>-9</sup>  | 0.988 |
| 60 ± 0.5   | 6.5 ± 1.8  | 0.0293 ± 0.0031              | 38.02      | 0.972  | 2.60 x10 <sup>-9</sup>  | 0.987 |
| 80 ± 0.5   | 2.6 ± 0.1  | 0.0218 ± 0.0001              | 50.29      | 0.966  | 3.81 x10 <sup>-9</sup>  | 0.984 |

$T_a$ : temperatura del aire de secado;  $h_r$ : humedad relativa del aire de secado;  $W_e$ : humedad de equilibrio;  $T_c$ : temperatura característica del producto;  $Bi_m$ : número de Biot masa;  $D$ : coeficiente de difusión de agua;  $r^2$ : coeficiente de determinación para la Ec. (3).

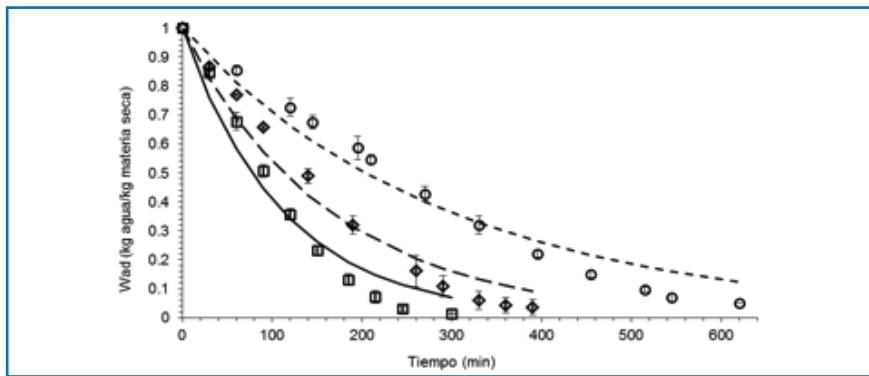


FIGURA 1. Humedad adimensional ( $W_{ad}$ ) en función del tiempo, a 40 °C (○), 60 °C (◇) y 80 °C (□). Las líneas representan los modelos correspondientes

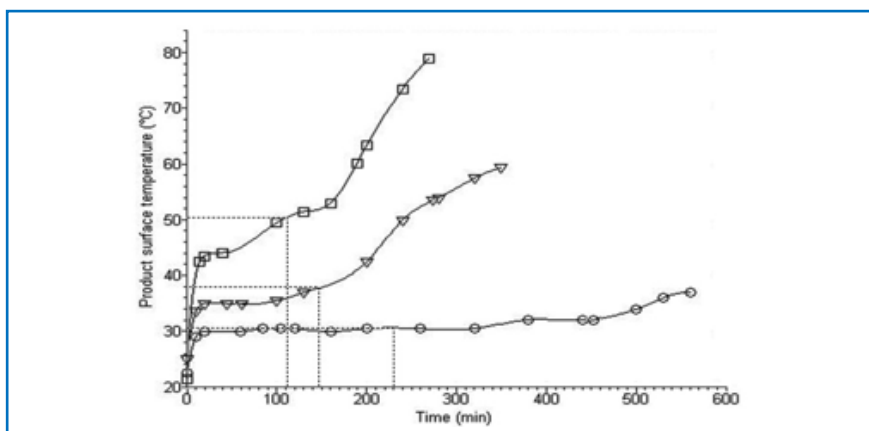


FIGURA 2. Historias térmicas del producto a 40 °C (○), 60 °C (▽) y 80 °C (□). Los segmentos punteados indican el tiempo y temperatura característicos. Las líneas describen el ajuste con la función *shape-preserving interpolant*

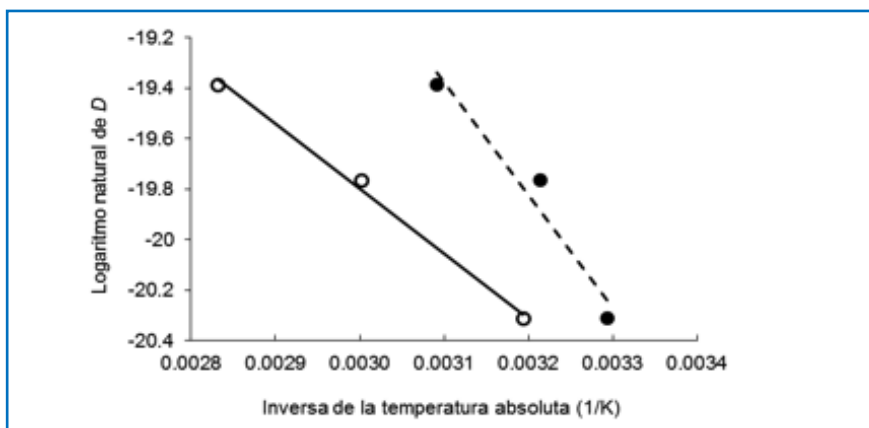


FIGURA3. Correlación de los coeficientes de difusión con la temperatura del aire (○) y la temperatura característica del producto(●). Las líneas representan el modelo de Arrhenius

# EFFECTO DE LA ADICIÓN DE AGENTES DE TENSIÓN ACTIVA EN LA ENCAPSULACIÓN DE D-LIMONENO MEDIANTE TÉCNICAS DE SECADO POR ASPERSIÓN

Karla Daniela Rubiano-Charry<sup>1</sup>, Jaime Alberto Cárdenas-García<sup>2</sup>,  
Héctor José Ciro-Velásquez<sup>1</sup>

## 1. RESUMEN

En este estudio fue evaluada la adición de cuatro agentes tensoactivos (tween 20, tween 60, caseinato de sodio y pectina de bajo metoxilo) en la formulación y estabilidad de emulsiones de d-limoneno, con una concentración de 0,5 % w/w, y las propiedades de calidad del producto final obtenido mediante secado por aspersión. Los resultados para las emulsiones mostraron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) con relación a la viscosidad y potencial  $z$  estableciendo por medio de una optimización que la mejor formulación se alcanza con una mezcla de 0,4% pectina de bajo metoxilo y 0,1 % de tween 60. Para el proceso de secado por aspersión fue evaluada la variación de la temperatura de entrada (150-200 °C) y salida (90-110 °C) del aire de secado y la velocidad del disco atomizador (20000-30000 rpm). Los resultados para el proceso de secado mostraron que las condiciones óptimas del proceso se alcanzan con una temperatura de entrada y salida del aire de secado de 156,7 °C y 90 °C respectivamente y velocidad del disco atomizador de 30000 rpm, para las cuales se obtiene en el producto final una solubilidad de 98,4 %, humedad 2,22 % (b.h), higroscopicidad 9,2 %, actividad de agua 0,111 y eficiencia de encapsulación 98 %.

## 2. INTRODUCCIÓN

La encapsulación es una tecnología que permite el recubrimiento de productos sólidos, líquidos o gaseosos con el fin de preservarlos empleando membranas de

---

CONTACTO: Karla D. Rubiano-Charry [kdrubianoc@unal.edu.co](mailto:kdrubianoc@unal.edu.co)

1. Posgrado en Ciencia y Tecnología de Alimentos, Dept. Ingeniería Agrícola y Alimentos, Universidad Nacional de Colombia - Sede Medellín, Medellín, Colombia.

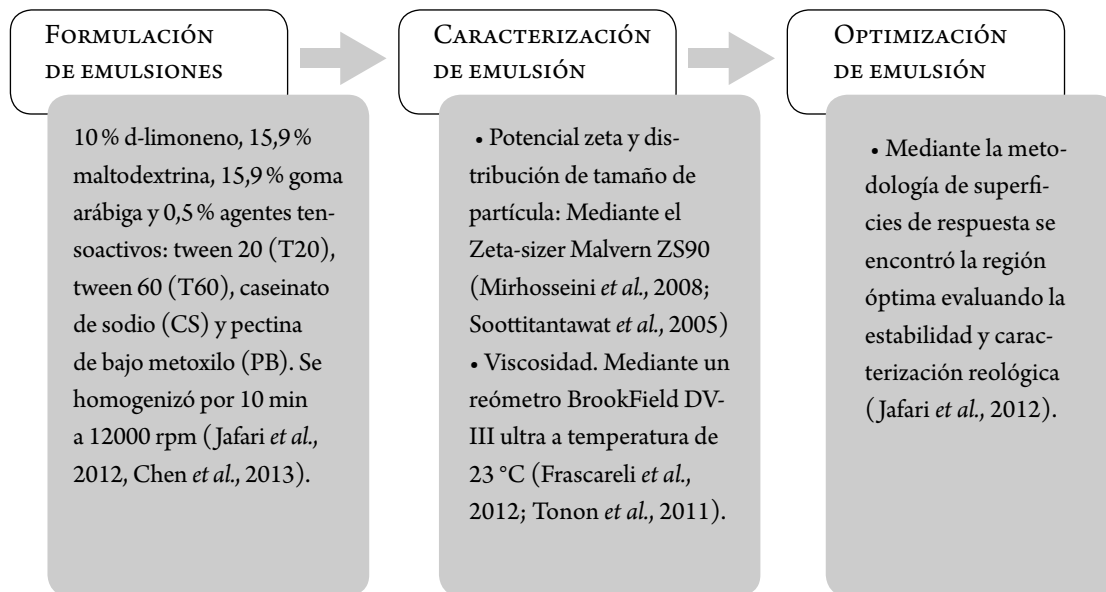
2. TECNAS S.A., Medellín, Colombia.

cobertura, siendo ampliamente utilizada en la industria alimentaria, puesto que protege materiales sensibles a las condiciones de procesamiento o almacenamiento y proporciona productos con mayor vida útil e igualmente permite que algunas sustancias puedan ser liberadas de forma controlada y en el tiempo adecuado (Barbosa *et al.*, 2005; Parra, 2010). Cuando se utiliza el secado por aspersión, se hace necesaria la adición de agentes tensoactivos para aumentar la estabilidad de la emulsión, y pueda soportar las temperaturas de secado sin deteriorarse. Lo anterior es posible debido a que los agentes tensoactivos se adsorben en la interfase y forman agregados que confieren mayor estabilidad (McClements, 2005; Aranberri *et al.*, 2006). El d-limoneno, es un terpeno que se extrae de las cáscaras de frutas cítricas y juega un papel importante en la fabricación de alimentos, medicamentos y perfumería. Como saborizante puede estar líquido o sólido, este último especialmente cuando interacciona con otros componentes de diversa naturaleza, por ejemplo en la fabricación de bebidas (Nguyen y Sabatini, 2009). Sin embargo, los sabores cítricos, en especial el d-limoneno, reaccionan fácilmente con el oxígeno y tienen elevada sensibilidad al calor, por lo que a altas temperaturas el sabor se va deteriorando. Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue encapsular el d-limoneno mediante la técnica de secado por aspersión evaluando la influencia de diferentes agentes con propiedades de superficie (tween 20, tween 60, caseinato de sodio y pectina de bajo metoxilo) en algunas características de calidad del producto obtenido.

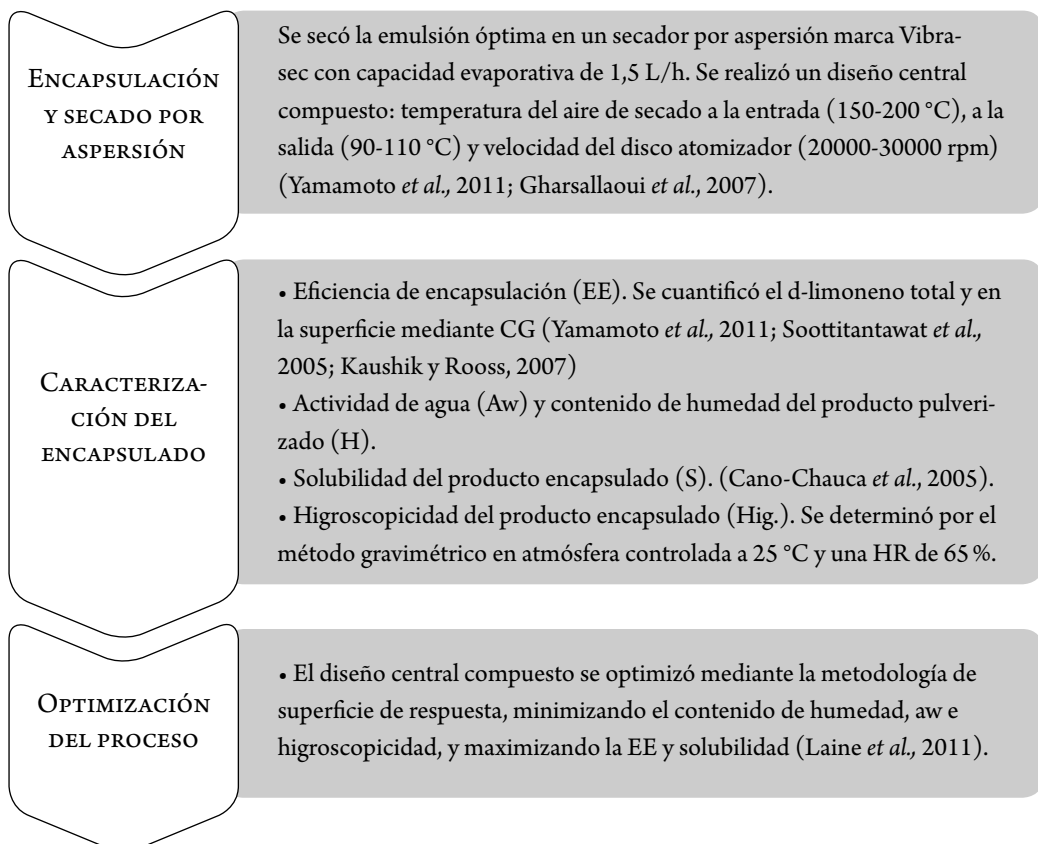
### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

La formulación y estudio de la estabilidad de emulsiones, el proceso de secado y caracterización del producto seco fue llevado a cabo en las instalaciones de la Empresa Tecnas S.A. y Universidad Nacional de Colombia-Sede Medellín. Las materias primas empleadas en las emulsiones fueron: d-limoneno, maltodextrina, goma arábiga y tensoactivos (tween 20, tween 60, caseinato de sodio y pectina de bajo metoxilo). El proceso de secado fue llevado a cabo usando un secador por aspersión completamente automatizado con una capacidad evaporativa de 1,5 litros/h. Las emulsiones fueron analizadas estadísticamente por un diseño de mezclas de vértices extremos (Tabla 1) y el proceso de secado por un diseño central compuesto (Tabla 2). El siguiente esquema de trabajo definido por la Fase I y Fase II fueron implementadas como metodología de trabajo:

## Fase I: Formulación y caracterización de emulsiones (núcleo: d-limoneno)



## Fase II: Microencapsulación mediante secado por aspersión





## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### CARACTERIZACIÓN DE EMULSIONES

El tamaño de partícula, potencial zeta y viscosidad de las emulsiones formuladas, se muestran en la Tabla 1. El diámetro de partícula varió entre 0,471 y 2,586  $\mu\text{m}$ , mostrando que en general los resultados obtenidos se encuentran en el rango para emulsiones estables. Paramita *et al.* (2010) encontraron que las emulsiones de d-limoneno son más estables cuando tenían un tamaño de gota menor a 3  $\mu\text{m}$ , y a su vez Soottitantawa *et al.* (2005) encontraron tamaños entre 0,84 y 3,37  $\mu\text{m}$ . El potencial zeta varió entre -22,3 y -42,6 mV, los cuales son valores cercanos a -30 mV que es el límite para la estabilidad de emulsiones (Malverns Instruments, 2004). De acuerdo con estos resultados, se puede observar el efecto positivo de los agentes tensoactivos, que permiten tener tamaños de partícula pequeños y valores de potencial zeta adecuados. También cabe resaltar, que al estar presente mezcla de tensoactivos se obtienen en general mejor estabilidad, lo cual concuerda con Peng *et al.* (2010), quienes encontraron que la adición de un segundo tensoactivo a la formulación podría proporcionar nanoemulsiones w/o más estables que con sólo un agente tensoactivo. En cuanto a las características reológicas (viscosidad), los análisis mostraron un comportamiento newtoniano para todas las formulaciones donde la viscosidad varió entre 142,1 y 288,95 mPa.s. De acuerdo con Gharsallaoui *et al.* (2007), es recomendable tener viscosidades bajas en procesos de secado por aspersion, ya que altas viscosidades interfieren en el proceso debido a la formación de gotas grandes, que afectan negativamente la velocidad de secado y las características del producto seco final.

En el análisis estadístico de optimización para hallar la mejor formulación de emulsión, se consideró minimizar la viscosidad de tal forma que el proceso de bombeo durante el secado sea lo más eficiente posible, y minimizar el tamaño de partícula y el potencial zeta. Sin embargo, se encontró una correlación significativa, con un nivel de confianza del 95 %, entre el tamaño de partícula y el potencial zeta, lo cual es evidente ya que estas dos variables influyen en la estabilidad de las emulsiones (Soottitantawat *et al.*, 2003; Wiacek y Chibowski, 2002). Los resultados mostraron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) para la viscosidad con relación a todos los factores y sus interacciones. Situación similar ocurrió para el potencial zeta.

Para la viscosidad se estableció un modelo cúbico como el que mejor se ajusta a los datos, con un  $R^2$  de 99,09 %, presentando un comportamiento dado en la Figura 1. Se observa que la viscosidad se minimiza al tener en la emulsión solo T60, CS o PB, y se maximiza con altos contenidos de CS y PB, lo cual concuerda con otros estudios donde se agregan en conjunto estas dos sustancias para obtener un sistema viscoso que genere estabilidad (Surh *et al.*, 2006). Al optimizar esta respuesta se tiene que la menor viscosidad se logra con una mezcla de 0,1 % T60 y 0,4 % PB. Como se mencionó anteriormente, debido al análisis multivariado entre el tamaño de partícula y el potencial zeta, se estableció centrar la estabilidad con base al potencial zeta el cual muestra emulsiones estables cuando su valor es menor a -30 mV (Malvern Instruments, 2004). Un análisis de varianza al 5 %, encontró que bajo el modelo lineal el potencial zeta presenta diferencias significativas ( $p < 0,05$ ), sin embargo este mostró un bajo coeficiente de regresión ( $R^2 = 35,55$  %). En la Figura 2 se observa la superficie de respuesta para esta variable, donde es evidente que la menor estabilidad se tiene con 0,5 % de T20, lo cual puede deberse a la concentración, ya que según Lee *et al.* (2013), con 1 % w/w de tween 20 empleado en la microencapsulación de extracto de maní, se obtiene un alto rendimiento de microencapsulación y una alta estabilidad para la emulsión; mientras que la concentración evaluada aquí fue de 0,5 %. Pero debido al bajo coeficiente de regresión, esta variable no se consideró en la optimización. Los resultados del proceso de optimización estadística mostró que la mejor formulación para la emulsión está definida por 0,1 % tween 60 y 0,4 % de pectina, donde se logra alcanzar una viscosidad de 130,197 mPa.s y un potencial zeta de -33,8 mV.

## **SECADO POR ASPERSIÓN Y CARACTERIZACIÓN**

### **DE LOS PRODUCTOS ENCAPSULADOS**

En la Tabla 2 se muestran los resultados para las variables de calidad del producto encapsulado: eficiencia de encapsulación entre 92,18 – 99,56 %, solubilidad entre 98,12 – 98,55 %, humedad entre 2,13 – 3,5 %, actividad de agua entre 0,173 y 0,605, e higroscopicidad, en ambientes de humedad relativa del 65 %, entre 6,56 – 11,62 %. El ANOVA mostró diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) para la solubilidad, humedad e higroscopicidad. Sin embargo, para la solubilidad se presentaron diferencias mínimas que no son importantes a nivel práctico, y para la eficiencia de encapsulación y actividad de agua no se encontraron diferencias estadísticas

( $p > 0,05$ ). En la Figura 3 (A y B) se encuentra el comportamiento de la humedad del producto en función de la velocidad de atomización. La Figura 3A indica que para una baja velocidad de atomización, la humedad de los productos encapsulados es menor cuando se usan bajas temperaturas de entrada del aire de secado y altas de salida, ya que se producen gradientes de temperatura más elevados, lo que resulta en un producto final con menor humedad (Tonon *et al.*, 2008; Silva *et al.*, 2013). La Figura 3B, muestra la variación de la humedad del producto a altas velocidades de atomización, en la cual la humedad tiende a disminuir combinando altas temperaturas de secado a la entrada y bajas temperaturas de salida, donde también se presenta un alto gradiente de temperatura. Sin embargo, al comparar ambos comportamientos (figuras 3A y 3B) se evidencia que la velocidad del disco afecta de forma considerable la humedad del producto, ya que si esta es mayor la humedad disminuye, pues el tamaño de gota formado es menor.

El comportamiento para la higroscopicidad se presenta en la Figura 4 (A y B). Se observa que en general al variar la velocidad de atomización, la higroscopicidad mantiene la misma tendencia, siendo menor cuando se usa bajas temperaturas de entrada y salida del aire de secado. Tonon *et al.*, (2008) encontraron resultados similares en el desarrollo de polvos de açai mediante secado por aspersion, donde los valores de higroscopicidad más bajos se obtuvieron con la disminución de las temperaturas; de igual forma se encontró que cuanto menor sea el contenido de humedad de las partículas, mayor es su higroscopicidad, lo cual coincide con los resultados de la Tabla 2. Cabe resaltar que el tamaño de partícula también es importante en cuanto a la higroscopicidad, ya que si se tienen partículas pequeñas, su área superficial es mayor y por ende favorece la adsorción de agua del ambiente (Ghosal *et al.*, 2010).

### **OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE SECADO**

La optimización del proceso de secado por aspersion se realizó minimizando la humedad, higroscopicidad, y solubilidad, dejando las otras variables en el rango definido; dando mayor importancia a la higroscopicidad y baja a la humedad y solubilidad. El análisis estadístico estableció que las condiciones óptimas del proceso de secado se alcanzan con una temperatura de entrada y salida del aire de secado de 156,7 °C y 90 °C respectivamente y velocidad del disco atomizador de 30000 rpm, para las cuales se obtiene una solubilidad de 98,4 %, humedad del producto en pol-

vo de 2,22 % (b.h), higroscopicidad de 9,2 %, actividad de agua de 0,112 y eficiencia de encapsulación de 98 %.

## 5. CONCLUSIONES

En este trabajo se logró evaluar la adición de diferentes agentes tensoactivos en la formulación y estabilidad de emulsiones de d-limoneno y su encapsulación mediante secado por aspersión, con el objetivo de obtener un saborizante en polvo disponible para la industria alimentaria. Una mezcla de 0,4 % pectina de bajo metoxilo y 0,1 % tween 60 mostró los mejores resultados en cuanto a estabilidad de emulsiones, y las condiciones óptimas para el proceso de secado son temperatura de entrada y salida del aire de secado de 156,7 °C y 90 °C respectivamente y velocidad del disco atomizador de 30000 rpm, con lo cual se logra un producto encapsulado con condiciones adecuadas para su almacenamiento.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARANBERRI, I., Binks, B.P., Clint, J.H., Fletcher, P.D.I. (2006) Elaboración y caracterización de emulsiones estabilizadas por polímeros y agentes tensoactivos. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 7, 3, 211 – 231.
- BARBOSA, G., Ortega-Rivas, E., Juliano, P., Yan, H. (2005) *Food Powders. Physical properties, processing and functionality*. Kluwer Academic/ Plenum Publishers, New York.
- CANO-CHAUCA, M.; Stringheta, P. C.; Ramos, A. M.; Cal-Vidal J. (2005) Effect of the carriers on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and its functional characterization. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 6: 420 – 428.
- CHEN, Q., McGillivray, D., Wen, J., Zhong, F., Quek, S. (2013). Co-encapsulation of fish oil with phytosterol esters and limonene by milk proteins. *Journal of Food Engineering*.
- FRASCARELLI, E.C., Silva, V.M., Tonon, R.V., Hubinger, M.D. (2012) Effect of process conditions on the microencapsulation of coffee oil by spray drying. *Food and Bioprocess Technology*, 90, 413–424
- GHARSALLAOUI, A., Raudaut, G., Chabin, O., Voilley, A., Saurel, R. (2007) Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International*, 40, p. 1107–1121.

- GHOSAL, S., Indira, T.N, Bhattacharya, S. (2010). Agglomeration of a model food powder: Effect of maltodextrin and gum Arabic dispersions on flow behavior and compacted mass. *Journal of Food Engineering*, 96, 222–228.
- JEFARI, S., Beheshti, P., Assadpoor, E. (2012) Rheological behavior and stability of D-limonene emulsions made by a novel hydrocolloid (Angum gum) compared with Arabic gum. *Journal of Food Engineering*, 109, 1–8.
- KAUSHIK, V., ROOS, Y. (2007) Limonene encapsulation in freeze-drying of gum Arabic-sucrose-gelatinesystems. *LWT, Food Science and Technology*, 40, 1381 – 1391.
- LAINE, P., Toppinen, E., Kivelä, R., Taavitsainen, V., Knuutila, O., Sontag-Strohm, T., Jouppila, K., Loponen, J. (2011) Emulsion preparation with modified oat bran: Optimization of the emulsification process for microencapsulation purposes. *Journal of Food Engineering*, 104, 538–547.
- LEE, Y.K., Ahn, S., Kwak, H. (2013). Optimizing microencapsulation of peanut sprout extract by response surface methodology. *Food Hydrocolloids*, 30, 307-314.
- MALVERN INSTRUMENTS, L. (2004). *Zetasizer Nano Series User Manual*. (Malvern Instrument, Ed.) (1st ed., p. 270). Worcestershire.
- MCCLEMENTS, D.J. (2005) *Food Emulsions. Principles, practices and techniques*. CRC Press, Boca Raton.
- MIRHOSSEINI, H., Tan, C., Hamid, N., Yusof, S. (2008) Effect of Arabic gum, xanthan gum and orange oil contents on  $\zeta$ -potential, conductivity, stability, size index and pH of orange beverage emulsion. *Colloids and Surfaces*, 315, 47–56.
- NGUYEN T.T. AND SABATINI D.A. (2009) “Formulating alcohol-free microemulsions using rhamnolipid biosurfactant and rhamnolipid mixtures.” *Journal of Surfactants and Detergents*. 12, 109-115.
- PARAMITA, V., Furuta, T., Yoshii, H. (2010). Microencapsulation Efficacy of d-Limonene by Spray Drying Using Various Combinations of Wall Materials and Emulsifiers. *Food Science and Technology Research* 16 (5), 365 – 372.
- PARRA, R. (2010) Revisión: Microencapsulación de alimentos. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 63, 2, 5669 – 5684.
- PENG LC, Liu CH, Kwan CC, Huang KF (2010) Optimization of water-in-oil nanoemulsions by mixed surfactants. *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp* 370:136–142.
- SILVA, P., Stringheta, P., Teófilo, R., Rebouças, I. (2013). Parameter optimization for spray-drying microencapsulation of jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) peel extracts using simultaneous analysis of responses. *Journal of Food Engineering* 17(4), 538–544.

- SOOTITANTAWAT, A., Yoshii, H., Furuta, T., Ohkawara, M., & Linko, P. (2003). Microencapsulation by spray drying: Influence of emulsion size on the retention of volatile compounds. *Journal of Food Science*, 68, 2256–2262.
- SOOTITANTAWAT, A., Bigeard, F., Yoshii, H., Furuta, T., Ohkawara, M., Linko, P. (2005) Influence of emulsion and powder size on the stability of encapsulated D-limonene by spray drying. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 6, 107– 114.
- SURH, J., Decker, E., McClements, D. (2006). Influence of pH and pectin type on properties and stability of sodium-caseinate stabilized oil-in-water emulsions. *Food Hydrocolloids*, 20, 607–618.
- TONON, R., Grosso, C., Hubinger, M. (2011) Influence of emulsion composition and inlet air temperature on the microencapsulation of flaxseed oil by spray drying. *Food Research international*, 44, 282-289.
- TONON, R.V., Brabet, C., Rubinger, M.D. (2008). Influence of process conditions on the physicochemical properties of açai (*Euterpe oleraceae* Mart.) powder produced by spray drying. *Journal of Food Engineering* 88, 411–418.
- WIACEK, A., Chibowski, E. (2002). Zeta potential and droplet size of n-tetradecane/ethanol (protein) emulsions. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 25, 55–67.
- YAMAMOTO, C., Furut, T., Neoh, T., Yoshii, H. (2011) Molecular encapsulation of citral or d-limonene flavor by spray drying. *International Congress on Engineering and Food*.

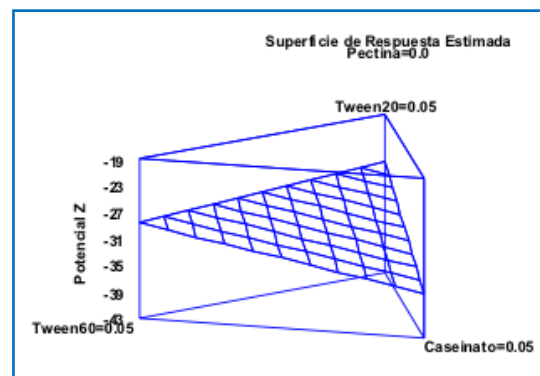
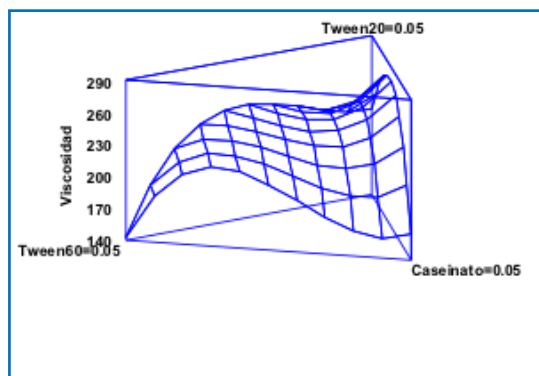
## 7. TABLAS Y FIGURAS

**TABLA 1.** Caracterización de las emulsiones formuladas

| T20(%) | T60(%) | CS (%) | PB (%) | Diámetro partícula (µm) | Potencial z (mV) | Viscosidad (mPa.s) |
|--------|--------|--------|--------|-------------------------|------------------|--------------------|
| 0      | 0,33   | 0      | 0,17   | 1,942±0,078             | -27,85±1,55      | 250,5±2,34         |
| 0      | 0      | 0,5    | 0      | 2,027±0,105             | -31,95±1,26      | 163,25±2,18        |
| 0,17   | 0,17   | 0      | 0,17   | 1,163±0,046             | -34,6±0,02       | 190,9±1,55         |
| 0      | 0,17   | 0,33   | 0      | 1,858±0,105             | -42,6±0,42       | 177,95±3,04        |
| 0      | 0      | 0,33   | 0,17   | 2,001±0,169             | -37,15±1,31      | 211,3±1,83         |
| 0      | 0,17   | 0      | 0,33   | 1,928±0,356             | -32,6±1,46       | 151,6±1,27         |
| 0      | 0,5    | 0      | 0      | 0,471±0,034             | -28,2±0,42       | 142,1±1,55         |
| 0,17   | 0,17   | 0,17   | 0      | 1,364±0,026             | -25,55±1,20      | 226,6±1,13         |
| 0,33   | 0,17   | 0      | 0      | 0,874±0,041             | -35,55±1,62      | 239,7±2,68         |
| 0      | 0      | 0,17   | 0,33   | 2,330±0,018             | -36,4±0,99       | 243,8±1,10         |
| 0      | 0,33   | 0,017  | 0      | 1,544±0,035             | -35,15±0,64      | 213,55±1,14        |
| 0,33   | 0      | 0      | 0,17   | 1,276±0,003             | -29,15±0,35      | 244,8±1,76         |
| 0,5    | 0      | 0      | 0      | 0,578±0,017             | -22,3±0,14       | 226,35±1,41        |
| 0      | 0,17   | 0,17   | 0,17   | 2,326±0,081             | -29,3±0,52       | 288,95±2,05        |
| 0,17   | 0      | 0      | 0,33   | 2,129±0,238             | -32,65±0,63      | 271,2±1,05         |
| 0,17   | 0,33   | 0      | 0      | 0,930±0,009             | -24,25±0,49      | 235,8±3,01         |
| 0,33   | 0      | 0,17   | 0      | 1,288±0,049             | -35,3±0,98       | 282,25±2,04        |
| 0,17   | 0      | 0,17   | 0,17   | 2,228±0,131             | -32,7±1,55       | 268,6±1,69         |
| 0,17   | 0      | 0,33   | 0      | 2,586±0,128             | -29,8±1,02       | 261,5±1,25         |
| 0      | 0      | 0      | 0,5    | 1,993±0,153             | -36,8±1,55       | 186,15±2,54        |
| 0,5    | 0      | 0      | 0      | 0,604±0,020             | -31,25±1,47      | 214,2±1,55         |
| 0,33   | 0,17   | 0      | 0      | 0,684±0,037             | -22,75±1,60      | 237,05±1,63        |
| 0,33   | 0      | 0,17   | 0      | 1,327±0,037             | -27,45±0,35      | 263,65±0,07        |
| 0,33   | 0      | 0      | 0,17   | 1,152±0,034             | -22,8±0,99       | 257,15±1,63        |
| 0,17   | 0,33   | 0      | 0      | 0,803±0,010             | -26,9±0,42       | 243,1±0,99         |

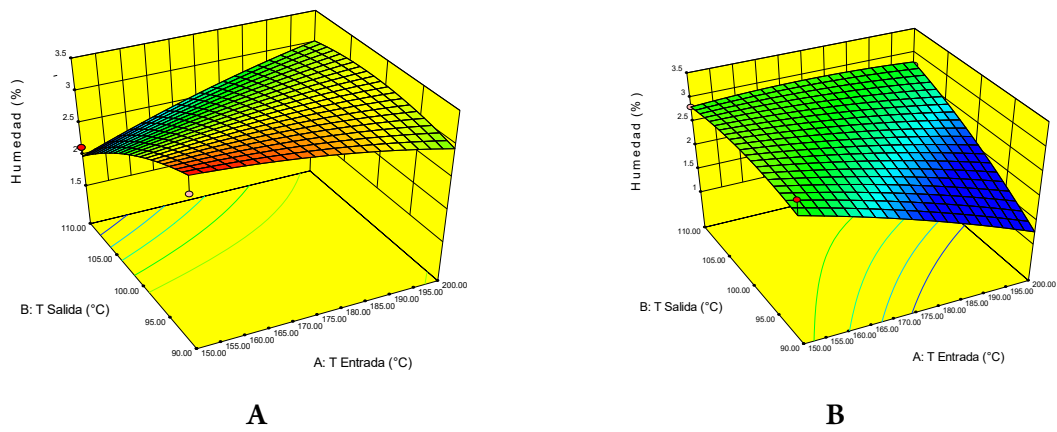
**TABLA 2.** Resultados de la caracterización de los productos encapsulados

| Ten (°C) | Tsal (°C) | Vel (rpm) | EE (%)     | S (%)      | H (%)     | Hig (%)   | Aw         |
|----------|-----------|-----------|------------|------------|-----------|-----------|------------|
| 200      | 116,4     | 30000     | 96,53±0,64 | 98,35±0,02 | 3,32±0,23 | 9,51±0,00 | 0,207±0,01 |
| 200      | 119,6     | 20000     | 92,18±0,24 | 98,38±0,02 | 2,61±0,31 | 8,16±0,00 | 0,550±0,02 |
| 175      | 100       | 25000     | 99,15±0,34 | 98,39±0,21 | 2,64±0,20 | 8,67±0,00 | 0,357±0,02 |
| 175      | 100       | 25000     | 95,25±0,21 | 98,47±0,06 | 3,13±0,10 | 8,42±0,00 | 0,239±0,01 |
| 175      | 100       | 25000     | 93,36±0,23 | 98,4±0,01  | 2,99±0,12 | 8,32±0,00 | 0,204±0,02 |
| 175      | 100       | 25000     | 95,21±0,83 | 98,45±0,00 | 2,82±0,17 | 8,84±0,00 | 0,430±0,02 |
| 200      | 115,5     | 20000     | 93,77±1,28 | 98,46±0,01 | 2,71±0,02 | 9,47±0,00 | 0,253±0,02 |
| 175      | 100       | 25000     | 98,21±0,36 | 98,44±0,06 | 2,66±0,14 | 8,19±0,00 | 0,605±0,01 |
| 150      | 90        | 20000     | 95,07±0,36 | 98,5±0,01  | 3,22±0,09 | 6,56±0,00 | 0,320±0,01 |
| 150      | 110       | 30000     | 97,75±0,35 | 98,12±0,26 | 2,82±0,15 | 11,3±0,00 | 0,390±0,02 |
| 175      | 100       | 33409     | 97,47±0,42 | 98,55±0,27 | 2,3±0,07  | 9,87±0,00 | 0,358±0,01 |
| 132,9    | 100       | 25000     | 98,86±0,34 | 98,13±0,26 | 2,77±0,12 | 10,4±0,00 | 0,445±0,02 |
| 200      | 109,8     | 30000     | 97,09±0,77 | 98,42±0,02 | 2,76±0,05 | 9,7±0,00  | 0,411±0,01 |
| 175      | 100       | 16591     | 95,97±0,22 | 98,49±0,28 | 3,5±0,31  | 8,68±0,00 | 0,539±0,02 |
| 175      | 100       | 25000     | 97,37±0,16 | 98,43±0,05 | 2,7±0,04  | 9,87±0,00 | 0,545±0,02 |
| 175      | 100       | 25000     | 97,78±0,32 | 98,48±0,02 | 2,69±0,11 | 9,6±0,00  | 0,173±0,03 |
| 150      | 110       | 20000     | 95,53±1,10 | 98,3±0,05  | 2,13±0,06 | 11,6±0,00 | 0,567±0,03 |
| 175      | 100       | 25000     | 98,88±0,15 | 98,46±0,02 | 3,12±0,11 | 9,62±0,00 | 0,550±0,02 |
| 217,     | 113,9     | 25000     | 99,56±0,12 | 98,43±0,01 | 3,22±0,18 | 9,63±0,00 | 0,579±0,02 |
| 175      | 92,3      | 25000     | 99,52±1,90 | 98,49±0,17 | 2,74±0,29 | 9,28±0,00 | 0,396±0,01 |
| 150      | 90        | 30000     | 98,01±0,66 | 98,45±0,09 | 3,15±0,15 | 8,73±0,00 | 0,302±0,01 |
| 175      | 116,8     | 25000     | 97,04±0.01 | 98,34±0,01 | 2,33±0,49 | 10,8±0,00 | 0,389±0,03 |
| 175      | 100       | 25000     | 98,73±0.01 | 98,47±0.00 | 2,82±0,37 | 9,92±0,00 | 0,437±0,02 |

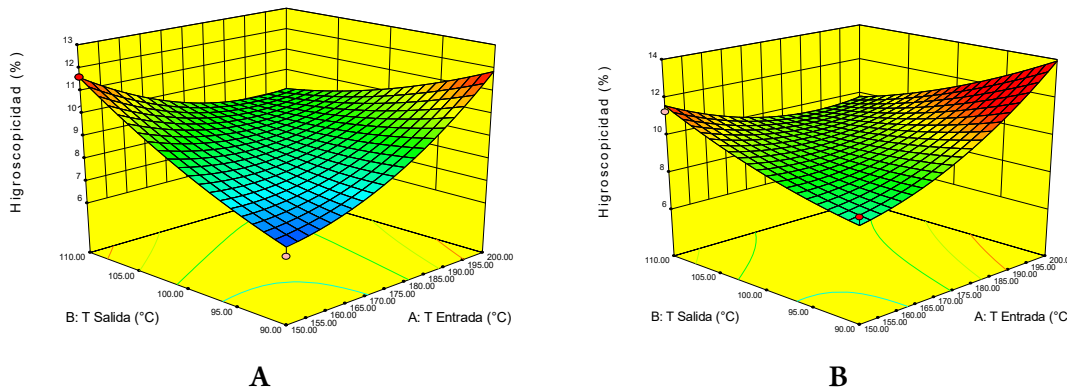


**FIGURA 1.** Superficie de respuesta viscosidad **FIGURA 2.** Superficie de respuesta potencial z





**FIGURA 3.** Superficies de respuesta para Humedad. (A) Para una velocidad de atomización de 20000 rpm - punto mínimo (B) Para una velocidad de atomización de 30000 rpm – punto máximo



**FIGURA 4.** Superficies de respuesta para Higroscopicidad. (A) Para una velocidad de atomización de 20000 rpm - punto mínimo (B) Para una velocidad de atomización de 30000 rpm – punto máximo

# CAMBIOS EN LOS COMPONENTES ANTIOXIDANTES DURANTE EL PROCESO DE OBTENCIÓN DE VINAGRE DE ARÁNDANOS

Cristina Verónica Davies, Carina Alejandra Soldá, Luz Marina Zapata,  
Liliana Mabel Gerard, María Mercedes Ferreyra

## 1. RESUMEN

Los arándanos son ricos en compuestos fenólicos, lo que los hace reconocidos por sus potenciales efectos beneficiosos para la salud, como la prevención de enfermedades cardiovasculares, neuronales, cáncer, diabetes, entre otras. Anualmente en la provincia de Entre Ríos (Argentina) se descartan entre un 5-15 % debido a que estos frutos no cumplen con atributos de calidad para la comercialización en fresco, por lo que se ha propuesto una alternativa de industrialización de estas bayas para reducir los impactos socioeconómicos del sector arandano. El objetivo de la investigación fue evaluar el efecto de las fermentaciones alcohólica y acética en el contenido de componentes antioxidantes durante un proceso de obtención de vinagre de arándanos. Se utilizaron bayas pertenecientes al género *Vaccinium corymbosum* que fueron trituradas y acondicionadas para obtener un sustrato para vinificación (SV). Éste fue inoculado con *Sacharomyces cerevisiae* para producir el sustrato alcohólico (SA) que posteriormente se sometió al proceso de acetificación en cultivo sumergido discontinuo con bacterias acéticas hasta obtener vinagre joven (VJ). En los SV, SA y VJ se realizaron determinaciones de antocianinas totales (método diferencial de pH), fenoles totales (reducción del reactivo de Folin-Ciocalteu) y actividad antioxidante (métodos ABTS y DPPH). El análisis estadístico se realizó con software Statgraphics Centurión XV Corporate, mediante Análisis de Varianza y Contraste Múltiple de Rangos. En SV el contenido de antocianinas totales fue  $243,91 \pm 10,14$  mg cianidina-3-glucósido/L, de fenoles totales,  $122,40 \pm 3,37$  mg GAE/100 mL y

---

CONTACTO: Cristina Verónica Davies [daviesc@fcal.uner.edu.ar](mailto:daviesc@fcal.uner.edu.ar)  
Facultad de Ciencias de la Alimentación, Universidad Nacional de  
Entre Ríos, Mons. Tavella 1450, Concordia, Entre Ríos, Argentina.

la actividad antioxidante, medida por los métodos ABTS y DPPH,  $62,48 \pm 0,91$  y  $40,14 \pm 0,35$  mg EAA/100 mL, respectivamente. Durante la fermentación alcohólica se observó una disminución de la concentración de antocianinas totales del 87 %, aumento de fenoles totales del 7 % e incremento en la medida de actividad antioxidante de 18 % (ABTS) y 35 % (DPPH); mientras que durante la acetificación disminuyeron las antocianinas totales en un 44 %, los fenoles totales en un 51 % y la actividad antioxidante 24 % (ABTS) y 55 % (DPPH). El incremento de fenoles totales fue atribuido a un aumento de la extracción de estos desde los arándanos hacia el medio hidroalcohólico, mientras que la disminución de antocianinas y fenoles se debió, probablemente, tanto a las diluciones realizadas en la preparación de los sustratos como a la existencia de procesos oxidativos. Se concluye que la fermentación alcohólica produjo una mayor disminución de antocianinas totales y la fermentación acética, de fenoles totales y actividad antioxidante.

## 2. INTRODUCCIÓN

El vinagre ha sido conocido desde las civilizaciones antiguas debido a su uso como saborizante y conservador de alimentos. Si bien ha sido tradicionalmente considerado como un producto industrial secundario sin interés comercial relevante, la gran diversidad de productos que contienen vinagre (salsas, ketchup, mayonesa, etc.) ha favorecido su resurgimiento (Zhengliang Qi *et al.*, 2013; de Ory *et al.*, 2002). Cualquier materia prima o producto que posea azúcares fermentables y sea inocuo para la salud humana y animal, puede ser utilizado para su elaboración (Solieri y Giudici, 2009). Técnicamente, es una solución diluida de ácido acético obtenida por un doble proceso fermentativo: la primer etapa corresponde a la fermentación alcohólica de los azúcares fermentables presentes en la materia prima y, en la segunda fase, el etanol producido es oxidado hasta ácido acético mediante bacterias de la familia *Acetobacteriaceae* (Adams, 1998).

Los arándanos pertenecen a la familia de las Ericáceas y al género *Vaccinium*. Este cultivo fue introducido en la Argentina a principios de la década de los '90, lográndose un notable desarrollo especialmente en la zona este de la provincia de Entre Ríos (Anderson *et al.*, 2006). Entre los años 2003 y 2012 la producción total de arándanos en Argentina pasó de 845 t a 20300 t. Si bien entre 80-85 % de la misma se destina a exportación de fruto fresco y 3-10 % para mercado interno (consu-

mo en fresco e industrialización), el resto (5-15 %) se descarta debido a múltiples factores, entre ellos, la elevada selectividad de la demanda y la falta de atributos de calidad para su comercialización en fresco. Además del impacto socioeconómico, se ha generado un impacto ambiental adverso ya que en algunos casos las bayas no comercializadas se desechan en campos a cielo abierto (Zapata, 2014).

Desde el punto de vista químico y nutricional, estas bayas se destacan por su alta concentración en antioxidantes naturales como el ácido ascórbico, compuestos fenólicos y antocianinas (Prior *et al.*, 1998; Faria *et al.*, 2005; Nunes, 2008), lo cual los hace reconocidos por sus potenciales efectos beneficiosos para la salud, como la prevención de enfermedades cardiovasculares, neuronales, cáncer, diabetes, entre otras (Castañeda-Ovando *et al.*, 2009; Moldovan *et al.*, 2012). El carácter antioxidante radica en el control que aquellos ejercen sobre radicales libres como  $\text{OH}\cdot$  (hidroxilo) y  $\text{O}_2\cdot$  (superóxido) causantes de oxidación y daño de las células (Youngson, 2004).

Se considera de interés, por lo tanto, evaluar el desarrollo de nuevos productos con posibilidades de industrialización, obtenidos a partir de materias primas ricas en compuestos antioxidantes, en este caso vinagre de arándanos. El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de las fermentaciones alcohólica y acética en el contenido de componentes antioxidantes durante el proceso de obtención de vinagre de arándanos.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron arándanos maduros del género *V. corymbosum*, producidos en el departamento Concordia. Estos frutos se lavaron, escurrieron y trituraron hasta obtener una suspensión homogénea. Una fracción de la misma se utilizó para determinar antocianinas totales (AT), fenoles totales (FT) y actividad antioxidante (AA). Los arándanos triturados se pesaron y se agregó agua para evitar su gelificación. Se adicionó una fuente de nitrógeno y metabisulfito de potasio ( $\text{KHSO}_3$ ), este último como agente inhibidor de microorganismos indeseables. Luego se inoculó con un cultivo comercial activo de *Saccharomyces cerevisiae*, con lo que se obtuvo el sustrato para vinificación (SV).

Una fracción de SV se utilizó para cuantificar AT, FT y AA. El SV se ubicó en ambiente climatizado a 25 – 28 °C para el desarrollo de la fermentación alcohóli-

ca. Una vez finalizada la fermentación, se procedió al trasiego y de esta manera se obtuvo el mosto alcohólico de arándanos (MA). Con objeto de evitar el efecto inhibidor del etanol sobre las bacterias acéticas (de Ory *et al.*, 2002; Garrido Vidal *et al.*, 2003), ya que la graduación alcohólica obtenida fue de  $12,9 \pm 0,1$  % v/v, el MA se debió diluir hasta 6 % v/v etanol, obteniéndose así el sustrato para acetificación (SA). Se tomó una muestra de SA para cuantificar AT, FT y AA.

La fermentación acética fue conducida por inoculación de *Acetobacter* sp. en un biorreactor de escala laboratorio marca New Brunswick Cientific Co., Modelo Bioflo 2000, de 2 L de volumen útil. Las condiciones iniciales del sustrato fueron: concentración de alcohol: 6 % v/v y acidez total (expresada como ácido acético):  $10,99 \pm 1,20$  g/L. La temperatura se mantuvo constante en  $30 \pm 1$  °C durante todo el proceso. Éste se dio por finalizado cuando se observó que la acidez total permanecía constante, luego de la etapa exponencial de crecimiento microbiano. Se tomó una muestra del vinagre joven (VJ) para determinar AT, FT y AA.

**Antocianinas totales (AT):** fueron determinadas por el método diferencial de pH (Giusti y Wrolstad, 2001).

**Fenoles Totales (FT):** se determinaron por reducción del reactivo de Folin-Ciocalteu (Saura-Calixto, 1998).

**Actividad Antioxidante (AA):** para su determinación se utilizaron dos métodos: la técnica ABTS que implica la formación del radical  $ABTS^{•+}$  y su medida a una longitud de onda de 734 nm (Re *et al.*, 1999) y el método DPPH, basado en la reducción de la absorbancia a 517 nm del radical DPPH $\cdot$  (Brand-Williams *et al.*, 1995). Para ambos métodos se utilizó ácido L-ascórbico como antioxidante de referencia.

El análisis estadístico se realizó con software Statgraphics Centurión XV Corporate, mediante Análisis de Varianza y Contraste Múltiple de Rangos.

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

##### ANTOCIANINAS TOTALES

La concentración de AT disminuyó durante el proceso de obtención de vinagre (Tabla 1). Se registró una pérdida de 98 % entre su concentración en las frutas y el vinagre. Este resultado concuerda con los obtenidos por Su y Chien (2007), en su trabajo sobre vinagre de arándanos, donde la reducción de la concentración de AT del producto fue superior al 99 % respecto de la materia prima.

La disminución entre la fruta y el SV fue de 72,1 %, debido principalmente a la dilución efectuada en el acondicionamiento del sustrato, además las moléculas de antocianinas probablemente sufrieron el ataque nucleofílico del agua al catión flavilio, formando compuestos incoloros (Kopjar *et al.*, 2011). La reducción del contenido de AT fue del 87 % entre el SA y el SV (fermentación alcohólica) y de 44 % entre el vinagre y el SA (fermentación acética).

Ubeda *et al.* (2013) en sus estudios de obtención de vinagre de frutilla observaron una pérdida de AT en la fermentación alcohólica entre 63-85 %, dependiendo del tipo de tratamiento. Klopotek *et al.* (2005) también hallaron resultados similares en la fabricación de vinagre de frutilla, en los que apreciaron una reducción de la concentración de AT del 69-79 %. En la experiencia realizada, el deterioro de las AT pudo estar relacionada con la cepa de levadura utilizada en la fermentación (Ubeda *et al.*, 2011), posiblemente debido a la adsorción de AT a las paredes celulares de aquellas (Morata *et al.*, 2005) y a reacciones de condensación con acetaldehído formado durante el metabolismo de las *Saccharomyces cerevisiae* (Bosso y Guaita, 2008). Además, como se mencionó anteriormente, hubo efecto de dilución al acondicionar el SA, como así también un probable ataque nucleofílico del agua al catión flavilio de las antocianinas.

Referido a las etapas de acetificación de un vino de arándanos, Su y Silva (2006) verificaron una reducción del 79 % en la concentración de AT, valor éste superior al obtenido en la presente investigación, probablemente debido a que trabajaron en un sistema estático (superficial) el cual requiere de mayores tiempos para la obtención del producto final. Estos autores señalaron, además, que las antocianinas son muy sensibles al proceso de acetificación debido a la presencia de enzimas polifenoloxidasas. Por otro lado, otros factores que pudieron influir en su deterioro son el oxígeno presente en el medio, la temperatura de trabajo y enzimas producidas por los microorganismos durante la acetificación (Su y Silva, 2006; Castañeda-Ovando *et al.*, 2009).

## **FENOLES TOTALES**

Se observó una importante disminución en la concentración de FT (85 %) en el vinagre respecto de la fruta (Tabla 1), debido probablemente a la fuerte oxidación del proceso y a la dilución efectuada durante el acondicionamiento de los sustratos. La concentración de FT en el vinagre depende de las técnicas de procesado tales como

el tiempo de contacto con la piel, triturado y prensado, además de la presencia de oxígeno, enzimas y temperatura de trabajo (Su y Chien, 2007).

La concentración de FT entre la materia prima y el SV disminuyó un 72 % atribuible, como ya se ha señalado, a la dilución del sustrato. Sin embargo, entre el SV y el SA se observó un aumento del 7 % debido probablemente a que su extracción continuó durante la vinificación (Lee y Wrolstad, 2004). Delteil *et al.* (2000) publicaron que el dióxido de azufre, liberado por el metabisulfito de potasio agregado, pudo haber actuado como protector contra la oxidación, además de reducir la constante dieléctrica del agua y consecuentemente aumentar la solubilidad de los fenoles, mecanismo este aún desconocido (Ubeda *et al.*, 2011). Por otra parte, Ubeda *et al.* (2011) encontraron que la levadura puede influir de dos maneras diferentes: capturando polifenoles (Razmkhab *et al.*, 2002; Mazauric y Salmon, 2005) o bien, segregando desde el interior celular y de la pared celular, compuestos antioxidantes distintos de los polifenoles presentes naturalmente en la materia prima (Jaehrig *et al.*, 2007; Aredes Fernandez *et al.*, 2010).

Entre el SA y el vinagre (VJ) hubo una pérdida de FT del 51 %, atribuida a la fuerte degradación o transformación fenólica (Andlauer *et al.*, 2000) ocasionada por el elevado caudal de aire durante el proceso de acetificación.

#### **ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE**

Para la evaluación de la AA se utilizaron los radicales ABTS<sup>•+</sup> y DPPH<sup>•</sup>. Con la primera metodología se midió una pérdida de AA entre la materia prima y el vinagre de 93 % y con la segunda metodología, de 96 % (Tabla 1).

La reducción de la AA entre la fruta y el SV fue de 92 y 93 %, para ABTS y DPPH, mientras que entre SV y SA se observó un incremento del 18 % y del 35 % en las mismas técnicas. En las etapas de acetificación hubo una disminución de la AA de 24 y 55 % en sendas metodologías.

La disminución de la AA del SV fue atribuida a la dilución del sustrato mientras que el aumento de este parámetro en SA se correlacionó con el incremento en la concentración de FT extraídos durante la fermentación alcohólica. La posterior reducción se estima fue debida a la degradación de las AT, lo que también provocó una disminución en los FT.

Cerezo *et al.* (2010) comprobaron una disminución de la AA del 16,8 % para la etapa de acetificación, medida con la metodología DPPH. Este valor fue mucho

menor que el hallado en el presente estudio, probablemente debido a que estos investigadores no efectuaron dilución del sustrato, y por lo tanto, los cambios se correspondieron con variaciones en la composición química luego del proceso fermentativo, más que con efectos de dilución.

## 5. CONCLUSIONES

En general, tanto la fermentación alcohólica como la acetificación afectaron negativamente el contenido de antocianinas. En cambio el contenido de fenoles totales aumentó en la fermentación alcohólica debido a un posterior proceso extractivo, mientras que en la fermentación acética se acentuaron los procesos oxidativos de los componentes fenólicos, provocando una disminución de los antioxidantes.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, M.R. 1998. *Microbiology of Fermented Foods*. Blackie Academic & Professional.
- ANDERSON, C.; Kulczycki, C.; Vergara, A. y Tejedor, M. 2006. Cosecha de arándanos. Buenas Prácticas Agrícolas. [en línea]. Dirección URL: <http://www.inta.gov.ar/concordia/actividad/eventos/material%20Curso%202006.pdf>. [Consulta: 18 de agosto de 2010].
- ANDLAUER, W.; STUMPF, C.; FÜRST, P. 2000. Influence of the acetification process on phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 3533-3536.
- AREDES FERNANDEZ, P.A.; Farias, M.E.; Nadra, M.C. 2010. Interaction between *Oenococcus oeni* and *Lactobacillus hilgardii* isolated from wine. Modification of available nitrogen and biogenic amine production. *Biotechnology Letters*, 32: 1095-1102. En: Ubeda, C.; Hidalgo, C.; Torija, M.J.; Mas, A.; Troncoso, A.M.; Morales, M.L. 2011. Evaluation of antioxidant activity and total phenols index in persimmon vinegars produced by different processes. *LWT – Food Science and Technology*, 44: 1591-1596.
- ASOCIACIÓN DE PRODUCTORES DE ARÁNDANOS DE LA MESOPOTAMIA ARGENTINA (APAMA).
- BOSSO, A.; Guaita, M. 2008. Study of some factors involved in ethanal production during alcoholic fermentation. *European Food Research and Technology*, 227: 911-917. En: Ubeda, C.; Callejón, R.M.; Hidalgo, C.; Torija, M.J.; Troncoso, A.M.; Morales, M.L. 2013. Employment of different processes for the production of strawberry vinegars: effects on antioxidant activity, total phenols and monomeric anthocyanins. *LWT – Food Science and Technology*, 52: 139-145.



- BRAND-WILLIAMS W., Cuvelier M.E., Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT – Food Science and Technology*, 22: 25-30.
- CASTAÑEDA-OVANDO, A.; Pacheco-Hernández, M.L.; Páez-Hernández, M.E.; Rodríguez, J.A.; Galán-Vidal, C.A. 2009. Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry*. 113: 859-871.
- CEREZO, A B.; Cuevas, E.; Winterhalter, P.; García-Parrilla, M.C.; Troncoso, A.M. 2010. Anthocyanin composition in Cabernet Sauvignon red wine vinegar obtained by submerged acetification. *Food Research International*. 43: 1577-1584.
- DELTEIL, D.; Feuillat, M.; Guilloux Benatier, M.; Sapis, J.C. 2000. Los vinos blancos secos. En C. Flanzy (Ed.) *Enología: Fundamentos científicos y tecnológicos* (pp. 443-461). Madrid: Vicente ediciones/Ediciones Mundi-Prensa Publishers. En: Ubeda, C.; Callejón, R.M.; Hidalgo, C.; Torija, M.J.; Troncoso, A.M.; Morales, M.L. 2013. Employment of different processes for the production of strawberry vinegars: effects on antioxidant activity, total phenols and monomeric anthocyanins. *LWT – Food Science and Technology*, 52: 139-145.
- DE ORY, I.; Romero, L.E.; Cantero, D. 2002. Optimum starting-up protocol of a pilot plant scale acetifier for vinegar production. *Journal of Food Engineering*, 52: 31-37.
- FARIA A, Oliveira J, Neves P, Gameiro P, Santos-Buelga C, de Freitas V, Mateus N. 2005. Antioxidant properties of prepared blueberry (*Vaccinium myrtillus*) extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 (17): 6896-902.
- GARRIDO-VIDAL, D.; Pizarro, C. & González-Sáiz, J. M. 2003. Study of process variables in industrial acetic fermentation by a continuous pilot fermentor and response surfaces. *Biotechnology Progress*, 19: 1468–1479.
- GIUSTI M.M.; Wrolstad R.E. 2001. Unit F1.2:1-13. Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. Wrolstad. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. New York: Wiley.
- JAEHRIG, S.C.; Rohn, S.; Kroh, L.W.; Fleischer, L.G.; Kurz, T. 2007. In vitro potential antioxidant activity of (1-3), (1-6)- $\beta$ -D-glucan and protein fractions from *Saccharomyces cerevisiae* cell walls. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55: 4710-4716. En: Ubeda, C.; Hidalgo, C.; Torija, M.J.; Mas, A.; Troncoso, A.M.; Morales, M.L. 2011. Evaluation of antioxidant activity and total phenols index in persimmon vinegars produced by different processes. *LWT – Food Science and Technology*, 44: 1591-1596.
- KLOPOTEK, Y.; Otto, K; Boehm, V. 2005. Processing strawberries to different products alters contents of vitamin C, total phenolics, total anthocyanins and antioxidant capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 5640-5646. En: Ubeda, C.; Callejón, R.M.; Hidalgo,

- C.; Torija, M.J.; Troncoso, A.M.; Morales, M.L. 2013. Employment of different processes for the production of strawberry vinegars: effects on antioxidant activity, total phenols and monomeric anthocyanins. *LWT – Food Science and Technology*, 52: 139-145.
- KOPJAR M, Bilić B, Piližota V. 2011. Influence of different extracts addition on total phenols, anthocyanin content and antioxidant activity of blackberry juice during storage. *Croatian Journal of Food Science and Technology*, 3: 9-15.
- LEE, J.; Wrolstad, R.E. 2004. Extraction of anthocyanins and polyphenolics from blueberry-processing waste. *Journal of Food Science*, 69: 564-573. En: Ubeda, C.; Callejón, R.M.; Hidalgo, C.; Torija, M.J.; Troncoso, A.M.; Morales, M.L. 2013. Employment of different processes for the production of strawberry vinegars: effects on antioxidant activity, total phenols and monomeric anthocyanins. *LWT – Food Science and Technology*, 52: 139-145.
- MAZAURIC, J.P.; Salmon, J.M. 2005. Interactions between yeasts lees and wine polyphenols during simulation of wine aging: I. Analysis of remnant polyphenolic compounds in the resulting wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 5647-5653. Ubeda, C.; Hidalgo, C.; Torija, M.J.; Mas, A.; Troncoso, A.M.; Morales, M.L. 2011. Evaluation of antioxidant activity and total phenols index in persimmon vinegars produced by different processes. *LWT – Food Science and Technology*, 44: 1591-1596.
- MOLDOVAN, B.; David, L.; Chişbora, C.; Cimpoiu, C. 2012. Degradation Kinetics of Anthocyanins from European Cranberrybush (*Viburnum opulus L.*) Fruit Extracts. Effects of temperature, pH and storage solvent. *Molecules* 2012, 17, 11655-11666.
- MORATA, A.; Gomez-Cordoves, M.C.; Colomo, B.; Suarez, J.A. 2005. Cell wall anthocyanin adsorption by different *Saccharomyces* strains during the fermentation of *Vitis vinifera L. cv. Graciano* grapes. *European Food Research and Technology*, 220: 341-346. En: Ubeda, C.; Callejón, R.M.; Hidalgo, C.; Torija, M.J.; Troncoso, A.M.; Morales, M.L. 2013. Employment of different processes for the production of strawberry vinegars: effects on antioxidant activity, total phenols and monomeric anthocyanins. *LWT – Food Science and Technology*, 52: 139-145.
- NUNES, MCN. 2008. Color atlas of quality of fruits and vegetables, 2<sup>a</sup> ed. USA: Blackwell Publishing.
- PRIOR, R. L.; Martin, A.; Cao, G.; Sofic, E.; McEwan, J.; O'Brien, C.; Lischner, N.; Ehlenfeldt, M.; Krewer, G.; Mainland, C. M. 1998. Antioxidant capacity as influenced by total phenolics and anthocyanin content, maturity and variety of *Vaccinium* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 2686-2693.

- RAZMKHAB, S.; Lopez-Toledano, A.; Ortega, J.M.; Mayen, M.; Merida, J.; Medina, M. 2002. Adsorption of phenolic compounds and browning products in white wines by yeasts and their cell walls. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 7432-7437.
- RE, R; PELLEGRINI, N.; Proteggente, A.; Pannala, A.; Yang, M.; Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26:1231-1237.
- SAURA-CALIXTO, F. 1998. Antioxidant dietary fiber product: a new concept and a potential food ingredient. En: Su Min-Sheng, Silva J.L. 2006. Antioxidant activity, anthocyanins, and phenolics of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*) by-products as affected by fermentation. *Food Chemistry*, 97:447-451.
- SOLIERI, L. Y GIUDICI, P. 2009. Vinegars of the world. En: *Vinegars of the world*. Solieri, L. y Giudici, P. Eds. Springer-Verlag Italia S.R.L., 1-14.
- SU, M-S; Chien, P-J. 2007. Antioxidant activity, anthocyanins and phenolics of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*) fluid products as affected by fermentation. *Food Chemistry*, 104: 447-451.
- SU, M-S; Silva, J.L. 2006. Antioxidant activity, anthocyanins and phenolics of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*) by-products as affected by fermentation. *Food Chemistry*, 97: 182-187.
- UBEDA, C.; Hidalgo, C.; Torija, M.J.; Mas, A.; Troncoso, A.M.; Morales, M.L. 2011. Evaluation of antioxidant activity and total phenols index in persimmon vinegars produced by different processes. *LWT – Food Science and Technology*, 44: 1591-1596.
- UBEDA, C.; Callejón, R.M.; Hidalgo, C.; Torija, M.J.; Troncoso, A.M.; Morales, M.L. 2013. Employment of different processes for the production of strawberry vinegars: effects on antioxidant activity, total phenols and monomeric anthocyanins. *LWT – Food Science and Technology*, 52: 139-145.
- YOUNGSON, R. 2004. ¿Qué son los radicales libres? En: Antioxidantes y radicales libres. Editorial Acribia. España.
- ZAPATA, LUZ MARINA. 2014. Obtención de extracto de antocianinas a partir de arándanos para ser utilizado como antioxidante y colorante en la industria alimentaria. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia.
- ZHENGLIANG QI, Hailin Yang, Xiaole Xia, Yu Xin, Ling Zhang, Wu Wang, Xiaobin Yu. 2013. A protocol for optimization vinegar fermentation according to the ratio of oxygen consumption versus acid yield. *Journal of Food Engineering*. 116 (2): 304-309.

## 7. TABLAS Y FIGURAS

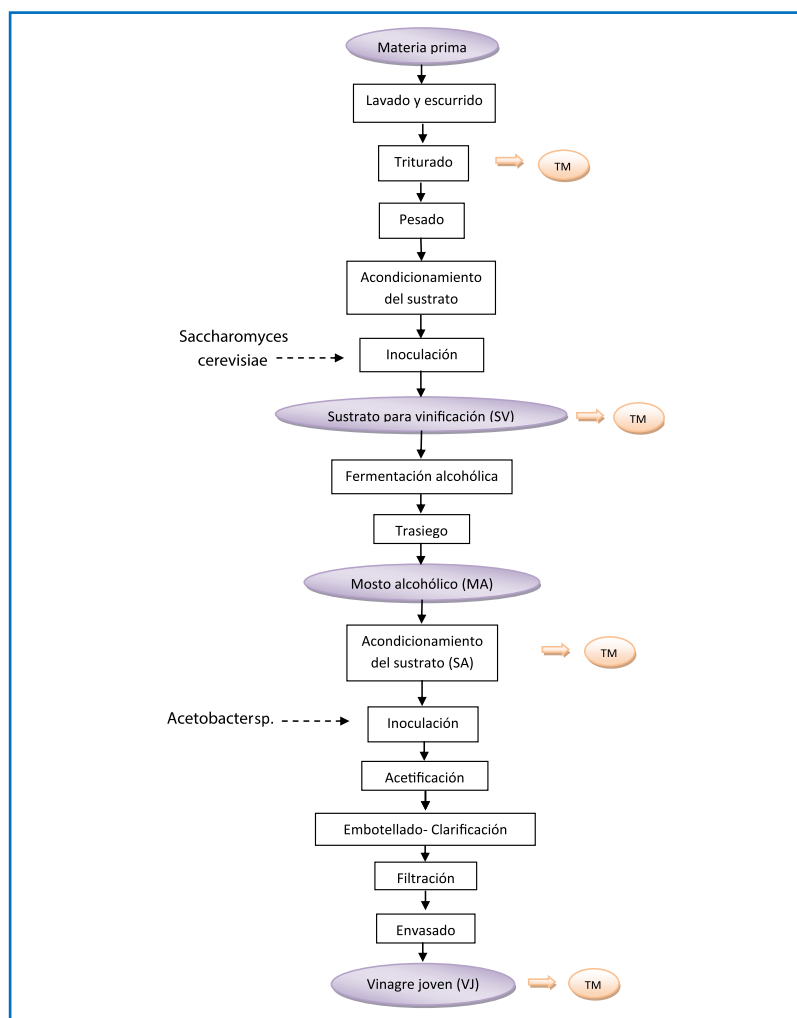


FIGURA 1. Flow sheet de elaboración de vinagre de arándanos

TABLA 1. Componentes antioxidantes presentes en distintas etapas del proceso de obtención de vinagre de arándanos

|  | Antocianinas Totales (mg cian.-3-gluc./L) | Fenoles Totales (mg GAE/100 mL) | ABTS (mg EAA/100 mL)          | DPPH (mg EAA/100 mL)           |
|--|---|---------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|
| <b>Fruta</b>                           | 873,8 ± 3,44 <sup>(1)a</sup>              | 430,18 ± 9,40 <sup>(2)a</sup>   | 800,98 ± 3,22 <sup>(3)a</sup> | 559,99 ± 25,15 <sup>(3)a</sup> |
| <b>Sustrato para vinificación (SV)</b> | 243,91 ± 10,14 <sup>b</sup>               | 122,40 ± 3,37 <sup>c</sup>      | 62,48 ± 0,91 <sup>c</sup>     | 40,14 ± 0,35 <sup>c</sup>      |
| <b>Sustrato alcohólico (SA)</b>        | 32,62 ± 0,34 <sup>c</sup>                 | 130,80 ± 3,74 <sup>b</sup>      | 73,58 ± 0,25 <sup>b</sup>     | 53,91 ± 0,03 <sup>b</sup>      |
| <b>Vinagre joven (VJ)</b>              | 18,38 ± 0,78 <sup>d</sup>                 | 64,52 ± 1,42 <sup>d</sup>       | 57,37 ± 1,87 <sup>d</sup>     | 24,12 ± 1,02 <sup>d</sup>      |

<sup>(1)</sup> La concentración de AT se expresó en mg cianidina-3-glucósido/kg fruta.

<sup>(2)</sup> La concentración de FT se expresó en mg GAE/100 g fruta.

<sup>(3)</sup> La actividad antioxidante se expresó en mg EAA/100 mg fruta.

Letras distintas indican diferencias significativas (p-valor < 0,05) entre las medias de los productos

# ESTUDIO DE BACTERIAS DEL ÁCIDO ACÉTICO DESTINADAS A LA PRODUCCIÓN DE VINAGRES DE FRUTAS

Liliana Mabel Gerard, Cristina Verónica Davies, María Cristina Cayetano Arteaga, Carina Soldá, Viviana Rita Rodríguez, María Mercedes Ferreyra

## 1. RESUMEN

El vinagre es un producto biotecnológico obtenido por oxidación biológica de etanol presente en un mosto alcohólico por la acción de las bacterias del ácido acético (BAA). Se puede realizar una fermentación alcohólica de todas las frutas que contienen azúcares y a partir de este mosto, elaborar vinagres de frutas con características particulares. El objetivo del presente trabajo fue identificar, caracterizar y evaluar la capacidad de producir ácido acético de las BAA aisladas a partir de naranjas, para ser utilizadas como cultivo iniciador en la elaboración de vinagres de frutas. La caracterización se hizo mediante pruebas bioquímicas: oxidación de acetato y lactato, formación de ácido a partir de azúcares y alcoholes y producción de quinonas. La identificación molecular se realizó mediante RFLP-PCR del gen 16S rRNA y del espaciador intergénico 16S-23S rRNA. Los productos amplificados fueron digeridos con enzimas de restricción: *AluI*, *RsaI*, *TaqI*, *MspI* y *HaeIII* (Fermentas) y analizados en gel de agarosa (3 % p/v), buffer TBE 1X con 0,5 µg/ml de bromuro de etidio. Para determinar las condiciones del medio de cultivo que optimicen la velocidad de acetificación (VA), las BAA fueron inoculadas en caldo RAE con diferentes concentraciones de ácido acético (AA) (0,5 %, 1,0 % p/v) y etanol (E) (4, 6, 8 % v/v) e incubadas a  $30 \pm 1$  °C durante 72 horas, mediante sistema de inyección de aire. El análisis estadístico se realizó mediante el software Statgraphics Centurion XV Corporate mediante Análisis de Varianza y Contraste Múltiple de Rangos. Los ensayos bioquímicos realizados permitieron clasificar los aislados BC4, BC5, BC6 y BC9, como pertenecientes al género *Acetobacter*. Con el análisis de los patrones

---

CONTACTO: Liliana Mabel Gerard [gerardl@fcal.uner.edu.ar](mailto:gerardl@fcal.uner.edu.ar)  
Facultad de Ciencias de la Alimentación, Universidad Nacional  
de Entre Ríos, Argentina.

de restricción se lograron identificar a nivel especie: BC4, BC5 y BC6 fueron identificadas como *Acetobacter pasteurianus* y BC9 como *Acetobacter syzygii*. Para los aislados BC4, BC6 y BC9, el porcentaje de E y de AA influyen significativamente en la VA; en cambio, para el aislado BC5, la VA es independiente de los porcentajes de AA estudiados. Las mayores VA se obtuvieron para las bacterias BC6 (0,55 y 0,60 g/L/h de AA) con 0,5 % AA y 4 y 6 % de E respectivamente, y para BC9 (0,59 g/L/h de AA y 0,58 g/L/h de AA) con 4 % de E y 0,5 y 1 % de AA. Se concluye que los aislados BC6 (*Acetobacter pasteurianus*) y BC9 (*Acetobacter syzygii*) se podrían utilizar como starter para la elaboración de vinagres de frutas, ya que presentan alta capacidad de producir ácido acético a partir de etanol.

## 2. INTRODUCCIÓN

Las bacterias del ácido acético (BAA) son bacilos Gram negativos, de forma elipsoidal o cilíndricas, que pueden encontrarse solos, de a pares o formando cadenas. Son móviles por flagelación polar o peritrica, no forman endosporas, aerobias, su metabolismo es respiratorio, con el oxígeno como aceptor final de electrones, catalasa positiva y oxidasa negativa. Su temperatura óptima de crecimiento oscila entre 25-30 °C y su pH óptimo es de 5-6 (Mandigan *et al.*, 2009). Se las encuentra en substratos azucarados y/o con presencia de alcohol tales como flores, frutas, miel, vino, sidra, cerveza y vinagre. Sobre estos substratos llevan a cabo una oxidación incompleta de los azúcares y los alcoholes produciendo una acumulación de ácidos orgánicos como productos finales (Jara *et al.*, 2008); cuando el sustrato es el etanol producen ácido acético como producto principal. La capacidad de estas bacterias de producir altas concentraciones de ácido acético a partir de etanol se utiliza en la producción industrial de vinagres (Sengun y Karabiyikli, 2011).

Tradicionalmente, las especies bacterianas se identificaban de acuerdo a criterios morfológicos, bioquímicos y fisiológicos (González *et al.*, 2005). Sin embargo, con el desarrollo de las nuevas técnicas de Biología Molecular, los criterios actuales utilizados para la clasificación e identificación bacteriana son genotípicos o moleculares. Las técnicas moleculares, como la hibridación DNA-DNA, la secuenciación de genes ribosomales o los métodos basados en la PCR son muy útiles para la realización de estudios taxonómicos. Sin embargo, algunas de estas prácticas son largas, tediosas y caras, y no se utilizan para la realización de análisis rutinarios (Prieto *et*

al., 2007). La amplificación de una secuencia conocida, como el gen ribosomal 16S y la posterior digestión del fragmento amplificado con diversas enzimas de restricción (RFLP), permite la identificación de prácticamente todas las especies de BAA (González *et al.*, 2006). Es un método rápido, fiable y en el que se invierte poco tiempo para la identificación de BAA a nivel de género y especie (Ruiz *et al.*, 2000; González *et al.*, 2005; Sharafi *et al.*, 2010).

Las BAA están clasificadas en 14 géneros, sin embargo sólo los géneros *Acetobacter* (A.) y *Gluconacetobacter* (Ga.) (recientemente re-clasificado como *Komagataei-bacter*) (Yamada *et al.*, 2012) son utilizadas para la elaboración industrial de vinagres, ya que éstas son los que producen mayor cantidad de ácido acético y muestran una gran resistencia a altas concentraciones de ácido acético (Sievers *et al.*, 1992). Las especies de *Acetobacter*, especialmente *A. pasteurianus* se utiliza para vinagres que no excedan el 6 % de ácido acético, en cambio las especies de *Gluconacetobacter*, especialmente *Ga. europaeus* es utilizada para la producción de vinagres con más de 10 % de ácido acético (Matsutani *et al.*, 2013).

El vinagre ha sido siempre considerado como uno de los productos de calidad más baja de los alimentos fermentados, ya que antiguamente fue calificado como un accidente en el proceso de vinificación (de Ory *et al.*, 2002). Sin embargo, en la actualidad, se ha convertido en uno de los aderezos más versátil y utilizado, sobre todo en la cocina gourmet. En ese sentido, las industrias han captado las preferencias de los consumidores y han comenzado a realizar vinagres más selectos. Es por eso que en la Argentina, se pueden encontrar vinagres varietales a base de Malbec, Merlot o Cabernet, Torrontés Tardío. Una curiosidad es un vinagre de higos (con una acidez del 4 %) producido en Tucumán. Pero es en los saborizados donde el mercado es cada vez más rico en propuestas: saborizados con pimienta de cayena, romero, estragón u orégano, Vinagre Balsámico con sabor a nuez pecán, Aceto Andino de Frutos del Bosque, que en rigor es un vinagre al que maceraron con moras, arándanos, frambuesas y frutillas.

A pesar de los intentos de estandarizar el proceso de acetificación para la elaboración de vinagres, todavía no hay disponible en el mercado un cultivo iniciador de BAA. La falta de arrancadores puede causar varios problemas en la producción de vinagre y, consecuentemente, pérdidas económicas. Contar con un cultivo starter fiable podría acelerar el comienzo de la oxidación, así como también, disminuir los problemas de contaminación y los tiempos de proceso (Ndoye *et al.*, 2009).

El objetivo del presente trabajo fue identificar, caracterizar y evaluar la capacidad de producir ácido acético de BAA aisladas a partir de naranjas, con el fin de determinar el posible uso como cultivo starter destinado a la producción de vinagre de frutas

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

**Microorganismos:** se utilizaron BAA aisladas de naranja Navel Alargada, provenientes del departamento Concordia (Entre Ríos).

**Características fisiológicas y bioquímicas:** las BAA fueron caracterizadas con las siguientes pruebas bioquímicas: oxidación de acetato y lactato, formación de ácido a partir de azúcares y alcoholes (L-arabinosa, D-arabinosa, L-ramnosa, D-manosa, L-sorbosa, melibiosa, D-xilosa, D-galactosa, D-glucosa, D-fructosa, sacarosa, rafinosa, D-manitol, D-sorbitol, dulcitol, glicerol, etanol y propanol) (Asai *et al.*, 1964; Yamada *et al.*, 1976) y determinación de quinonas (Tanasupawat *et al.*, 2009).

**Obtención de ADN genómico:** las bacterias se cultivaron en caldo GY (glucosa 1 %, extracto de levadura 1 %), durante 72 horas a  $30 \pm 1$  °C. Posteriormente, se utilizó Kit de extracción de ADN (UltraClean Microbial DNA Isolation kit Mo Bio). La calidad de ADN extraído se comprobó en gel de agarosa al 1 % (p/v) y TBE 1X, con 0.5 µg/ml de bromuro de etidio durante 45 minutos a 100 V, se utilizó el marcador de peso molecular de 1kb (Genbiotech).

**Condiciones de PCR:** para la amplificación del gen 16S ADNr se utilizaron los iniciadores P1 (5'-GCTGGCGGCATGCTTAACACAT-3') y P2 (5'-GGAGGTGATCCAGCCGCAGGT-3') y para la amplificación del gen 16-23S ADNr, los iniciadores P3 (5'-ACCTGCGGCTGGATCACCTCC-3') y P4 (5'-CCGAATGCCCTTATCGCGCTC-3') (Ruiz *et al.*, 2000). Las amplificaciones se hicieron en volúmenes de 50 µl que contenían 2 µL de ADN templado y 48 µL de mezcla de amplificación. El mix se formó de la siguiente manera: 10 % Buffer 1X, 3mM de MgCl<sub>2</sub>, 0,25mM de dNTPs, 10 p moles de cada iniciador y 2,5 U de Gold Taq DNA Promega®.

**Programas de PCR:** la reacción de amplificación del 16S ADNr se realizó con las siguientes condiciones: 95 °C por 2 min, seguido de 30 ciclos a 95 °C por 30 seg, 51 °C por 30 seg y 72 °C por 2min y una extensión final a 72 °C por 5 min, finalmente 4 °C durante 5 min. Para el gen 16-23S ADNr se calentó a 95 °C por 2 min, seguido de 35 ciclos a 95 °C por 30 seg, 61 °C por 30 seg y 72 °C por 1 min y una



extensión final a 72 °C por 5 min, finalmente 4 °C durante 5 min. Ambas reacciones se llevaron a cabo en en Termociclador “LONGGENE” MG96G.

**Electroforesis:** los productos amplificados se observaron en agarosa al 1 % (p/v) y TBE 1X, con 0,5 µg/ml de bromuro de etidio durante 1 hora a 100 V, se utilizó marcador de peso molecular de 1kb.

**Digestión con enzimas de restricción:** los productos amplificados 16S y 16-23S ADNr fueron digeridos con las enzimas de restricción *AluI*, *RsaI*, *HaeIII*, *MspI*, y *TaqI*. Las digestiones se llevaron a cabo por separado con cada enzima en un volumen final de 20µl que contenían: 5U de cada una de las enzimas (Fermenta®); 2µl Buffer 1X; 8µl de producto de amplificación y 9 µl de agua libre de DNasas y RNasas y de acuerdo con las recomendaciones del fabricante.

**Análisis de los fragmentos de restricción:** los productos de restricción se observaron en gel de agarosa al 3,0 % (p/v) y 0,5µg/ml de bromuro de etidio en buffer TBE 1X, se utilizó el marcador de peso molecular de 100pb (Genbiotech).

**Velocidad de Acetificación (VA):** para determinar la VA, las BAA fueron inoculadas en caldo RAE (2 % glucosa, 0,8 % extracto de levadura, 0,5 % peptona). Se examinaron dos concentraciones de ácido acético (AA) (0,5 %, 1,0 % p/v) y tres concentraciones de etanol (E) (4, 6, 8 % v/v). Se incubaron a 30±1 °C durante 72 horas, mediante sistema de inyección de aire. El seguimiento de la acetificación se realizó con los siguientes parámetros:

*Acidez Total:* por titulación potenciométrica (AOAC 15<sup>TH</sup> 942.15 B, 1990), expresando el resultado como g/L de AA.

*Recuento Celular:* en microscopio óptico marca Leica DME, con cámara de Petroff-Hauser.

*Velocidad de Acetificación:* se calculó con la fórmula  $(VA) = (C_{Af} - C_{Ai}) / (t_f - t_i)$ , donde  $C_{Ai}$  y  $C_{Af}$  es la concentración de ácido acético (g AA/L) inicial y final para los tiempos  $t_i$  y  $t_f$ , respectivamente (Nieto, 1991; Tesfaye et. al, 2000).

El análisis estadístico se realizó mediante el software Statgraphics Centurion XV Corporate mediante Análisis de Varianza y Contraste Múltiple de Rangos.

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las pruebas bioquímicas realizadas permitieron la identificación de las bacterias a nivel de género, ya que algunas características fenotípicas pueden contribuir a su

diferenciación (Tabla 1). La oxidación de acetato y lactato a CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O, permitió la diferenciación de los géneros *Gluconacetobacter* y *Acetobacter* de otros géneros, ya que en la familia *Acetobacteriaceae* son los únicos que pueden realizarlo (Kersters *et al.* 2006, Yukphan *et al.* 2011). Posteriormente, para identificar los aislados como pertenecientes al género *Acetobacter* se tuvo en cuenta la presencia de ubiquinonas, ya que este género se diferencia de *Gluconacetobacter* por poseer ubiquinona Q-9, mientras que este último, presenta ubiquinonas Q-10 (Sievers and Swings, 2005). Todos los aislados produjeron ácidos a partir del etanol y la glucosa, pero no lo hicieron a partir de la fructosa, características típicas del género *Acetobacter* (Kersters *et al.*, 2006).

Para la identificación molecular se extrajo el ADN y se lo utilizó como template en la reacción de PCR. La amplificación de ADNr 16S y 16-23S generó fragmentos de 1450 y 800 pb respectivamente (Figura 1).

En la Tabla 2 se observan los fragmentos generados por las enzimas de restricción ensayadas para el gen 16S ADNr. Las enzimas *RsaI* y *MspI* generaron un único patrón de bandas para los 4 aislados, los cuales son coincidentes con *A. pasteurianus* (Ruiz *et al.*, 2000). En cambio, los patrones de bandas obtenidos con las enzimas *AluI*, *TaqI* y *HaeIII* para la bacteria BC9 fueron diferentes a los obtenidos para las bacterias BC4, BC5 y BC6. Esto permitió la diferenciación entre las mismas, el patrón obtenido para BC9 coincide con *A. sysigii* (González *et al.*, 2006) y los patrones de BC4, BC5 y BC6 con *A. pasteurianus* (Ruiz *et al.*, 2000).

Los fragmentos generados con las enzimas de restricción a partir de las PCR 16-23S ADNr no fueron discriminatorios (resultados no mostrados).

En la Tabla 3 se detallan los valores de acidez, recuento celular y VA alcanzados por las bacterias estudiadas en los ensayos efectuados. El porcentaje de E y de AA tienen un efecto estadísticamente significativo sobre la VA en los aislados BC4, BC6 y BC9, con un 95 % de nivel de confianza. En cambio, para el aislado BC5, la VA es independiente de los porcentajes de AA estudiados (p-valor>0,05).

Las mayores VA se obtuvieron para las bacterias BC6 (0,55 y 0,60 g/L/h de AA) con 0,5 % AA y 4 y 6 % de E respectivamente, y para BC9 (0,59 g/L/h de AA y 0,58 g/L/h de AA) con 4 % de E y 0,5 y 1 % de AA. Además, cuando la concentración de AA es de 0,5 %, las VA de BC9 para 6 % y 8 % de E son de las más bajas observadas.

## 5. CONCLUSIONES

Por lo expuesto se concluye que la técnica de PCR-RFLP permitió identificar especies de BAA que podrían ser utilizadas como cultivo iniciador en la elaboración de vinagres de frutas. Los estudios realizados indican que las mejores condiciones para que estas bacterias oxiden el E a AA, se dan cuando las concentraciones de AA y etanol son del 1 % y del 4 ó 6 %, respectivamente. Asimismo se pudo comprobar que *Acetobacter pasteurianus* y *Acetobacter syzigii*, presentaron los valores más altos de VA en las condiciones ensayadas.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASAI T., Iizuka H., Komagata K. (1964). The Flagellation and taxonomy of genera *Gluconobacter* and *Acetobacter* with reference to the existence of intermediate strains. *J Gen Appl Microbiol*, 10, 95-126.
- GONZALEZ A., Hierro N., Poblet M., Mas A., Guillamón J. (2005). Application of molecular methods to demonstrate species and strain evolution of acetic acid bacteria population during wine production. *Int J Food Microbiol*, 102, 295 – 304.
- DE ORY I., Romero L., Cantero D. (2002). Optimum starting-up protocol of a pilot plant scale acetifier for vinegar production. *J Food Eng*, 52, 31-37.
- JARA C., Mateo E., Guillamón J., Torija M., Mas A. (2008). Analysis of several methods for the extraction of high quality DNA from acetic acid bacteria in wine and vinegar for characterization by PCR-based methods. *Int J Food Microbiol*, 128,336-41.
- KERSTERS K., Lisdiyanti P., Komagata K., Swings J. (2006). In: Dworkin M., Falkow S., Rosenberg E., Schleifer K., Stackebrandt E. (Eds.). The family *Acetobacteraceae*: the genera *Acetobacter*, *Acidomonas*, *Asaia*, *Gluconacetobacter*, *Gluconobacter* and *Kozakia*, 3rd. Ed. The Prokaryotes, vol. 5. Springer-Verlag, New York, pp. 163–200.
- MANDIGAN M., Martinko J., Parker J. (2009). Brock, Biología de los Microorganismos. 12 Edición Pearson Educación S.A. Madrid.
- MATSUTANI, M., Nishikura, M., Saichana, N., Hatano, T., Masud-Tippayasak, U., Theergool, G., Yakushi, T., Matsushita, K. (2013). Adaptive mutation of *Acetobacter pasteurianus* SKU1108 enhances acetic acid fermentation ability at high temperature. *J Biotech*, 165, 109– 119.

- NDOYE B., Cleenwerck I., Destain J., Guiro A., Thonart P. (2009). Preservation of Vinegar Acetic Acid Bacteria. En: Solieri L., Giudicci P (Eds). *Vinegars of the World* Springer-Verlag Italia, Italia, p. 61-71.
- NIETO, F. (1991). Algunos aspectos de la tecnología de la fermentación acética. En: *El vinagre de vino*. Llaguno, C., Polo, M.C. eds. Madrid, España. CSIC, 69-103.
- POBLET M., Rozès N., Guillamón J., Mas A. (2000). Identification of acetic acid bacteria by restriction fragment length polymorphism analysis of a PCR-amplified fragment of the gene coding for 16S rRNA. *Lett Appl Microbiol*, 31(1),63-7.
- PRIETO C., Jara C., Mas A., y Romero J. (2007). Application of molecular methods for analysing the distribution and diversity of acetic acid bacteria in Chilean vineyards. *Int J Food Microbiol*, 115,(3):348-55.
- RUIZ A., Poblet M., Mas A., Guillamon J. (2000). Identification of acetic acid bacteria by RFLP of PCR-amplified 16S rDNA and 16S-23S rDNA intergenic spacer. *Int J Syst Evol Microbiol*, 50, 1981-87.
- SENGUN I., Karabiyikli S. (2011). Importance of acetic acid bacteria in food industry. *Food Control*, 22(5), 647-56.
- SHARAFI S., Rasooli I., Beheshti-Maal K. (2010). Isolation, characterization and optimization of indigenous acetic acid bacteria and evaluation of their preservation methods. *Iran J Microbiol*, 2(1):38-45.
- SIEVERS M., Sellmer S., Teuber M. (1992). *Acetobacter europaeus* sp. nov., a main component of industrial vinegar fermenters in central Europe. *Syst Appl Microbiol*,15: 386-392.
- SIEVERS M., SWINGS J. (2005). Family II. *Acetobacteraceae* Gillis and De Ley 1980, 23<sup>VP</sup>: Genus *Acetobacter* Beijerinck 1898, 215<sup>AL</sup>: Genus V. *Acidomonas* Urakami, Tamaoka, Suzuki and Komagata 1989, 54<sup>VP</sup>: Genus VI. *Asaia* Yamada, Katsura, Kawasaki, Widyastuti, Saono, Uchimura and Komagata 2000, 828<sup>VP</sup>: Genus VIII. *Gluconacetobacter* Yamada, Hoshino and Ishikawa 1998, 32<sup>VP</sup>: Genus IX. *Gluconobacter* Asai 1935, 689<sup>AL</sup>. En: Brenner DJ, Krieg NR, Stanley JT, Garrity GM, Editors. *Bergey's manual of systematic bacteriology*, 2nd ed., vol. 2, Springer, New York, p.41-50, 51-54, 68-69, 72-77, 77-81.
- TANSUPAWAT S., Kommanee J., Malimas T., Yukphan P., Nakagawa Y., Yamada Y. (2009). Identification of *Acetobacter*, *Gluconobacter* and *Asaia* Strains isolated in Thailand based on 16S-23S rRNA gene internal transcribed spacer restriction and 16S rRNA gene sequence analyses. *Microbes Environ*, 24: 135-143.
- TESFAYE W., García-Parrilla M., & Troncoso A. (2000). Set up and optimization of laboratory scale fermenter for the elaboration of wine vinegar. *J Inst Brew*, 106(4), 215-219.

YAMADA Y., Yukphan P., Thi Lan Vu H., Muramatsu Y., Duangjai Ochaikul D., Tanasupawat S., Nakagawa Y. (2012). Description of *Komagataeibacter* gen. nov., with proposals of new combinations (*Acetobacteraceae*). *J Gen Appl Microbiol*, 58(5), 397-404.

YAMADA Y., OKADA Y., KONDO K. (1976). Isolation and characterization of polarly flagellated intermediate strains in acetic acid bacteria. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 22, 237-245.

YUKPHAN P., Malimas T., Muramatsu Y., Potacharoen W., Tanasupawat S., Nakagawa Y., Tanticharoen M., Yamada Y. (2011). *Neokomagataea* gen. nov., with descriptions of *Neokomagataea thailandica* sp. nov. and *Neokomagataea tanensis* sp. nov., osmotolerant acetic acid bacteria of the  $\alpha$ -*Proteobacteria*. *Biosci Biotechnol Biochem*, 75(3), 419-26.

## 7. TABLAS Y FIGURAS

**TABLA 1.** Características bioquímicas de los aislados estudiados

| AISLADO | Oxidación |         | Producción de ácido a partir de: |    |    |    |    |     |    |    |     |     |     |    |     |    | Producción de Quinonas |     |    |    |     |
|---------|-----------|---------|----------------------------------|----|----|----|----|-----|----|----|-----|-----|-----|----|-----|----|------------------------|-----|----|----|-----|
|         | Acetato   | Lactato | E                                | GL | FR | GA | RA | GLI | MA | SO | SOR | L-A | D-A | XI | MAN | SA |                        | MAL | ME | RH | DU  |
| BC4     | +         | +       | +                                | +  | -  | +  | V  | -   | +  | +  | -   | -   | +   | +  | +   | +  | +                      | +   | -  | -  | Q-9 |
| BC5     | +         | +       | +                                | +  | -  | -  | -  | -   | +  | -  | -   | -   | -   | +  | +   | +  | -                      | -   | -  | -  | Q-9 |
| BC6     | +         | +       | +                                | +  | -  | +  | +  | -   | +  | V  | -   | +   | -   | +  | +   | -  | -                      | +   | -  | -  | Q-9 |
| BC9     | +         | +       | +                                | +  | -  | +  | -  | -   | -  | +  | -   | +   | -   | +  | +   | -  | -                      | -   | -  | -  | Q-9 |

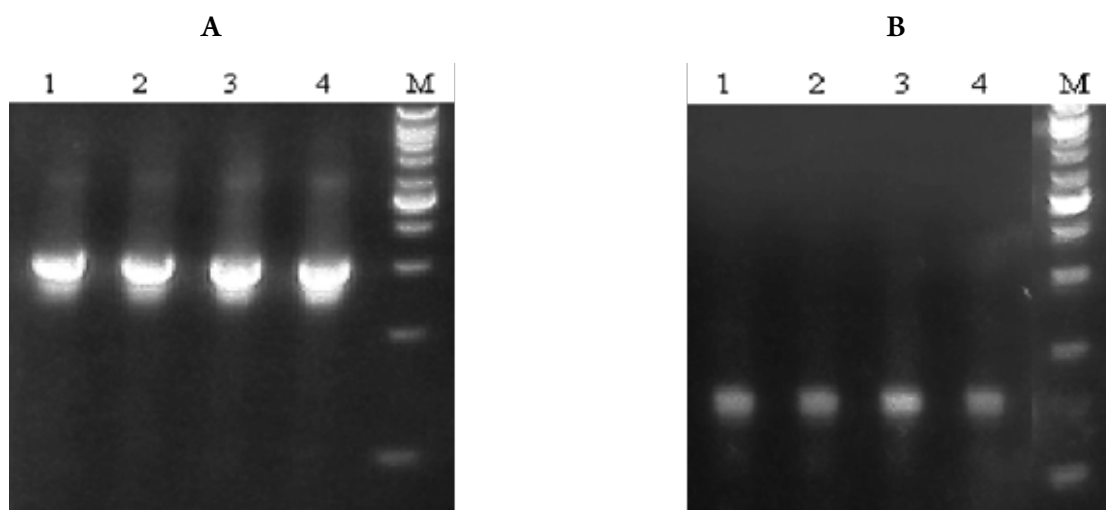
Abreviaturas: E etanol, GL D-glucosa, FR D-fructosa, GA D-galactosa, RA rafinosa, GLI glicerol, MA D-mannitol, SO D-sorbitol, SOR L-sorbosa, L-A L-arabinosa, D-A D-arabinosa, XI D-xilosa, MAN D-manosa, SA Sacarosa, MAL maltosa, ME melibiosa, RH L-rhamnosa, DU dulcitol.

**TABLA 2.** Tamaños de los fragmentos (pb) generados con las enzimas *RsaI*, *MspI*, *AluI*, *TaqI* y *HaeIII* a partir de PCR 16S ADNr

|     | <i>Rsa I</i>        | <i>Msp I</i>        | <i>Alu I</i>        | <i>Taq I</i>       | <i>Hae III</i>      |
|-----|---------------------|---------------------|---------------------|--------------------|---------------------|
| BC4 | 500-400-300-150-125 | 450-425-210-110-110 | 450-310-290-190-190 | 500-375-370-210-70 | 520-280-180-160-160 |
| BC5 | 500-400-300-150-125 | 450-425-210-110-110 | 450-310-290-190-190 | 500-375-370-210-70 | 520-280-180-160-160 |
| BC6 | 500-400-300-150-125 | 450-425-210-110-110 | 450-310-290-190-190 | 500-375-370-210-70 | 520-280-180-160-160 |
| BC9 | 500-400-300-150-125 | 450-425-210-110-110 | 450-310-280-190-120 | 50-375-210-175-160 | 520-280-210-180-160 |

**TABLA 3.** Acidez, Recuento celular y VA para las BAA en caldo RAE con diferentes concentraciones AA (0,5 %, 1,0% p/v) y E (4, 6, 8 % v/v).

|            |                      | AA 0,5 (% p/v) |            |            | AA 1 (% p/v) |            |            |
|------------|----------------------|----------------|------------|------------|--------------|------------|------------|
|            |                      | E 4(% v/v)     | E 6(%v/v)  | E 8(%v/v)  | E 4(% v/v)   | E 6(% v/v) | E 8(% v/v) |
| <b>BC4</b> | Acidez final (gAA/L) | 33,61±3,10     | 23,32±0,90 | 19,30±0,10 | 36,95±1,20   | 31,90±2,85 | 25,32±1,40 |
|            | VA (gAA/L/h)         | 0,36 ±0,04     | 0,22±0,02  | 0,15±0,00  | 0,34±0,02    | 0,28±0,04  | 0,22±0,02  |
|            | Recuento (c.el./mL)  | 8,58 E+08      | 9,00 E+08  | 2,00 E+08  | 2,00 E+08    | 4,60 E+08  | 2,00 E+08  |
| <b>BC5</b> | Acidez final (gAA/L) | 33,85±2,95     | 29,06±3,21 | 29,36±0,47 | 39,02±1,34   | 38,43±2,19 | 30,56±1,42 |
|            | VA (gAA/L/h)         | 0,36±0,04      | 0,30±0,04  | 0,30±0,01  | 0,34±0,02    | 0,35±0,03  | 0,25±0,02  |
|            | Recuento (c.el./mL)  | 2,20 E+08      | 2,66 E+08  | 1,90 E+08  | 2,10 E+08    | 1,50 E+08  | 1,40 E+08  |
| <b>BC6</b> | Acidez final (gAA/L) | 47,66±0,68     | 47,08±1,69 | 9,82±1,25  | 48,24±2,36   | 47,37±3,15 | 15,02±2,30 |
|            | VA (gAA/L/h)         | 0,55±0,01      | 0,60±0,02  | 0,32±0,02  | 0,49±0,03    | 0,48±0,04  | 0,32±0,03  |
|            | Recuento (c.el./mL)  | 4,20 E+08      | 4,90 E+08  | 1,00 E+08  | 3,20 E+08    | 5,50 E+08  | 0,80 E+08  |
| <b>BC9</b> | Acidez final (gAA/L) | 49,68±2,20     | 11,55±0,50 | 8,95±0,00  | 54,01±0,95   | 51,24±0,85 | 19,47±1,55 |
|            | VA (gAA/L/h)         | 0,59±0,03      | 0,06±0,01  | 0,02±0,00  | 0,58±0,01    | 0,55±0,01  | 0,10±0,02  |
|            | Recuento (c.el./mL)  | 4,00 E+08      | 2,90 E+08  | 2,00 E+08  | 3,20 E+08    | 6,20 E+08  | 2,10 E+08  |



**FIGURA 1.** (A) Amplificaciones ADN<sub>r</sub> 16S y (B) Amplificaciones 16-23S. Calle 1: BC4, calle 2: BC5, calle 3: BC6, calle 4: BC9, M: marcador 1 K pb Ladder

# KINETIC STUDY OF THE ACIDOLYSIS WITH IMMOBILIZED LIPASES: A PROBABILISTIC MODEL DEVELOPMENT

Camila Andrea Palla, María Elena Carrín

## 1. ABSTRACT

Sunflower oil modification for production of semisolid fats was carried out via acidolysis using palmitic and stearic acids (P+St), hexane and a developed biocatalyst from *Rhizomucor miehei* lipases. Its kinetic behavior was studied by a new model proposed here to describe not only the variation of triacylglycerols (TAG), diacylglycerols (DAG), and free fatty acids (FFA) groups but also the acyl migration reaction occurrence. The effect of the reaction temperature on the kinetic parameters, as well as TAG and reaction intermediates profiles was analyzed. Experimental data were fit satisfactorily by the proposed model, showing that the increment in the disaturated TAG formation achieved by the increment in temperature was principally related to the favored DAG formation from triunsaturated TAG.

## 2. INTRODUCTION

Lipases can be used to obtain structured lipids (SL), which are tailor-made lipids with desired characteristics. Among other processes, semi-solid fats can be synthesized by acidolysis reactions catalyzed by lipases, where it is possible to incorporate a desired acyl group onto a specific position of the triacylglycerol through the hydrolysis and reesterification reaction steps. In particular, by the use of *sn*-1,3 specific lipases as *Rhizomucor miehei*, free fatty acids (FFA) which are present in a reaction medium could be incorporated in *sn*-1 and *sn*-3 positions of triacylglycerols (TAG) while original fatty acids are ideally kept in the *sn*-2 posi-

---

CONTACTO: María Elena Carrín [mcarrin@plapiqui.edu.ar](mailto:mcarrin@plapiqui.edu.ar)  
PLAPIQUI (Universidad Nacional del Sur – CONICET). Camino  
La Carrindanga KM 7, 8000 Bahía Blanca, Argentina.

tion. Following this route for the synthesis of SL, oils and saturated FFA have been used in order to obtain semisolid fats which are beneficial for human nutrition due to the fact that they preserve unsaturated or polyunsaturated long-chain fatty acids in the *sn*-2 position (Osborn and Akoh, 2002).

Enzyme kinetic for acidolysis reaction has been usually described by the Ping Pong Bi Bi mechanism, which is applicable to lipase reactions in several media types (Malcata *et al.*, 1990). Balcão and Malcata (1996) presented the mathematical modeling of this mechanism applied to a generic lipase-catalyzed reaction and the associated rate expression assuming pseudo-stationary state. Furthermore, Reyes and Hill (1994) used a Ping Pong Bi Bi mechanism in a simplified form to model the dynamic behavior of acidolysis reactions in the absence of solvent. They obtained two expressions that require knowledge of a total of five kinetic parameters and the pursuit of concentrations of five components over time. Then, Ortega *et al.* (2004) applied that model to represent successfully the incorporation of conjugated linoleic acid in fully hydrogenated soybean oil in a system with solvent. On the other hand, Xu *et al.* (1998) proposed a simplified model for the kinetic of acidolysis reactions in solvent-free system where the incorporation was subject to reaction time in a similar manner as the reaction rate does with the substrate concentration in the Michaelis-Menten equation. Besides, Camacho *et al.* (2007) postulated a lumped parameter kinetic model for acidolysis catalyzed by a *sn*-1,3 specific immobilized lipase in a solvent system. That model requires knowledge of three experimental parameters and only one variable over time. The three above-mentioned models were used by Pacheco *et al.* (2010) to describe the kinetic behavior of acidolysis reaction between sunflower oil and saturated fatty acids using a commercial immobilized lipase (Lipozyme RMIM). They found that the proposed models fit successfully the experimental data. However, important information about products concentration is lost with those models. On the other hand, dealing with kinetic study from the point of view of the enzymatic theory results in a complex equations system with a huge amount of parameters. Recently, Ray *et al.* (2013) described the kinetic behavior of an immobilized *Rhizopus oryzae* lipase during the acidolysis of high oleic sunflower oil with palmitic and stearic acids. They proposed a first order reactions scheme taking into account all possible combinations to form TAG and diacylglycerols (DAG), preserving the unsaturated fatty acid in their *sn*-2 position.



So, many studies concerning acidolysis reactions have been focused on the reaction products, without reporting other pertinent information such as concentrations of associated reaction media or reaction intermediates (Camacho *et al.*, 2007). Consequently, not all of the available results about acidolysis reactions could be used to obtain kinetic parameters, especially when it is desired to employ a more sophisticated model (Pacheco *et al.*, 2010).

In the present study the acidolysis reaction kinetic of sunflower oil with saturated fatty acids catalyzed by immobilized *Rhizomucor miehei* lipases was studied employing a new approach to describe the variation over time of different TAG groups based on the saturation degree of their fatty acids. This takes into account the formation of DAG as main intermediate. Moreover, the occurrence of an acyl migration reaction was also considered to describe the appearance of trisaturated triacylglycerols. To the best of our knowledge, this last reaction has not been considered in other enzymatic acidolysis models. The effect of reaction conditions (temperature, enzyme concentration, substrates ratio) on the kinetic parameters, as well as the formation of reaction intermediates (monoacylglycerols (MAG) and DAG) was analyzed.

### 3. MATERIALS AND METHODS

#### MATERIALS

Refined sunflower oil (SO) was purchased from a local grocery store and it was used as received. Chitosan of low molecular weight (degree of deacetylation: 75-85 %), *Rhizomucor miehei* lipase (>20,000 U/g, Novozymes) from *Aspergillus oryzae* conditioned in the form of liquid, dodecyl aldehyde (92 %, Aldrich), sodium cyanoborohydride NaCNBH<sub>3</sub> (> 95 %, Fluka), palmitic acid-stearic acid mixture (P+St)-98.9 % purum with 53.0 % of palmitic acid and 45.9 % of stearic acid-(Fluka) were purchased from Sigma-Aldrich (Germany). Other standards (TAG, DAG, MAG, octadecenoic acid, tetradecane (see Pacheco *et al.* (2014) for details) were obtained from Sigma Chemical Co. (St. Louis, USA). Pyridine was from J.T. Baker (Philipsburg, USA) and N-Methyl-N-trimethylsilyltrifluoroacetamide (MSTFA) was obtained from Fluka (Buchs, Switzerland). All the other reagents, gases and solvents were of analytical or chromatographic grade.

### **PREPARATION OF BIOCATALYST AND LIPASE-CATALYZED ACIDOLYSIS REACTION**

Alkylated chitosan microspheres were prepared following the procedure described in our previous work (Palla *et al.*, 2011), using dodecyl aldehyde in monomolar ratio (1:1 NH<sub>2</sub>/aldehyde) and 1.5 h of contact time with aldehyde. Immobilization of lipases (from *Rhizomucor miehei*) on the obtained support was carried out by adsorption as reported in the aforementioned work.

Enzymatic acidolysis reactions between SO and a mixture of free palmitic and stearic acids (P+St) were carried out under the conditions previously determined as optimal from the operating standpoint (Palla *et al.*, 2012). Acidolysis was performed as follows (except when other conditions are specified): 110 mg of SO and 105 mg of P+St (1:3 molar ratio of substrates) were dissolved in 3.2 ml of hexane and later mixed and heated at desired reaction temperature. The reaction began when 340 mg of biocatalyst (immobilized lipases) was added. Reactions were performed in a screw-capped test tube in a water bath with temperature controller and magnetic agitation at 250 rpm. After a specified time, reactions were stopped removing biocatalyst by filtering. The solvent from the reaction mixtures was removed by evaporation under a nitrogen atmosphere and then, the reaction mixtures were maintained at -20 °C until analysis. In order to obtain the kinetic behavior, reactions were carried out at 50 and 60 °C, for reaction times from 1 to 70/72 h.

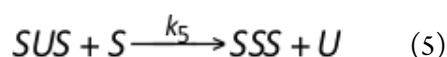
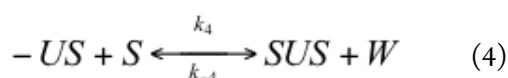
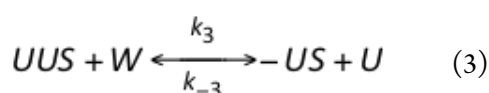
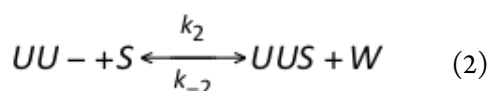
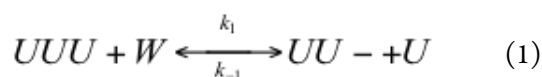
### **ACIDOLYSIS PRODUCTS ANALYSIS**

FFA, MAG, DAG, and TAG quantification of reaction products was performed by GLC by means of a 4890D series gas chromatograph (Agilent, Hewlett-Packard) equipped with a FID (Pacheco *et al.*, 2014). Identified TAGs were grouped in four different categories according to the number of saturated (S) and unsaturated (U) fatty acids in the molecule (without distinguishing positional isomers). Consequently, content of TAG in products can be reported as SSS, SUS (including its isomers SSU and USS), UUS (including its isomers SUU and USU), and UUU (% g/100 g on total TAG).

### **MATHEMATICAL MODELING OF THE ACIDOLYSIS REACTION KINETICS**

A kinetic model based on the possible reversible reactions involved between different TAG groups, FFA and DAG catalyzed by the 1,3-positional specific lipase was developed. Moreover, it takes into account the possibility of an acyl migration reaction occurrence based on the appearance of trisaturated triacylglycerols.

During acidolysis reactions catalyzed by enzymes a huge number of different chemical reactions take place involving not only substrates and products but also enzymatic intermediates. So, it is difficult to obtain a detailed description of the evolution of all the involved components (Reyes and Hill, 1994). In this work, a simple mathematical model based on the behavior of TAG, DAG, and FFA groups according to their saturated and unsaturated fatty acids composition, was developed following these assumptions: (1) based on the specificity characteristics of the used lipase, only fatty acids in *sn*-1,3 positions of the TAG are involved in the enzymatic reactions; (2) *sn*-1 and *sn*-3 positions of TAG are equivalents; (3) the enzyme does not show preference for a specific fatty acid; (4) trisaturated TAG (SSS) can be obtained due to acyl-migration as side reaction; (5) all reactions can be described by first order kinetics; (6) immobilized enzyme deactivation is not considered taking in consideration the high stability showed by these biocatalysts in previous results (Palla *et al.*, 2011); (7) MAG formation is not considered due to the low levels obtained during the progress of the acidolysis reaction; (8) mass transfer resistances are not considered since the reactor was well mixed and the enzymes were adsorbed on the support surface (Palla *et al.*, 2011; Ray *et al.*, 2013). Condensed reactions involved in the proposed mechanism are:



Although it is not explicitly showed in this condensed reaction scheme, Eqs. 1-4 involved enzymatic catalysis, whereas Eq. 5 is considered a non-enzymatic reaction.

The set of ordinary nonlinear differential equations derived from the above reaction mechanism is:

$$\frac{d[UUU]}{dt} = -k_1[UUU][W] + k_{-1}[UU-][U] \quad (6)$$

$$\frac{d[UU-]}{dt} = k_1[UUU][W] - k_{-1}[UU-][U] - k_2[UU-][S] + k_{-2}[UUS][W] \quad (7)$$

$$\frac{d[UUS]}{dt} = k_2[UU-][S] - k_{-2}[UUS][W] - k_3[UUS][W] + k_{-3}[-US][U] \quad (8)$$

$$\frac{d[-US]}{dt} = k_3[UUS][W] - k_{-3}[-US][U] - k_4[-US][S] + k_{-4}[SUS][W] \quad (9)$$

$$\frac{d[SUS]}{dt} = k_4[-US][S] - k_{-4}[SUS][W] - k_5[SUS][S] \quad (10)$$

$$\frac{d[SSS]}{dt} = k_5[SUS][S] \quad (11)$$

$$\frac{d[U]}{dt} = k_1[UUU][W] - k_{-1}[UU-][U] + k_3[UUS][W] - k_{-3}[-US][U] + k_5[SUS][S] \quad (12)$$

$$\frac{d[S]}{dt} = -k_2[UU-][S] + k_{-2}[UUS][W] - k_4[-US][S] + k_{-4}[SUS][W] - k_5[SUS][S] \quad (13)$$

$$\frac{d[W]}{dt} = -k_1[UUU][W] + k_{-1}[UU-][U] + k_2[UU-][S] - k_{-2}[UUS][W] - k_3[UUS][W] + k_{-3}[-US][U] + k_4[-US][S] - k_{-4}[SUS][W] \quad (14)$$

Where [i] is the molar concentration of the i species, UUU= triunsaturated TAG, UUS= diunsaturated TAG (including its isomers SUU and USU), SUS= monounsaturated TAG (including its isomers SSU and USS), SSS=trisaturated TAG, UU-= diunsaturated DAG, -US= monounsaturated DAG, W=water, S= free saturated fatty acids, U= free unsaturated fatty acids,  $k_j$  and  $k_{-j}$ = apparent kinetic constant for the forward and reverse specific j reaction, respectively, related to Eqs. 1-5, and t= reaction time. Initial water concentration ( $W_0$ ) associated to Eq. 14 is a parameter to be determined by solving the differential equation system. It is worth mentioning that the effect of the enzyme concentration would be implicitly included in these apparent kinetic constants, except in  $k_5$ .

## STATISTICAL ANALYSIS

Results are shown as average value of four results  $\pm$  standard deviation (confidence value of 95 %). Kinetic equations of the proposed model (Eqs. 6-14) were specified in SimBiology (a MatLab toolbox) and associated parameters were obtained us-

ing a nonlinear least square optimization method performed by the “lsqcurvefit” function of MatLab 7.5.0 (2007).

#### 4. RESULTS AND DISCUSSION

This proposed model allows representing the variation of different species of TAG, DAG and FFA, grouped according to their saturation level, over reaction time. It is said: TAG were classified as SSS, SUS, UUS, and UUU, DAG were classified as UU- and -US, and FFA as U and S. Experimental DAG composition was not obtained as different groups, so -US and UU- model variables were added to fit experimental DAG data. Experimental and simulated data are represented in Figura 1. Kinetic parameters and global correlation coefficients of the model are summarized in Table 1. It could be observed that this proposed model fit satisfactorily the experimental data in both tested temperatures (showing p-values for the lack of fit (LOF) test higher than the significance level of 0.05). From the kinetic constant values obtained, it could be concluded that the reaction toward the formation of UU- diacylglycerols is most favored by the increment in temperature than the -US formation ( $k_1$  value increased near 70 % and  $k_{-1}$  value decreased in 2 magnitude orders when temperature change from 50 to 60 °C; however,  $k_3$  and  $k_{-3}$  values changed to a lesser proportion). From the point of view of the formation of TAG because of the incorporation of a saturated fatty acid into a DAG, it could be seen that the enzymatic system showed a preference to incorporate S into -US rather than into UU-. This could be related to a steric hindrance caused by the tridimensional conformation adopted by acylglycerides when unsaturated fatty acids are present in their structure. With regard to the formation of SUS, although absolute values of kinetic constants related to this forward and reverse reaction ( $k_4$  and  $k_{-4}$ ) decreased by the increment in temperature,  $k_{-4}$  turned out to be the most modified. This effect over kinetic constants favored the displacement to the formation reaction adding up to the higher DAG concentration. Furthermore, an acceptable fitting of SSS appearance related to acyl migration reaction was obtained. As it can be observed in Table 1, the related kinetic constant,  $k_5$ , was highly influenced by the increment in temperature.

A validation analysis was performed in order to examine the robustness of the model. Acidolysis reactions were performed at 60 °C, varying the amount of biocatalyst (between 0.30 and 0.39 g), the initial P+St:SO molar ratio (between 3

and 6) and the amount of hexane (from 1.6 to 3.2 mL). Experimental results were compared to simulated values obtained using the corresponding parameters to the model. When enzyme concentration was changed, values of kinetic constants (except  $k_5$ ) were recalculated considering that apparent kinetic constants had a linear dependency with the enzyme concentration. Percentage root mean squared error (%RMSE) value was 2.23, showing the good predictive capacity of the model. It is worth mentioning that parameters of this model were obtained and validated using a non-homogeneous TAG refined oil (with a high content of oleic and linoleic acids) and a mixture of saturated fatty acids (palmitic and stearic acids). The model only takes into account differences between saturated and unsaturated fatty acids, but not the level of their unsaturation (as mono- or diunsaturated fatty acids) or their chain length. Thus, some deviations may be expected from model predictions if pure TAG, other oils and/or another free fatty acid are used. Moreover, the presence of some oil minor components could also modify the obtained behavior. With this in mind, this model could be used as a valid and practical tool to predict the expected composition of products when refined sunflower oil is enzymatically modified by acidolysis using palmitic and stearic acids as acyl donors and the new immobilized biocatalyst.

## 5. CONCLUSIONS

In this study, a probabilistic model to represent the kinetic behavior of the acidolysis reaction of sunflower oil with saturated fatty acids using a particular biocatalyst prepared by immobilizing lipases from *Rhizomucor miehei* on modified chitosan microspheres was proposed. The model achieved to fit the experimental data very successfully, allowing to obtain detailed information about the behavior of TAG, DAG, and FFA groups (according to their saturation level) and the formation of SSS related to the acyl migration reaction. This model provided very valuable information about single reaction patterns since individual kinetic constants of the proposed first order kinetic rates were successfully obtained. Moreover, the influence of the enzyme concentration could be well established by a linear relation with the corresponding apparent kinetic constant validating the model performance in other conditions. However, fatty acid specificity was not considered in the proposed model. Therefore, the goodness of its performance must be checked when other oils or free fatty acids are going to be used.

In this way, the benefits of having parameters of this model not only allow comparison with data from similar systems obtained in other scientific works, but also its implementation in future applications of design, optimization and process control. Moreover, information obtained by this model could be used to set up the desired compositional quality in the structured lipids produced by enzymatic acidolysis. The composition of SSS could be used as an additional parameter to establish the final reaction time.

## ACKNOWLEDGMENTS

This work was financially supported by the Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), the Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT), and the Universidad Nacional del Sur (UNS) in Argentina.

## 6. REFERENCES

- OSBORN HT, CC AKOH, Structured lipids-novel fats with medical, nutraceutical, and food applications, *Comp Rev Food Sci Food Saf.* 1 (2002) 93–103.
- PALLA CA, C Pacheco, ME Carrín, Preparation and modification of chitosan particles for *Rhizomucor miehei* lipase immobilization, *Biochem Eng J.* 55 (2011) 199–207.
- PALLA CA, C Pacheco, ME Carrín, Production of structured lipids by acidolysis with immobilized *Rhizomucor miehei* lipases: selection of suitable reaction conditions, *J Mol Catal B Enzym.* 76 (2012) 106–115.
- PACHECO C, GH Crapiste, ME Carrín, Lipase-catalyzed acidolysis of sunflower oil: Kinetic behavior, *J Food Eng.* 98 (2010) 492–497.
- PACHECO C, C Palla, GH Crapiste, ME Carrín, Simultaneous quantitation of FFA, MAG, DAG, and TAG in enzymatically modified vegetable oils and fats, *Food Analytical Methods* (2014) DOI: 10.1007/s12161-014-9830-x.
- CAMACHO F, A Robles, B Camacho, PA González, L Esteban, E Molina, Modeling of the kinetic for the acidolysis of different triacylglycerols and caprylic acid catalyzed by Lipozyme IM immobilized in packed bed reactor, *Chem Eng Sci.* 62 (2007) 3127–3141.
- MALCATA F. X., H. R. Reyes, H. S. Garcia, C. G. Hill Jr., CH. Amundson, Immobilized lipase reactors for modification of fats and oils-A review, *J Am Oil Chem Soc.* 67 (1990) 890–910.

BALCÃO VM, FX Malcata, Reactors with immobilized lipase: mathematical modeling, in: FX Malcata (Ed.), *Engineering of/with Lipases*, Kluwer Academic Publishers, London, 1996, pp. 435–454.

REYES HR, CG Hill Jr., Kinetic modeling of interesterification reactions catalyzed by immobilized lipase, *Biotechnol Bioeng.* 43 (1994) 171–182.

ORTEGA J, A López-Hernandez, HS García, CG Hill Jr., Lipase-mediated acidolysis of fully hydrogenated soybean oil with conjugated linoleic acid, *J Food Sci.*69 (2004) FEP 1–6.

XU X, S Balchen, CE Høy, J Adler-Nissen, Pilot batch production of specific-structured lipids by lipase-catalyzed interesterification: preliminary study on incorporation and acyl migration, *J Am Oil Chem Soc.*75 (1998) 301–308.

RAY J, ZK Nagy, KW Smith, K Bhaggan, AGF Stapley, Kinetic study of the acidolysis of high oleic sunflower oil with stearic–palmitic acid mixtures catalysed by immobilized *Rhizopus oryzae* lipase, *Biochem Eng J.* 73 (2013) 17–28.

## 7. TABLES AND FIGURES

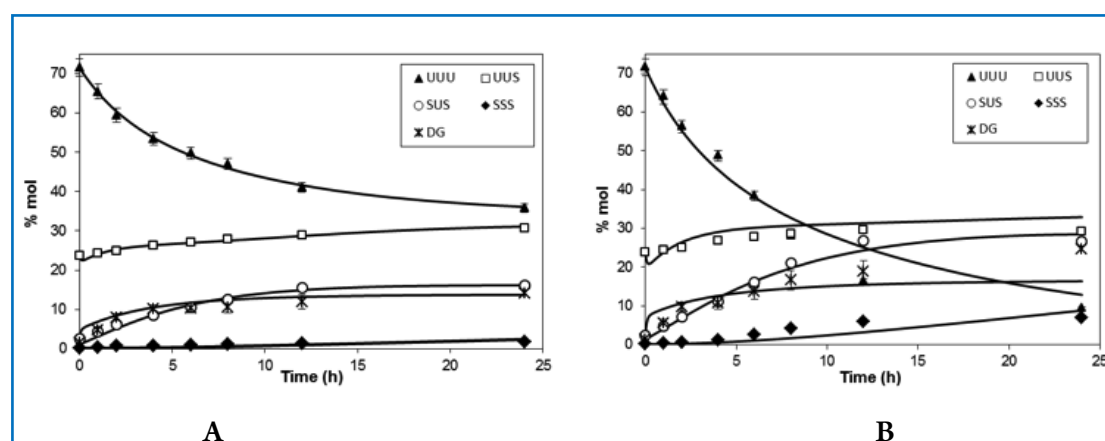


FIGURE 1. Evolution of triacylglycerols groups and diacylglycerols: fitting of experimental values by kinetic model. (A) 50 °C and (B) 60 °C



**TABLE 1.** Kinetic parameters of the proposed model for acidolysis with immobilized *Rhizomucor miehei* lipases at assayed reaction temperatures and corresponding determination coefficients

| KINETIC PARAMETER<br>(1/(H M)) | TEMPERATURE (°C) |           |
|--------------------------------|------------------|-----------|
|                                | 50               | 60        |
| $k_1$                          | 3.574E-08        | 6.033E-08 |
| $k_{-1}$                       | 5.702E-09        | 2.157E-11 |
| $k_2$                          | 1.741E-08        | 1.300E-08 |
| $k_{-2}$                       | 4.160E-07        | 6.951E-07 |
| $k_3$                          | 6.974E-08        | 9.204E-08 |
| $k_{-3}$                       | 2.045E-09        | 8.837E-10 |
| $k_4$                          | 4.890E-08        | 4.302E-08 |
| $k_{-4}$                       | 1.176E-05        | 7.833E-06 |
| $k_5$                          | 2.824E-09        | 6.640E-09 |
| $W_0$ (M)                      | 0.371            | 0.371     |
| $R^2$                          | 0.9841           | 0.9362    |
| p(LOF)                         | 0.181            | 0.184     |

# RHEOLOGICAL AND TEXTURAL PROPERTIES OF OLEOGELS BASED ON HIGH OLEIC SUNFLOWER OIL AND A COMMERCIAL EMULSIFIER MIXTURE

Camila Andrea Palla, María Elena Carrín, Diego Bautista Genovese

## 1. ABSTRACT

The aim of this work was to produce and characterize oleogels obtained from high oleic sunflower oil and a commercial emulsifier mixture (CEM) mainly composed of monoglycerides from palmitic and stearic acids. The effects of CEM content (6, 8 and 10 %) on oil binding capacity and rheological and textural properties were evaluated. All the properties showed dependence on the amount of CEM present in oleogels. As the structurant agent level increased, oil binding capacity was enhanced. The values of the elastic modulus ( $G'$ ) and the viscous modulus ( $G''$ ) increased as the percentage of CEM was raised. Likewise, all the textural parameters increased, with the exception of cohesiveness. These results seek to provide knowledge about the behavior of oleogels, which could be used as healthy food products instead of fats with high content of saturated and/or trans fatty acids.

## 2. INTRODUCTION

The negative effects of *trans* and saturated fatty acids on human health have been well-documented in the last years (Dhaka *et al.*, 2011). Around the world, measures are being taken to reduce their use in food preparation, compelling the scientific community to search for technological alternatives that allow obtaining products with similar physical and organoleptic characteristics but healthier for consumers. Oleogels are among some of the most promising alternatives for replacing these

---

CONTACTO: Camila Andrea Palla [cpalla@plapiqui.edu.ar](mailto:cpalla@plapiqui.edu.ar)  
Planta Piloto de Ingeniería Química (PLAPIQUI), Universidad  
Nacional del Sur-CONICET, Argentina.

types of fats. An oleogel can be defined as an oil entrapped within a thermo-reversible, three-dimensional gel network. This gel network is formed by the self-assembly of a relatively low concentration of organogelator molecules (Hughes *et al.*, 2009). In this regard, saturated monoglycerides are especially appropriate due to their excellent capacity to self-assemble in both hydrophobic and hydrophilic domains. Once introduced in oils, these molecules are able to self-assemble into inverse bilayers leading to the formation of a continuous network preventing oil from flowing (Calligaris *et al.*, 2013). In this work, oleogels produced with high oleic sunflower oil and a commercial emulsifier mixture (CEM) principally composed of monoglycerides from palmitic and stearic acids were studied. The effects of CEM content (6, 8 and 10%) on oil binding capacity, rheological and textural properties were evaluated.

### **3. MATERIALS AND METHODS**

Refined high oleic sunflower oil (HOSO) was purchased from a local grocery store. A commercial emulsifier mixture (CEM), with approximate composition of acylglycerols obtained by GLC analysis: 6.9 and 25.5% of monoglycerides from palmitic and stearic acids, respectively, 17.1% diglycerides, 38.1% triglycerides, and 12.4% of glycerol (melting point:  $58 \pm 1$  °C), was supplied by Calsa (Argentina).

#### **OLEOGELS PREPARATION**

Oleogels were prepared by solubilizing the corresponding amount of CEM in HOSO by heating at 85 °C, using a temperature-controlled water bath and constant stirring. The hot mixture was put into appropriate containers for subsequent analyses. After filling, oleogels were allowed to form at ambient temperature under static conditions and later storage in darkness at 4 °C during a week.

#### **ANALYSIS**

##### ***Critical concentration***

The minimum amount of CEM necessary for gelation of HOSO was determined by formulating mixtures with increasing concentrations of CEM (2, 3, 4, 6, 8 and 10%) in a series of vials. After oleogels preparation, the samples were tested by inversion of vials at ambient temperature. The concentration at which there was no visually observable material flow was considered the critical concentration.

### ***Oil binding capacity***

The oil binding capacity was determined as suggested by Da Pieve *et al.* (2010). Oleogels previously prepared in eppendorf were centrifuged at 8740 g for 15 min at ambient temperature using a microcentrifuge. The oil binding capacity was expressed as function of percentage of oil released from the sample after centrifugation.

### ***Rheological characterization***

Molten mixtures (85 °C) were poured on the plate of a Paar Physica rheometer model MCR301 (Anton Paar GmbH, Austria). The rheometer had a Peltier temperature control system and computerized data acquisition system (RHEOPLUS/32 V3.40). A 50 mm flat plate geometry with a gap of 0.4 mm was used. Samples were steadily cooled from 80 to 20 °C at cooling rate of 2 °C/min, while measuring the viscoelastic properties at an amplitude strain of 0.5 % and angular frequency of 10 rad/s. Afterwards, the mechanical spectra of HOSO/CEM mixtures at 20 °C was obtained by performing frequency sweep tests from 10 to 100 rad/s at an amplitude strain of 0.5 %.

### ***Texture analysis***

Mechanical properties of oleogels were obtained from texture profile analysis (TPA) tests performed with a Texture Analyzer TA Plus (Lloyd instruments, England). Samples for texture measurements were prepared as follows: molten oleogels (85 °C) were poured in acrylic cylinders (33 mm high × 33 mm diameter), gelified at room temperature for 1 h and stored in refrigerator ( $\approx 4$  °C) for one week, and withdraw just before measurement. The TPA test consisted of a two cycle penetration of the sample with a cylindrical probe (50 mm in length × 25 mm in diameter). In each cycle, the sample was penetrated to a depth of 10 mm at a crosshead speed of 1 mm/s, and then the probe was returned to the initial position at the same speed. Four independent measurements were obtained for each treatment condition.

## **4. RESULTS AND DISCUSSION**

Figure 1 shows inverted vials (except the first on the left) with oleogels with different CEM concentrations. It can be observed that the oleogel with the lowest concentration (2 % CEM) flew under inversion, whereas those formulated with hi-

gher CEM concentrations were stable. So, the critical concentration of CEM was found to be 3% (w/w). Taking into account that CEM is a mixture of acylglycerides (principally), this value corresponds to 1% of saturated monoglycerides. This result is in accordance with those reported previously (Ojijo *et al.*, 2004; Da Pieve *et al.*, 2010). They indicate that saturated monoglycerides are very efficient structuring agents because small amounts of them were able to structure large quantities of oil.

The amount of oil released for oleogels after centrifugation was used as indicator of the oil binding capacity. The values found were 73.2, 62.3 and 50.7% for 6, 8 and 10% of CEM, respectively. As expected, at increasing amounts of CEM used in formulation of oleogels, the amount of released oil decreased noticeably, resulting in higher ability to entrap oil.

Regarding rheological properties, Figure 2 shows the evolution of the elastic modulus ( $G'$ ) and the viscous modulus ( $G''$ ) during cooling of oleogels with different CEM concentrations. It can be noticed that three regions characterized the curves: a region of constant  $G'$  values at initial stages of cooling, a sudden increase in  $G'$  values at critical temperatures of about 50 °C indicating onset of gelation, and a final region in which  $G'$  asymptotically increased to the quasi-equilibrium value at 20 °C. The temperatures at onset of structure formation (or gelation), determined as the point in which divergence in  $G'$  value was evident, were similar for the analyzed samples, and ranged between 49 and 51 °C. The monotonic increase in  $G'$  after onset of gelation indicates evolution of a single structural form. However, for all structuring agent concentrations assayed we found a second structural form, indicated by inflections on the curves, superseded the initial one. The existence of a second structural form was also observed by Ojijo *et al.* (2004) in olive oil/ palmitic and stearic monoglycerides oleogels.  $G''$  showed a similar behavior to  $G'$ . On the other hand, angular frequency sweep tests (Figure 3) showed that the values of  $G'$  were higher than  $G''$  and almost independent of frequency, which is typical of strong gels. Both  $G'$  and  $G''$  increased as the percentage of the structuring agent was raised.

The texture profile analysis (TPA) curves were used to calculate mechanical parameters of the oleogels. Figure 4 shows a typical force-time curve obtained for one of the oleogel samples. The height of the force peak on the first compression cycle (first bite) is defined as hardness. Fracturability is defined as the force of significant

break in the curve on the first bite. The ratio of the positive force areas under the first and second compressions ( $A_3/A_1$ ) was defined as cohesiveness. The negative force area of the first bite represents the work necessary to pull the compressing plunger away from the sample and is defined as adhesiveness. Figure 5 shows the effect of CEM concentration in oleogels on hardness and fracturability (primary axis) and cohesiveness (secondary axis). As the concentration of CEM increased, values of hardness and fracturability showed a significant linear increase ( $R^2=0.9986$  and  $R^2=0.9869$ , respectively), whereas cohesiveness showed a significant linear decrease ( $R^2=0.9941$ ). On the other hand, the adhesiveness increased significantly ( $P<0.0001$ ) with the increase of CEM concentration. Obtained values of adhesiveness were:  $3.2 \pm 0.5$ ,  $7.5 \pm 0.9$ ,  $13.8 \pm 1.8$  N.s for 6, 8 and 10 % CEM, respectively.

Increases in hardness and fracturability means that oleogels become more firm but more brittle as CEM concentration was increased. Cohesiveness represents the strength of the internal bonds making up the body of the product. It is expected to be inversely proportional to fracturability, as it was observed in this work. The increase in adhesiveness at increasing CEM concentrations implied an increase in the attractive force between the surface of the oleogel and the surface of the probe.

## 5. CONCLUSIONS

The results obtained in this study confirmed the ability of a commercial emulsifier mixture, containing saturated monoglycerides, to structure high oleic sunflower oil. Moreover, a very little amount of CEM ( $\approx\%$  of monoglycerides) was necessary to achieve gelation. In order to analyze the effect of CEM content in oleogels different techniques were used to characterize them. The highest oil binding capacity was obtained using the highest CEM concentration. Rheological parameters also showed dependence on the amount of CEM. Both  $G'$  and  $G''$  increased as the percentage of the structuring agent was raised. Likewise, textural parameters, which are an important quality factor in shortening and baking products, increased significantly with CEM concentration, with the exception of cohesiveness. However, additional characterization techniques might be necessary in order to determine tailored functionalities for specific food applications.

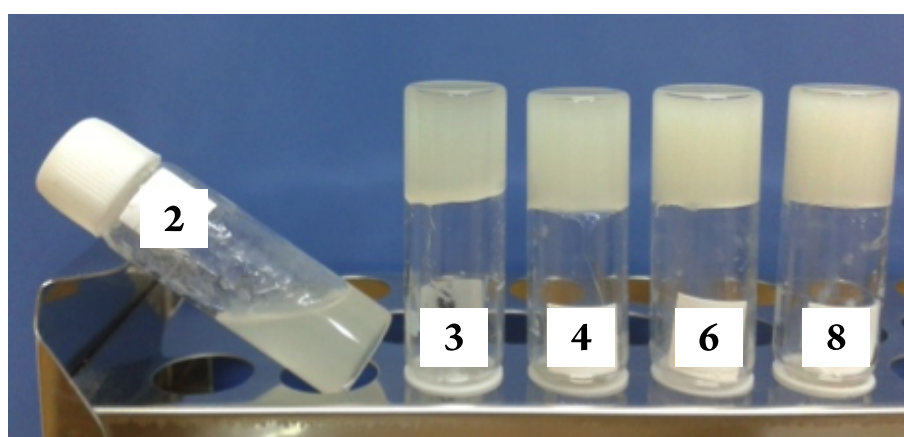
## ACKNOWLEDGMENTS

This work was financially supported by the Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), the Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT), and the Universidad Nacional del Sur (UNS) in Argentina.

## 6. REFERENCES

- CALLIGARIS S., Manzocco L., Valoppi F., and Nicoli M.C., (2013) "Effect of palm oil replacement with monoglyceride organogel and hydrogel on sweet bread properties" in *Food Research International*, 51, 2, pp. 596–602.
- DA PIEVE S., Calligaris S., Co E., Nicoli M.C., and Marangoni A.G., (2010) "Shear Nanostructuring of Monoglyceride Organogels" in *Food Biophysics*, 5, 3, pp. 211–217.
- DHAKA V., Gulia N., Ahlawat K.S. and Khatkar B.S., (2011) "Trans fats-sources, health risks and alternative approach - A review" in *Journal of Food Science and Technology*, 48, 5, pp. 534–541.
- HUGHES N.E., Marangoni A.G., Wright A.J., Rogers M.A. and Rush J.W.E., (2009) "Potential food applications of edible oil organogels" in *Science and Technology*, 20, 10, pp. 470–480.
- OJJO N.K.O, Neeman I., Eger S., and Shimoni E., (2004) "Effects of monoglyceride content, cooling rate and shear on the rheological properties of olive oil/monoglyceride gel networks" in *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84, 12, pp. 1585–1593.

## 7. TABLES AND FIGURES



**FIGURE 1.** Determination of critical concentration of CEM in HOSO/CEM oleogels formulation. Numbers indicate CEM concentration (w/w%) in the mixture

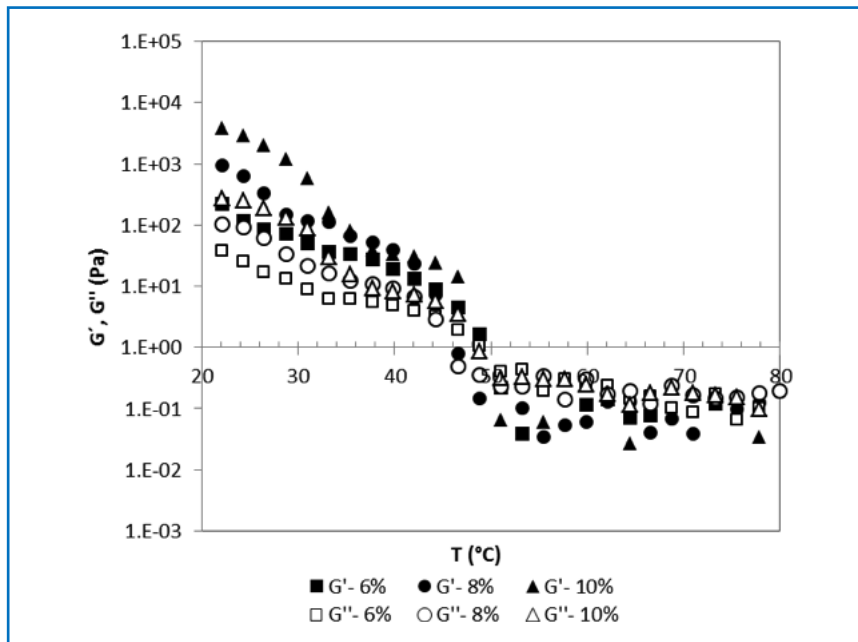


FIGURE 2. Evolution of  $G'$  and  $G''$  during cooling of HOSO/CEM mixtures at different CEM concentrations

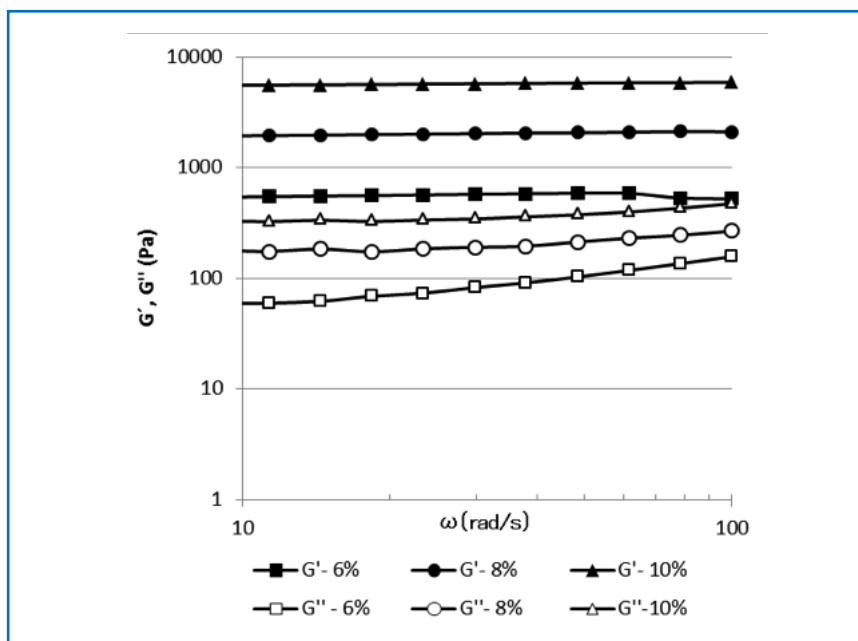


FIGURE 3.  $G'$  and  $G''$  vs angular frequency of HOSO/CEM oleogels prepared at different concentrations (w/w%) of CEM at 20 °C



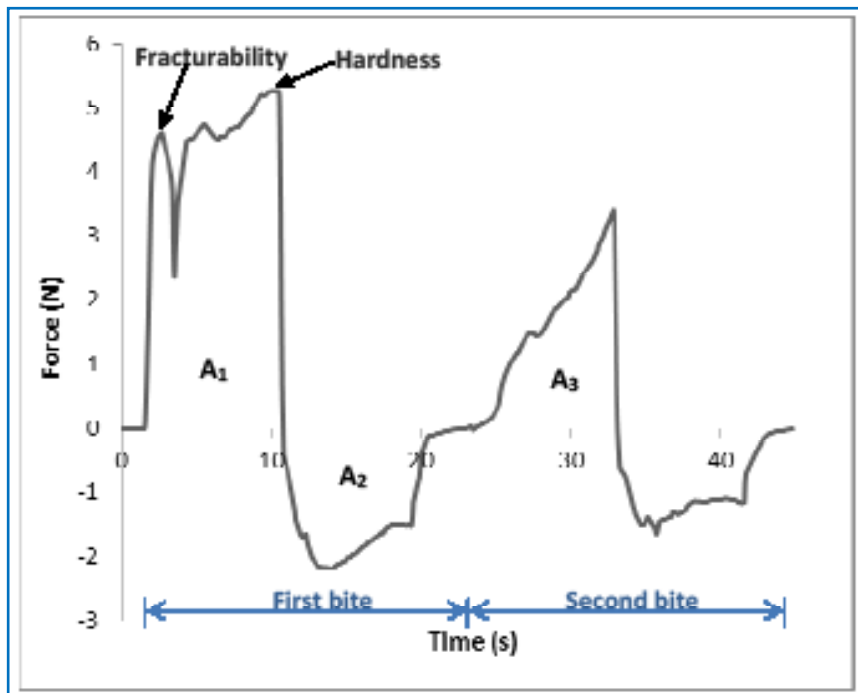


FIGURE 4. The texture profile analysis (TPA) curve of the HOSO and CEM (10%) oleogel at  $\approx 4^\circ\text{C}$

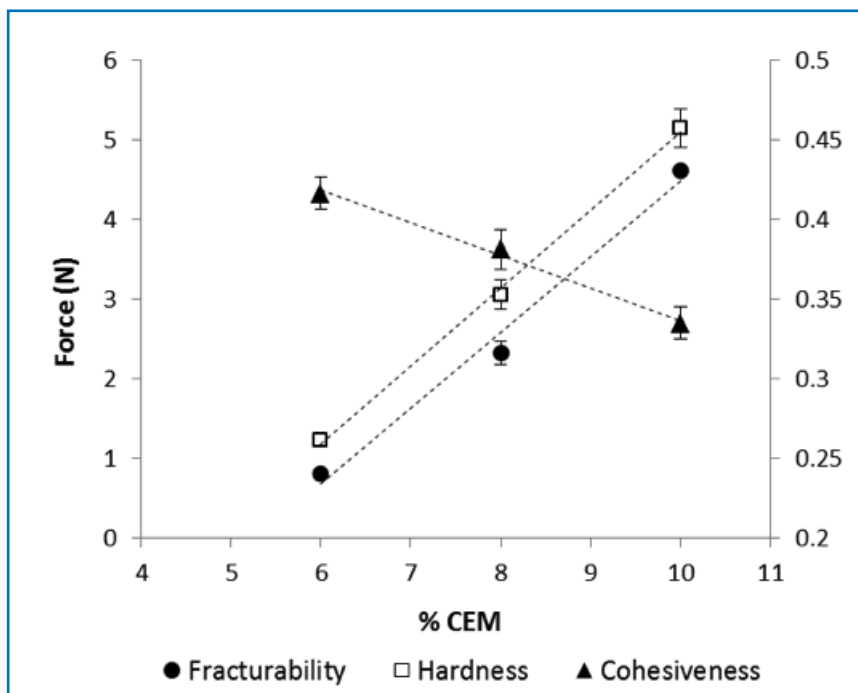


FIGURE 5. Textural parameters of HOSO/ CEM oleogels prepared at different concentrations (w/w%) of CEM at  $\approx 4^\circ\text{C}$

# CINÉTICA DE SECADO-TOSTADO DE SOJA REMOJADA. UN MODELO MATEMÁTICO QUE CONSIDERA DIFUSIVIDAD VARIABLE, ENCOGIMIENTO Y TRANSFERENCIA DE CALOR ACOPLADA

Ricardo Martín Torrez Irigoyen<sup>1</sup>, Sandro Mauricio Goñi<sup>1,2</sup>, Sergio Adrián Giner<sup>1,2,3</sup>

## 1. RESUMEN

La soja tiene un alto contenido proteico (40 % p/p), siendo un recurso para complementar la alimentación. Por el alto consumo de productos snack, se justifica el estudio de un proceso de precocción, inactivación y secado-tostado de soja para producir un producto poroso y crocante. El objetivo de este trabajo fue desarrollar un modelo matemático de la cinética de secado-tostado de granos remojados de soja en capa delgada fluidizada a temperaturas de aire de 100 a 160 °C y una velocidad de 2.5 m/s. Se emplearon datos experimentales de trabajos previos en secado y el desarrollo de un modelo de encogimiento para vincular el radio de partícula ( $R$ ) y su contenido de humedad media ( $W_m$ ). Se planteó un balance de materia local que considera difusión radial en geometría esférica con dominio variable, acoplado con un balance de energía macroscópico en el grano, los que se resolvieron mediante diferencias finitas y el método de Euler respectivamente. Se determinó el coeficiente de transferencia de calor partir del balance de energía usando las velocidades de secado experimentales, los que variaron entre 176 y 312 W/(m<sup>2</sup> °C). El coeficiente de difusión de agua ( $D_{\text{eff}}$ ) se consideró como función de la temperatura y el contenido de humedad. La primera fue una relación tipo Arrhenius, mientras

---

CONTACTO: R. Martín Torrez I. [martin.torrez67@gmail.com](mailto:martin.torrez67@gmail.com)

1. Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA). Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, Calle 47 y 116 (1900)- La Plata, Provincia de Buenos Aires, Argentina.
2. Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de La Plata.
3. Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires, Argentina.

que la segunda se halló asumiendo constancia del cociente  $D_{\text{eff}}/R^2$  extendiendo la validez del modelo de contracción volumétrica a nivel local. Los parámetros de Arrhenius se determinaron resolviendo un problema inverso con todo el conjunto de datos. La energía de activación ( $E_a$ ) fue 51.9 kJ/mol, con un factor preexponencial de 0.0237 m<sup>2</sup>/s. Las predicciones obtenidas de las curvas de humedad media y temperatura vs tiempo fueron muy satisfactorias, permitiendo la aplicación del modelo en procesos con cambios estructurales, así como también en diseño de equipos.

## 2. INTRODUCCIÓN

La soja promueve nutrición saludable por su alto contenido proteico (40 % p/p) y buen perfil de aminoácidos, y la creciente demanda de alimentos deshidratados tipo snack justifica el desarrollo de un proceso donde la soja pueda ser precocida/inactivada y secada-tostada para lograr un producto poroso y crocante. La fluidización se emplea en la etapa de reducción de humedad en virtud del tratamiento térmico homogéneo que imparte. El secado de materiales biológicos es un proceso complejo por los fenómenos simultáneos de transferencia de calor y materia en el interior de las partículas. A efectos de optimizar el proceso y la calidad del producto final es necesario conocer estos fenómenos con mayor profundidad (Białobrzewski y col., 2008). Las cinéticas de secado en capa delgada fueron estudiadas previamente, no obstante lo cual no se resolvió hasta el momento un modelo difusivo que considere contracción de volumen y coeficiente de difusión variable con la concentración, más transferencia de calor acoplada, para temperaturas mayores a 100 °C en granos remojados de soja. Torrez Irigoyen y Giner (2014) estudiaron la cinética de secado-tostado de granos de soja remojados y aplicaron una solución analítica de la ecuación de difusión no estacionaria para volumen y difusividad constante. La predicción fue muy buena, a pesar de que estudios previos revelaron que el grano se encogía durante el tratamiento térmico (Torrez Irigoyen y Giner, 2011). Esta alta calidad predictiva radicó en el hecho de que la relación ( $D_{\text{eff}}/R^2$ ), que en la solución analítica es un factor constante por suponerse constante  $D_{\text{eff}}$  y  $R$ , permanece constante como relación pudiendo tener numerador y denominador variable. Esta inferencia permite vincular el coeficiente de difusión y el contenido de humedad. Se desarrollará un modelo matemático riguroso para interpretar el secado-tostado de soja remojada en capa delgada fluidizada, considerando encogimiento,  $D_{\text{eff}}$  variable y comparar las predicciones con valores experimentales.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### MATERIALES

Se trabajó con granos de soja variedad 5.5i, provistos por Don Mario Semillas, Chacabuco, Provincia de Buenos Aires, Argentina. La humedad inicial de los granos fue de 0.113 kg agua/kg materia seca.

#### PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Los granos se remojaron en agua (relación agua: soja de 2:1), durante 24 h a 10 °C. El tratamiento térmico de secado tostado se llevó a cabo en un equipo de lecho fluidizado con control automático de la temperatura y velocidad de aire, entre 100 y 160 °C y a 2,5 m/s. Más detalles del equipo y la técnica experimental se encuentran en Torrez Irigoyen y Giner (2014).

#### MODELADO MATEMÁTICO DEL SECADO-TOSTADO EN CAPA DELGADA

##### BALANCE MICROSCÓPICO CON TRANSPORTE DIFUSIVO DE AGUA

Asumiendo transporte de agua por difusión molecular, el balance microscópico puede expresarse de la siguiente forma considerando volumen variable para el grano:

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D_{\text{eff}} \left( \frac{\partial^2 C}{\partial r^2} + \frac{2}{r} \frac{\partial C}{\partial r} \right) + \frac{\partial C}{\partial r} \frac{\partial D_{\text{eff}}}{\partial r} \quad (1)$$

donde  $D_{\text{eff}}$  es el coeficiente de difusión efectivo de agua relativo a la materia seca (Torrez Irigoyen y col., 2014) en  $\text{m}^2/\text{s}$  y  $C$  el contenido de humedad en  $\text{kg agua}/\text{m}^3$ . Las condiciones inicial y de contorno aplicadas para resolver la Ec. diferencial (1) son las siguientes:

$$t=0 \quad C = C_0 \quad 0 \leq r \leq R_0 \quad (2)$$

donde  $C_0$  es la concentración inicial de agua en el grano.

Por simetría, el flujo másico es nulo en el centro de una esfera. Por tanto el gradiente es cero:

$$r = 0 \quad \frac{\partial C}{\partial r} = 0 \quad t > 0 \quad (3)$$

Para resolver la singularidad del cociente de la derivada al radio, en  $r=0$  se aplicó la regla de L'Hôpital para obtener en el centro:

$$\frac{\partial C}{\partial t} = 3 D_{eff} \frac{\partial^2 C}{\partial r^2} \quad (4)$$

$$r = R \quad -D \frac{\partial C}{\partial r} = k_g (C - C_e) \quad t > 0 \quad (5)$$

donde la concentración de equilibrio  $C_e$  se obtuvo a partir de la humedad de equilibrio  $W_e$ , calculada a partir de un modelo de isoterma de sorción de un trabajo previo (Torrez Irigoyen y Giner, 2014).

### BALANCE MACROSCÓPICO DE ENERGÍA

La temperatura del grano se asumió uniforme en el espacio intragranular pero variable con el tiempo, por el bajo Biot de calor (Giner y col., 2010). Así, la transferencia de calor aire-grano es un fenómeno gobernado por control externo. El balance macroscópico de energía en el grano es:

$$\frac{dT}{dt} = \frac{h_T a_v (T_a - T)}{\rho_s C_{p,s}} - \left( -\frac{dW_m}{dt} \right) \frac{L_W}{C_{p,s}} \quad (6)$$

$\rho_s$  es la densidad de material seca,  $\text{kg}/\text{m}^3$ ;  $C_{p,s}$  el calor específico del sólido,  $\text{J}/(\text{kg ms } ^\circ\text{C})$ ;  $h_T$  es el coeficiente de transferencia de calor,  $\text{W}/(\text{m}^2 \text{ } ^\circ\text{C})$ ;  $a_v$  el área específica del grano (área del grano/volumen de grano);  $T_a$  y  $T$  las temperaturas del aire y grano,  $^\circ\text{C}$ ;  $(-dW_m/dt)$  la velocidad de secado basada en la humedad media en el grano ( $W_m$ ), y  $L_g$  el calor de desorción del grano,  $\text{J}/\text{kg}$ . La Ec. (6) es una EDO con coeficientes variables que se resuelve a partir de  $t=0$   $T=T_0$ . Los  $h_T$  fueron obtenidos por Torrez Irigoyen y col. (2014).

### MODELO MATEMÁTICO PARA LA CONTRACCIÓN VOLUMÉTRICA

El encogimiento del grano entero de soja durante el secado-tostado fue estudiado por Torrez Irigoyen y Giner (2011), quienes relacionaron la contracción volumétrica con el contenido medio de humedad, mediante la siguiente ecuación:

$$\frac{R}{R_0} = \left( 1 - a \frac{\rho_0 (W_0 - W_m)}{\rho_w (1 + W_0)} \right)^{1/3} \quad (7)$$

Donde  $R_0$  ( $4 \times 10^{-3}$  m) y  $R$  son los radios de partícula a  $t=0$  y al tiempo  $t$ , respectivamente en m;  $a$  es el coeficiente de contracción volumétrica;  $\rho_0$  la densidad inicial de la partícula,  $\text{kg}/\text{m}^3$  mientras que  $\rho_w$  la densidad de agua,  $\text{kg}/\text{m}^3$ .

## DEPENDENCIA DEL COEFICIENTE DE DIFUSIÓN CON EL CONTENIDO DE HUMEDAD

Torrez Irigoyen y col. (2014) obtuvieron la siguiente relación para el coeficiente de difusión:

$$D_{eff} = D(T) \left( 1 - a \frac{\rho_0 (W_0 - W)}{\rho_w (1 + W_0)} \right)^{2/3} \quad (8)$$

donde  $D(T)$  es una expresión de Arrhenius que relaciona el coeficiente de difusión con la temperatura.

### SOLUCIÓN NUMÉRICA

El modelo matemático (Ecs. (3-6)) se resolvió por diferencias finitas implícitas. Los nodos radiales fueron seleccionados para generar elementos de igual volumen en el grano  $\Delta V$ , para cada tiempo: se dividió la esfera en  $(I-1)$  elementos donde  $\Delta V = V/(I-1)$ , siendo  $V$  el volumen del grano. Este método genera un mallado más denso próximo a la superficie, donde los cambios en la variable dependiente son más rápidos, lo cual mejora la precisión en el cálculo de los perfiles de concentración. La forma discreta del sistema de ecuaciones es:

- Para el centro de una esfera,  $i=1$ :

$$\left[ 1 + \frac{6 \Delta t D_1^{n+1}}{r_2^2} \right] C_1^{n+1} + \left[ - \frac{6 \Delta t D_1^{n+1}}{r_2^2} \right] C_2^{n+1} = C_1^n$$

(9a)

- Ecuación general para los nodos intermedios,  $i=2$  a  $I-1$ :

$$\left[ \frac{\Delta t}{(r_{i+1} - r_{i-1})} \left( \frac{-D_i^{n+1}}{0.5(r_i - r_{i+1})} + \frac{2D_i^{n+1}}{r_i} + \frac{(D_{i+1}^{n+1} - D_{i+1}^{n+1})}{(r_{i+1} - r_{i-1})} \right) \right] C_{i-1}^{n+1} + \dots$$
$$\left[ 1 + \frac{D_i^{n+1} \Delta t}{0.5(r_{i+1} - r_{i-1})} \left( \frac{1}{r_{i+1} - r_i} + \frac{1}{r_i - r_{i-1}} \right) \right] C_i^{n+1} + \dots$$
$$\left[ \frac{\Delta t}{(r_{i+1} - r_{i-1})} \left( - \frac{D_i^{n+1}}{0.5(r_{i+1} - r_i)} - \frac{2D_i^{n+1}}{r_i} - \frac{(D_{i+1}^{n+1} - D_{i+1}^{n+1})}{(r_{i+1} - r_{i-1})} \right) \right] C_{i+1}^{n+1} = C_i^n$$

(9b)

- En la superficie de la esfera,  $i=I$ :

$$\left[ \frac{-D_I^{n+1} \Delta t}{0.5(r_f - r_{I-1})} \left( \frac{1}{r_f - r_I} + \frac{1}{r_I - r_{I-1}} \right) \right] C_{I-1}^{n+1} + \dots$$

$$\left[ 1 + \frac{D_I^{n+1} \Delta t}{0.5(r_f - r_{I-1})} \left( \frac{1}{r_f - r_I} + \frac{1}{r_I - r_{I-1}} \right) - \frac{k_g \Delta t}{D_I^{n+1}} - \frac{D_I^{n+1}}{0.5(r_f - r_I)} - \frac{2D_I^{n+1}}{r_I} - \frac{(D_f - D_{I-1}^{n+1})}{(r_f - r_{I-1})} \right] C_I^{n+1} =$$

$$C_i^n - \frac{k_g C_e \Delta t}{D_I^{n+1}} - \frac{D_I^{n+1}}{0.5(r_f - r_I)} - \frac{2D_I^{n+1}}{r_I} - \frac{(D_f - D_{I-1}^{n+1})}{(r_f - r_{I-1})}$$

(9c)

El sistema de ecuaciones resultante (Ec. (9)) es no lineal dado que los coeficientes de la matriz dependen de las variables desconocidas ( $W$  y  $T$ ). Para evitar resolver un sistema de ecuaciones iterativo y posiblemente no convergente, el  $D_{\text{eff}}$  fue evaluado al tiempo  $n$  por tanto el sistema se vuelve lineal. La concentración volumétrica media ( $C_m$ ) se calculó con el método de los trapecios. Dado el radio, el modelo propuesto calcula los nodos radiales, se resuelve el balance acoplado de materia y energía y se calculan  $C_m$  y  $W_m$  para un tiempo posterior. Con estos valores, se calculan el nuevo radio y volumen de partícula con la ecuación de contracción volumétrica. La solución numérica fue implementada en MATLAB.

#### DETERMINACIÓN DEL COEFICIENTE DE TRANSFERENCIA DE MATERIA

Para estimar  $k_g$  se utilizó un algoritmo de optimización que minimiza la suma de residuos cuadrados ponderados entre los datos experimentales y predichos, donde los factores  $1/W_0^2$  y  $1/T_{\text{amb}}^2$  se emplean para igualar la magnitud de ambos términos:

$$SRCP = \frac{1}{W_0^2} \sum_{i=1}^M (W_{\text{exp},i} - W_{\text{sim},i})^2 + \frac{1}{T_{\text{amb}}^2} \sum_{j=1}^N (T_{\text{exp},j} - T_{\text{sim},j})^2 \quad (10)$$

Para resolver el problema se utilizó un método de búsqueda local cuasi-Newton:  $H(\beta_k)(\beta_{k+1} - \beta_k) = -\gamma J(\beta_k)$  Donde  $J$  y  $H$  son el vector Jacobiano (vector) y la matriz Hesiana de la función objetivo, respectivamente, los que se aproximaron por diferencias finitas.  $\beta$  son los parámetros desconocidos (vector). Los resultados se expresan a través del coeficiente de correlación  $R^2$  y la desviación absoluta promedio ( $DAP$ ) en orden de expresar los errores en las mismas unidades que la variable ajustada:

$$DAP = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n |y_{\text{exp},i} - y_{\text{pred},i}| \quad (11)$$

Bialobrzewski (2007) quien estudio el coeficiente de transferencia de materia sugirió que la metodología de optimización provee resultados más precisos y específicos de este parámetro en comparación con aquellos métodos que implican el uso de correlaciones convencionales.

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

##### CURVAS EXPERIMENTALES Y PREDICHAS DURANTE

##### EL SECADO-TOSTADO EN CAPA DELGADA

La Figura 1 muestra el contenido de humedad media experimental de los granos enteros de soja como función del tiempo, para todos los tratamientos de secado-tostado. En todos los casos el modelo de secado se resolvió incluyendo un modelo de contracción de volumen en dos etapas (Torrez Irigoyen y col., 2014). Se observa que el contenido de humedad disminuye hasta alcanzar un valor próximo al equilibrio, y la velocidad de secado aumenta con la temperatura.

Se utilizaron 31 nodos radiales y un paso de tiempo variable (pasos cortos de tiempo al comienzo de la simulación). El tiempo computacional insumido fue muy corto.

La Figura 2 muestra las historias térmicas de los granos como función del tiempo obtenida a partir del balance acoplado energía en el modelo de secado. Las curvas de temperatura predicha concuerdan satisfactoriamente con los datos experimentales.

Mientras que las diferencias finitas implícitas son incondicionalmente estables, el balance de energía se resolvió utilizando el método de Euler, con pasos de tiempo controlados. El ajuste utilizó todo el conjunto de datos para obtener un valor único  $E_a=51.9$  kJ/mol y un factor pre-exponencial de  $0.0237$  m<sup>2</sup>/s. La Tabla 1 muestra el resultado de los ajustes del modelo de secado. El modelo provee una predicción adecuada a altas temperaturas (140-160 °C). Sin embargo, a 100 y 120 °C las humedades calculadas son menores que las experimentales al final del secado-tostado por los bajos valores de  $W_e$  calculados con Halsey. En la Tabla 1 se presentan los coeficientes de transferencia de materia determinados para todos los casos.

La Figura 3 muestra la variación la humedad como función del radio durante los primeros minutos del secado-tostado. Los perfiles de humedad se mueven hacia la izquierda a mayores tiempos. Más aún, el punto inicial también se mueve hacia la izquierda por elencogimiento. Así, las humedades disminuyen más rápido a medida que aumenta la temperatura.



Para comprobar la validez del método de búsqueda local empleado, se utilizó un método de optimización global a través de un algoritmo genético de objetivo único adaptado de Goñi y col. (2008), dado que los resultados obtenidos por ambos métodos fueron muy similares se comprobó satisfactoriamente la validez del método cuasi-Newton utilizado. Por otra parte, el algoritmo genético demandó varias horas de tiempo computacional para obtener la solución, en lugar de los segundos que demanda el método de búsqueda local.

## 5. CONCLUSIONES

Se modeló matemáticamente en detalle el secado-tostado a altas temperaturas de soja remojada con el objetivo de mejorar el conocimiento de este proceso. Este modelo considera transferencia de materia local con encogimiento y coeficiente de difusión variable ( $D_{\text{eff}}$ ), acoplado a la predicción de la curva de temperatura, por balance macroscópico de energía. Se determinó el coeficiente de transferencia de materia en cada tratamiento térmico a partir del conjunto completo de datos experimentales. El  $D_{\text{eff}}$  consistió del producto de dos funciones una de temperatura (Ec. de Arrhenius) y otra del contenido de humedad, la última basada en una relación semi-teórica inferida de la solución analítica y extendiendo la validez del modelo de encogimiento macroscópico a nivel local. Una energía de activación de 51.9 kJ/mol y un factor pre-exponencial igual a 0.0237 m<sup>2</sup>/s fueron estimados resolviendo un problema inverso para todo el conjunto de datos. Tanto la curva de humedad como la de temperatura simuladas estuvieron en concordancia con los datos experimentales. La consideración de las variaciones de tamaño y temperatura proveyó una interpretación más adecuada del proceso de formación del grano entero de soja crocante tipo snack y permitieron estimar un coeficiente de difusión más adecuado. Este modelo puede ser útil para el diseño de equipos, por la predicción de los tiempos de secado-tostado y el consumo de energía.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BIALOBRZEWSKI, I. (2007). Determination of the mass transfer coefficient during hot-air-drying of celery root. *Journal of Food Engineering*, 78, 1388-1396.
- GINER, S.A., Torrez Irigoyen, R.M., Cicuttín, S. & Fiorentini, C. (2010). The variable nature of biot numbers in food drying. *Journal of Food Engineering*, 101, 214-222.

GOÑI, S.M., Oddone, S., Segura, J.A., Mascheroni, R.H. & Salvadori, V.O. (2008). Prediction of foods freezing and thawing times: Artificial neural networks and genetic algorithm approach. *Journal of Food Engineering*, 84(1), 164-178.

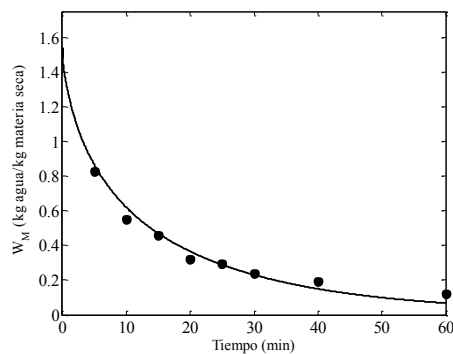
TORREZ IRIGOYEN, R.M. & Giner, S.A. (2011). Volume and density of whole soybean products during hot-air thermal treatment in fluidised bed. *Journal of Food Engineering*, 102, 224-232.

TORREZ IRIGOYEN, R.M. & Giner, S.A. (2014). Drying-toasting kinetics of presoaked soybean in fluidised bed. Experimental study and mathematical modelling with analytical solutions. *Journal of Food Engineering*, 128, 31-39.

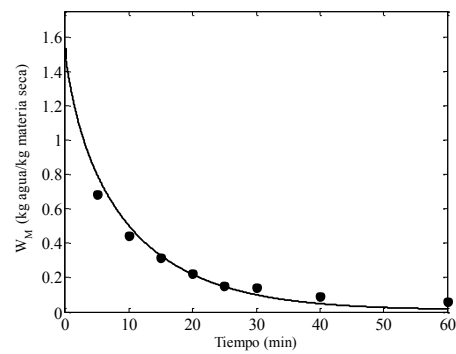
## 7. TABLAS Y FIGURAS

**TABLA 1.** DAP (en unidades de la variable dependiente) y  $R^2$  del procedimiento de ajuste empleados para estimar la energía de activación  $E_a$  y el factor pre-exponencial

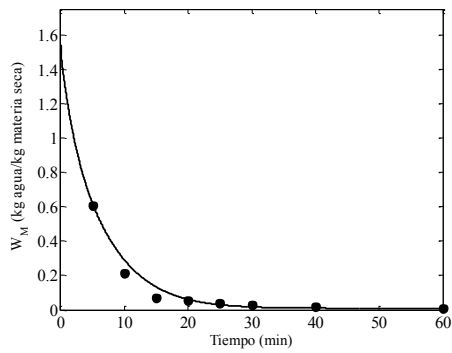
|   |        | Temperatura de secado-tostado (°C) |           |           |           |
|---|--------|------------------------------------|-----------|-----------|-----------|
|   |        | 100                                | 120       | 140       | 160       |
| $k_g$ (m/s)   |        | 1.5194e-5                          | 6.1992e-6 | 1.6857e-5 | 2.3720e-5 |
| Diferencias finitas considerando encogimiento en dos etapas | AAD, W | 0.0337                             | 0.0414    | 0.0299    | 0.0214    |
|   | $R^2$  | 0.9984                             | 0.9964    | 0.9987    | 0.9999    |
|   | AAD, T | 0.85                               | 1.14      | 1.87      | 2.40      |
|   | $R^2$  | 0.9851                             | 0.9940    | 0.9974    | 0.9957    |



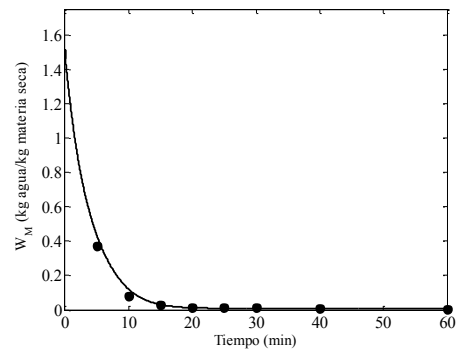
(a)



(b)

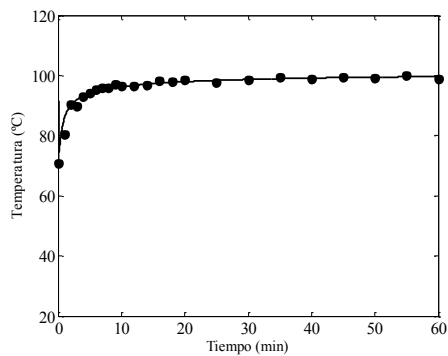


(c)

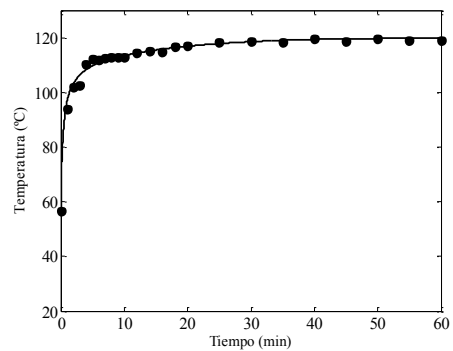


(d)

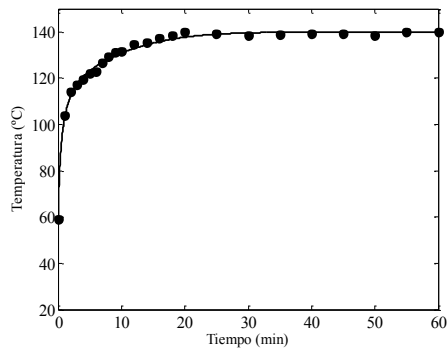
**FIGURA 1.** Variación del contenido de humedad media experimental (•) y predicha (—) durante el secado-tostado a temperaturas de: (a) 100 °C, (b) 120 °C, (c) 140 °C y (d) 160 °C



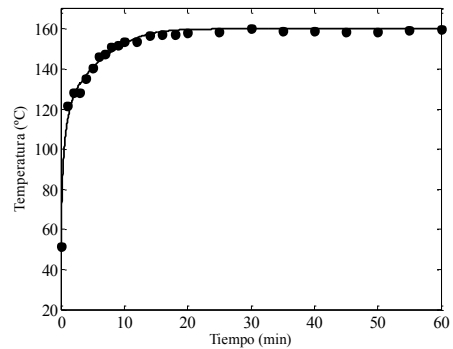
(a)



(b)

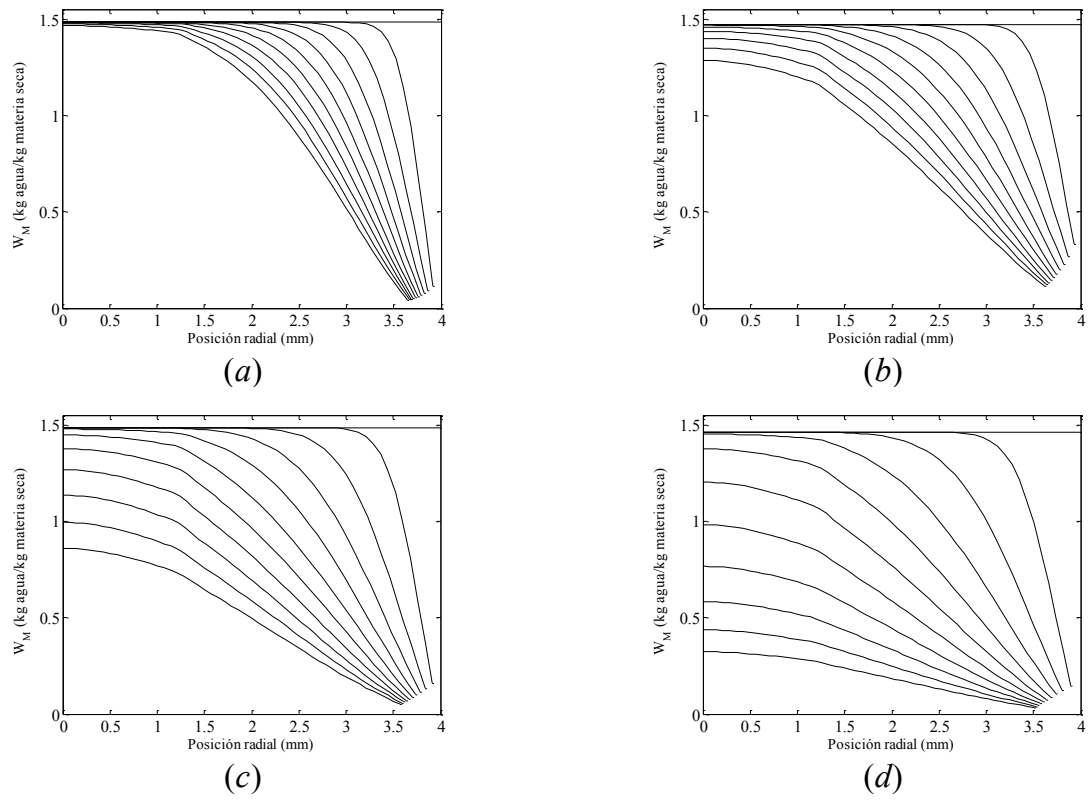


(c)



(d)

**FIGURA 2.** Perfiles de temperatura experimental (•) y predicha (—) durante el secado-tostado a temperaturas de: (a) 100 °C, (b) 120 °C, (c) 140 °C y (d) 160 °C



**FIGURA 3.** Perfiles de humedad para los primeros 10 minutos de secado-tostado como función de la posición radial a las diferentes temperaturas: (a) 100 °C, (b) 120 °C, (c) 140 °C y (d) 160 °C

# ESTUDIO DE LA HIDRATACIÓN DE PELÍCULAS COMESTIBLES ELABORADAS A PARTIR DE LA LEVADURA

Andrés Gerardo Salvay, Gabriela Fernanda Rud, Matías Alberto Nana,  
Juan Francisco Delgado, Orlando de la Osa

## 1. RESUMEN

En este trabajo se estudió la hidratación de películas elaboradas a partir de la biomasa completa de levadura panadera, a la que se le aplican combinaciones de tratamientos físicos adecuados para desarrollar la capacidad de formar películas. El agua de hidratación de estas películas, al actuar como plastificante, juega un rol fundamental en las propiedades mecánicas y en el transporte de materia a través de las mismas. Los experimentos fueron realizados sobre films ultra delgados y sobre películas de  $\sim 1 \mu\text{m}$  y  $\sim 0.3 \text{ mm}$  de espesor respectivamente, para estudiar separadamente la hidratación en la superficie y en el interior del sistema. Para caracterizar la hidratación se midieron las isotermas de sorción de agua, conjuntamente con las cinéticas de hidratación y deshidratación. Los experimentos fueron realizados a  $24^\circ\text{C}$ . Las cinéticas mostraron la existencia de dos procesos para la captación de agua, uno lento y otro rápido, que pueden ser asociados al complejo celular y al material extracelular, respectivamente. La cantidad de agua sorbida a 90 % humedad relativa (h.r.) fue recuperada luego del secado en silica gel y posterior rehidratación. Las isotermas revelaron que las películas presentan una hidratación mayoritariamente en forma de multicapas, mostrando características más hidrofóbicas que hidrofílicas. La adición del glicerol solo aumentó la cantidad de agua sorbida sin modificar la forma de la isoterma. Efectos de superficie fueron observados en las muestras, revelando fenómenos de adsorción notables. Estos resultados sugieren que el material tiene potencialidad para su empleo como recubrimiento de sistemas de interés en la industria alimentaria.

---

CONTACTO: Andrés Gerardo Salvay [andressalvay@gmail.com](mailto:andressalvay@gmail.com)  
Laboratorio de Obtención, Modificación, Caracterización y  
Estudio de Materiales (LOMCEM), Departamento de Ciencia y  
Tecnología, Universidad Nacional de Quilmes, Bernal, Argentina.

## 2. INTRODUCCIÓN

La investigación y el desarrollo de películas obtenidas a partir de fuentes orgánicas es un tema de interés creciente dada su aplicación en el campo de la preservación de los alimentos (Falguera *et al.* 2011, Jiménez *et al.* 2012). Estas películas deben requerir una tecnología simple para su elaboración, y las materias primas necesarias para su preparación deben ser abundantes y de bajo costo.

En este trabajo las películas y films ultra delgados se elaboraron a partir de la biomasa completa de la levadura panadera. Las levaduras son un grupo de hongos unicelulares que concentra a varios géneros y especies. En general, las células de levadura poseen, desde el exterior hacia el interior, una pared celular compuesta mayoritariamente por polisacáridos (glucanos y mananos), una pequeña porción de proteínas, y un 1-2 % de quitina. Esta pared proporciona resistencia mecánica y da forma a la célula. Luego se encuentra el espacio periplásmico (compuesto fundamentalmente por enzimas con glicosilaciones), seguido de la membrana plasmática, la que encierra el interior celular. El contenido de proteína bruta, incluyendo ácidos nucleicos, es del 40-50 % en peso seco (Delgado 2014). De esta forma, las películas elaboradas a partir de levadura están compuestas por materiales que interactúan con el agua. Estudiar las propiedades de hidratación, es de fundamental importancia para un mejor entendimiento y optimización de la función que se requiere de un recubrimiento (Kester & Fennema 1985, Koelsch 1994, Cho & Rhee 2004). El agua de hidratación, al actuar como plastificante, juega un rol fundamental en las propiedades mecánicas y de barrera.

En este trabajo se estudió la hidratación de películas preparadas a partir de dispersiones de levadura sometidas a distintos procesos de calentado y homogeneizado por presión. El orden y la secuencia con que se realizan estos procesos físicos son de crucial importancia para las propiedades estructurales y mecánicas del sistema (Delgado 2014). Se investigó también los efectos que produce la adición del plastificante. Los estudios fueron realizados sobre films ultra delgados y sobre películas de  $\sim 1 \mu\text{m}$  y  $\sim 0.3 \text{ mm}$  de espesor respectivamente, de manera de investigar separadamente la hidratación en la superficie y en el interior de las muestras. La metodología experimental aplicada se basó en las isotermas de sorción de agua, conjuntamente con las cinéticas de hidratación y secado.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Las muestras fueron preparadas a partir de una dispersión de levadura (CALSA, AB Mauri Argentina, Tucumán) al 10 % peso seco en volumen, utilizando agua destilada. Las dispersiones fueron sometidas a los procesos físicos de calentado a 90 °C, y homogeneizado por presión a 1250 atmósferas, y finalmente se realizó la evaporación del solvente. El orden y la secuencia con que se realizaron estos tratamientos definieron los tipos de muestras estudiadas: calentada (C), calentada-homogeneizada (CH), y homogeneizada-calentada-homogeneizada (HCH). En el caso de las muestras con plastificante (glicerol), este se adicionó a las muestras líquidas en porcentajes referidos al porcentaje de materia seca presente en la dispersión. Las películas fueron preparadas colocando 20 g de la dispersión en capsulas de Petri de plástico y ubicadas en estufa a 55 °C durante 12 horas. Los films ultra delgados fueron obtenidos depositando ~50 µg de dispersión sobre un área plana de 0.384 cm<sup>2</sup> de un cristal de cuarzo, los que se dejaron reposar durante al menos dos horas en un ambiente a 24 °C y 33 % h.r. El espesor obtenido fue de ~ 1 µm para los films ultra delgados, y ~ 0.3 mm para las películas. Todas las películas y films, una vez constituidos, se colocaron a hidratar a 90 % h.r. de forma de observar posteriormente si el secado produce cambios irreversibles en la hidratación.

#### ISOTERMAS DE SORCIÓN

La hidratación de las películas y films ultra delgados fue estudiada por medio de las isoterma de sorción, definida como la relación entre el contenido de agua en la muestra ( $\eta$ ) en equilibrio con la h.r. o actividad de agua  $a_w$  ( $a_w = \% \text{ h.r.} / 100$ ) del entorno, a temperatura (T) constante. Para  $a_w < 0.6$  las isotermas son analizadas mediante el modelo de BET (Brunauer *et al.* 1938) que permite caracterizar las propiedades de la monocapa o agua dehidratación unida directamente a las macromoléculas. En la región de  $a_w < 0.6$  la representación gráfica de  $a_w / [\eta (1 - a_w)]$  versus  $a_w$  es aproximadamente lineal, y puede utilizarse la ecuación de BET  $a_w / [\eta (1 - a_w)] = 1 / (N_{BET} \cdot c_{BET}) + [(c_{BET} - 1) / (N_{BET} \cdot c_{BET})] a_w$ , donde  $\eta$  es el contenido de agua en la muestra (g H<sub>2</sub>O per g masa seca) a una dada  $a_w$ ,  $N_{BET}$  el número de sitios de hidratación en la monocapa, y  $c_{BET}$  un parámetro que da cuenta de la capacidad o fuerza para la unión de agua en la monocapa. Con el ajuste lineal de los datos

experimentales de la isoterma en la representación de BET, se obtienen los valores de la pendiente y la ordenada al origen, que permiten determinar por medio de la ecuación de BET los parámetros  $N_{\text{BET}}$  y  $c_{\text{BET}}$  del proceso.

Las isothermas fueron también analizadas en todo el rango de  $a_w$  mediante el modelo de GAB (Guggenheim 1966, Anderson 1946, DeBoer 1968), que permite caracterizar las propiedades de la monocapa como así también las propiedades de la multicapa o agua de hidratación que no está unida directamente a las macromoléculas. En este modelo los datos experimentales fueron graficados en la forma  $\eta$  versus  $a_w$  y ajustados con la fórmula  $\eta(a_w) = (N_{\text{GAB}} \cdot c_{\text{GAB}} \cdot k_{\text{GAB}} \cdot a_w) / [(1 + (c_{\text{GAB}} - 1) \cdot k_{\text{GAB}} \cdot a_w)(1 - k_{\text{GAB}} \cdot a_w)]$ , donde  $N_{\text{GAB}}$  es el contenido de agua en la monocapa,  $c_{\text{GAB}}$  el parámetro que da cuenta de la capacidad hidrofílica o fuerza para la unión de agua en la monocapa, y  $k_{\text{GAB}}$  el parámetro que da cuenta de la capacidad o fuerza para la unión de agua en la multicapa (Salvay *et al.* 2003). Las isothermas experimentales son ajustadas con el modelo de GAB, pero con los valores fijos de los parámetros  $N$  y  $c$  obtenidos mediante el análisis de BET.

Para determinar las isothermas de sorción usamos el método gravimétrico, que consiste en colocar la muestra sin secar (desorción) o seco (sorción), en atmósferas a h.r. controladas. Las fuentes de humedades son generadas a través de soluciones saturadas de sales (LiCl, MgCl<sub>2</sub>, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, NaBr, NaCl, KCl, y BaCl<sub>2</sub>, para generar  $a_w$  de 0.11, 0.33, 0.43, 0.57, 0.75, 0.84, y 0.90, respectivamente), el ambiente a 0% h.r. es generado con silica gel. Dependiendo de la humedad inicial contenida en las muestras, estas pueden ganar o perder agua hasta que el equilibrio sea alcanzado a la humedad controlada del ambiente. En el equilibrio, caracterizado por peso constante, el contenido de agua en las muestras,  $\eta$ , puede ser determinado por la diferencia entre el peso de la muestra hidratada y el peso de la muestra seca. Para las películas usamos balanzas de precisión analítica ( $\pm 10^{-4}$  g), mientras que para los films ultra delgados usamos la microbalanza de cristal de cuarzo, donde se deposita el film sobre la superficie de un cristal de cuarzo que actúa como microbalanza (Salvay *et al.* 2003). El cambio en la frecuencia de resonancia  $\Delta f$  del cristal, está relacionado con la masa  $\Delta m$  del film adherido a través de la ecuación  $\Delta m = -C \Delta f$ , donde  $C = 4.7 \cdot 10^{-9}$  g Hz<sup>-1</sup> es una constante característica de los cristales usados en nuestros experimentos (Cristales Argentinos S.A.), de manera que el cambio en la frecuencia de 1 Hz corresponde a un cambio de  $4.7 \cdot 10^{-9}$  g en la masa del film.



## CINÉTICAS DE HIDRATACIÓN Y SECADO

En forma conjunta a los experimentos de la isoterma de sorción, fueron realizados experimentos de cinética de hidratación a 90 % h.r., y deshidratación en ambiente con silica gel, registrando el cambio del peso de las muestras en el tiempo. Estas cinéticas fueron modeladas por una función bi-exponencial que involucra dos procesos con velocidades diferentes para la captación de agua (Salvay *et al.* 2003). Para el ajuste de los datos experimentales de hidratación se usó la ecuación  $\eta(t)=\eta_0+\Delta\eta_1[1-\exp(-t/t_1)]+\Delta\eta_2[1-\exp(-t/t_2)]$ , donde  $\eta_0$  es el contenido de agua a  $t=0$ ,  $t_1$  y  $t_2$  las constantes de tiempo características de los procesos 1 y 2, y  $\Delta\eta_1$  y  $\Delta\eta_2$  son las cantidades de agua involucradas en los procesos 1 y 2 respectivamente. Para la deshidratación fue usada la expresión  $\eta(t)=\eta_\infty+\Delta\eta_1[\exp(-t/t_1)]+\Delta\eta_2[\exp(-t/t_2)]$ , donde  $\eta_\infty$  es el contenido de agua a  $t=\infty$ . El modelo cinético de captación de agua de Pilosof-Boquet-Bartholomai (Pilosof *et al.* 1985) fue también usado para el ajuste de las cinéticas, pero en este trabajo solo mostramos los parámetros obtenidos con el modelo cinético bi-exponencial. Todos los experimentos fueron realizados a 24 °C.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### CINÉTICAS DE HIDRATACIÓN Y SECADO

Luego de ser constituidas e hidratadas en equilibrio a 90 % h.r., las muestras son colocadas en ambiente seco con silica gel, y el contenido de agua es medido en función del tiempo para obtener así las cinéticas de deshidratación. Luego de secar completamente, las películas son rehidratadas en ambiente a 90 % h.r. y el contenido de agua registrado en función del tiempo. En todas las muestras se observó reversibilidad luego del secado total. La Figura 1, Panel A, muestra las cinéticas de deshidratación e hidratación, donde se observa que las películas alcanzan sus valores de equilibrio de hidratación y secado luego de 8 días, mientras que los films ultra delgados lo hacen luego de 5 horas. Puede verse que el modelo cinético bi-exponencial realiza un buen ajuste de los puntos experimentales, de manera que consideramos para el análisis los valores de los parámetros obtenidos con este modelo. La Tabla 1 muestra los valores de los parámetros de las cinéticas de hidratación a 90 % h.r. Las películas C, CH, y HCH, presentan valores de hidratación en equilibrio a 90 % h.r.,  $\eta(t=\infty)$ , entre 0.32-0.34 g H<sub>2</sub>O per g m.s. Por otra parte, los films ultra delgados de las muestras C y CH presentan valores de  $\eta(t=\infty)$  similares a las películas, mientras que en el film HCH

este valor se incrementa en un 56% con respecto a la película HCH. Las cinéticas de hidratación y secado mostraron, tanto para las películas como para los films ultra delgados, la existencia de dos procesos para la captación de agua, uno lento y otro rápido. Los tiempos característicos de estos procesos son en minutos para los films ultra delgados y en días para las películas, lo que muestra que la dinámica de hidratación y secado es mucho más rápida en la superficie.

### **ISOTERMAS DE DESHIDRATACIÓN E HIDRATACIÓN**

Las muestras una vez constituidas fueron colocados y equilibrados en ambiente de 90% h.r. para luego ser equilibradas a las diferentes  $a_w$ , a los efectos de obtener los contenidos de agua correspondientes a las isothermas de deshidratación. Luego, todas las muestras son colocadas en ambiente con silica gel para obtener el peso seco, y posteriormente colocadas nuevamente en las diferentes  $a_w$  para la obtención de la isoterma de hidratación. La Figura 1, Panel B, muestra las isothermas obtenidas para las películas y los films ultra delgados. Puede verse que las isothermas de todas las películas presentan un incremento muy pequeño en la hidratación para bajas  $a_w$ , mientras que para  $a_w > 0.7$  la hidratación se incrementa fuertemente. Esta forma de la isoterma refleja una hidratación con características más hidrofóbicas que hidrofílicas, con una débil hidratación en forma de monocapa y una fuerte hidratación en forma de multicapa, con agua que no está ligada directamente a las macromoléculas. Por otra parte, las isothermas de los films ultra delgados muestran un comportamiento diferente a bajas  $a_w$ , donde se observa un mayor incremento de la hidratación, reflejando una hidratación mayor de la monocapa en comparación con las películas, y una no tan fuerte hidratación de la multicapa. Esto es corroborado con los parámetros obtenidos de los ajustes de las isothermas mostrados en la Tabla 2, donde se observa que los valores de  $N_{BET}$  y  $c_{BET}$ , representando los sitios de hidratación y la fuerza hidrofílica de la monocapa, respectivamente, son mayores para los films ultra delgados. La Tabla 2 muestra también que los valores de  $k_{GAB}$ , que representan la capacidad de hidratación de la multicapa, son mayores para las películas. Todas las isothermas revelan un débil fenómeno de histéresis.

### **EFFECTO DEL GLICEROL**

El efecto del plastificante fue estudiado en las películas CH y HCH, a las que se le adicionó un 30% de glicerol. La Figura 2, Panel A, muestra las cinéticas de des-

hidratación e hidratación, mientras que en el Panel B se muestra las isotermas de deshidratación e hidratación. La Tabla 1 muestra los valores de los parámetros de las cinéticas de hidratación a 90 % h.r., mientras que en la Tabla 2 se encuentran los parámetros obtenidos del ajuste de las isotermas. De los valores de  $\eta(t=\infty)$  mostrados en la Tabla 1, vemos que la adición de 30 % de Glicerol incrementa un 67 % la hidratación de la película CH a 90 % h.r., y un 62 % la de la película HCH. Las cinéticas de hidratación de ambas películas mostraron dos procesos para la captación de agua, uno rápido y otro lento, mientras que las cinéticas de secado solo evidenciaron la existencia de un proceso dominado por la presencia del glicerol. Las isotermas mostradas en la Figura 2, Panel B, reflejan características similares a la de las películas sin glicerol, es decir, una débil hidratación en forma de monocapa y una fuerte hidratación en forma de multicapa.

## 5. CONCLUSIONES

Las películas estudiadas mostraron una capacidad de hidratación a 90 % h.r. entre 0.32-0.34 g H<sub>2</sub>O per g m.s, que resulto ser independiente del orden y la secuencia de los tratamientos físicos aplicados. Las muestras C y CH presentaron una capacidad de hidratación similar en las películas y en los films ultra delgados, mientras que en la muestra HCH la hidratación en el film se incrementó en un 56 % respecto a la película. Estudios de la hidratación a 90 % h.r. realizados sobre las películas pulverizadas, de manera de aumentar la superficie expuesta, mostraron que para la muestra CH el valor medido fue similar al de la película integra; mientras que para HCH, la hidratación presentó un incremento del 40 %. Estos resultados evidencian efectos de superficie en la muestra HCH que se manifiestan en una adsorción importante. Las cinéticas de captación de agua mostraron la existencia de dos procesos, uno lento y otro rápido, que pueden ser asociados al complejo celular y al material extracelular, respectivamente. Estudios previos de microscopia electrónica revelaron que los tratamientos físicos aplicados a las dispersiones no logran dismantelar completamente los complejos celulares, el tratamiento térmico desnaturaliza biomoléculas, mientras que la alta presión fractura las paredes celulares sin romperlas (Delgado 2014). De esta manera, es razonable suponer que el material extracelular capta agua en forma más rápida que el complejo celular, donde el agua tendría más dificultad para acceder.

Las isothermas revelaron que las películas presentan una hidratación mayoritaria-mente en forma de multicapas, mostrando características de una hidratación más hidrofóbica que hidrofílica. La adición del glicerol solo aumenta la cantidad de agua sorbida sin modificar la forma de la isoterma. Por el contrario, las isothermas de los films ultra delgados mostraron una hidrofiliidad mayor que las películas, posiblemente debida a fenómenos de interfase que ocurren durante su constitución. En todas las muestras, la cantidad de agua sorbida a 90 % h.r. fue recuperada luego del secado en silica gel y rehidratación. Asimismo, la histéresis observada en las isothermas de deshidratación/hidratación fue pequeña. Esto refleja que el secado no produce cambios severos en las muestras.

Estos resultados muestran que el material tiene potencialidad para su empleo como recubrimiento de sistemas de interés en la industria alimentaria.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDERSON R.B. (1946) *J. Am. Chem. Soc.* 68 686-691.
- BRUNAUER S., Emmett H.P., Teller E. (1938) *J. Am. Chem. Soc.* 60 309-319.
- DEBOER J.H. (1968) *The Dynamical Character of Adsorption*, Clarendon Press Oxford, UK, 200-219.
- CHO S.Y., Rhee C. (2004) *LWT-Food Science and Technology* 37 833-839.
- DELGADO J.F. (2014) Trabajo Final de Carrera Ing. en Alimentos, Universidad Nacional de Quilmes.
- FALGUERA V., Quintero J.P., Jiménez A., Muñoz J., Ibartz A. (2011) *Trends Food Sci Tech* 22 292-303.
- GUGGENHEIM E.A. (1966) *Applications os Statistical Mechanics*, Claredon Press Oxford, UK, 186-206.
- JIMÉNEZ A., Fabra M.J., Talens P., Chiralt A. (2012) *Food and Bioprocess Technology* 5 2058-2076.
- KESTER J.J., Fennema O. R. (1985) *Journal of Food Science* 50 382-384.
- KOELSCH C. (1994) *Trends Food Science and Technology* 5 76-81.
- PILOSOFF A.M.R., Boquet R., Bartholomai G. B. (1985) *Journal of Food Science* 50(1) 278-279.
- SALVAY A.G., Colombo M.F., Grigera J.R. (2003) *Physical Chemistry & Chemical Physics* 5 192-197.

## 7. TABLAS Y FIGURAS

**TABLA 1.** Valores de los parámetros obtenidos por el ajuste bi-exponencial de las cinéticas de hidratación a 90 % h.r.

| Película            | $\eta (t=\infty)$<br>(g agua/g m.s.) | $t_1$ (días) | % Sorbente 1 | $t_2$ (días) | % Sorbente 2 |
|---------------------|--------------------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| C                   | 0,32 ± 0,06                          | 0,46 ± 0,10  | 41           | 2,8 ± 0,7    | 59           |
| CH                  | 0,33 ± 0,04                          | 0,18 ± 0,09  | 32           | 2,2 ± 0,5    | 68           |
| HCH                 | 0,34 ± 0,04                          | 0,12 ± 0,10  | 5            | 1,2 ± 0,1    | 95           |
| CH + 30 % Glicerol  | 0,55 ± 0,08                          | 0,66 ± 0,17  | 24           | 2,7 ± 0,3    | 76           |
| HCH + 30 % Glicerol | 0,59 ± 0,05                          | 0,27 ± 0,09  | 20           | 2,6 ± 0,3    | 80           |

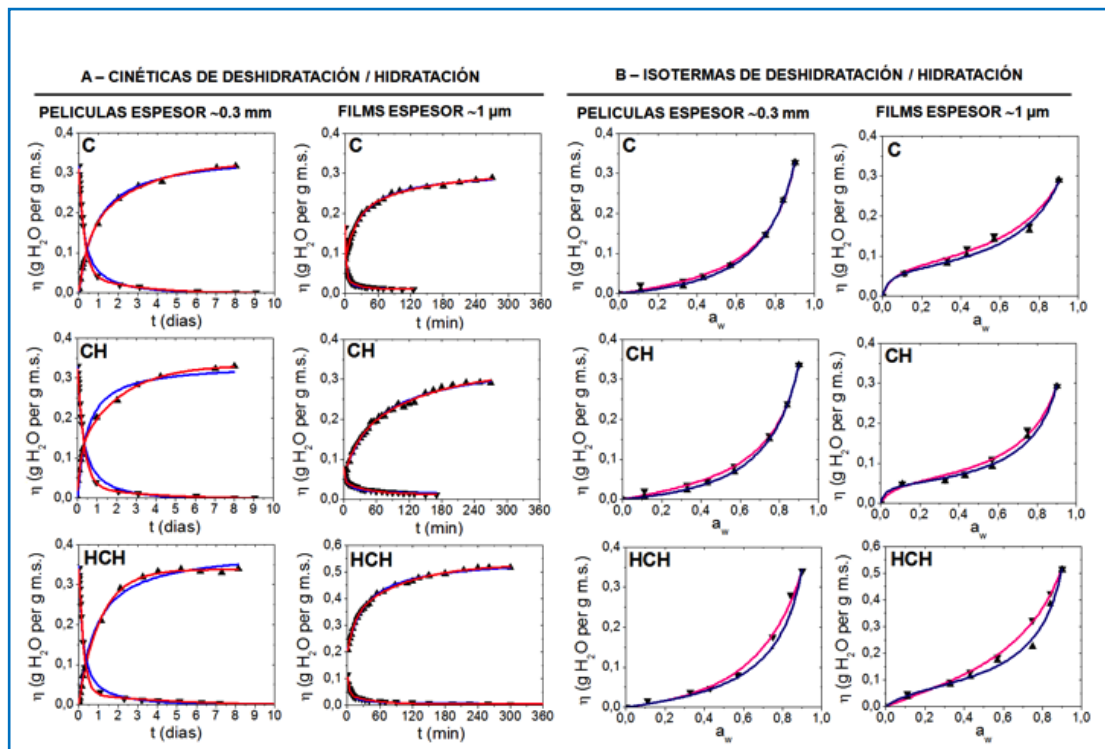
  

| Film ultra delgado | $\eta (t=\infty)$<br>(g agua/g m.s.) | $t_1$ (min) | % Sorbente 1 | $t_2$ (min) | % Sorbente 2 |
|--------------------|--------------------------------------|-------------|--------------|-------------|--------------|
| C                  | 0,30 ± 0,02                          | 20 ± 2      | 53           | 128 ± 40    | 47           |
| CH                 | 0,32 ± 0,05                          | 22 ± 8      | 30           | 132 ± 44    | 70           |
| HCH                | 0,53 ± 0,02                          | 13 ± 1      | 38           | 98 ± 9      | 62           |

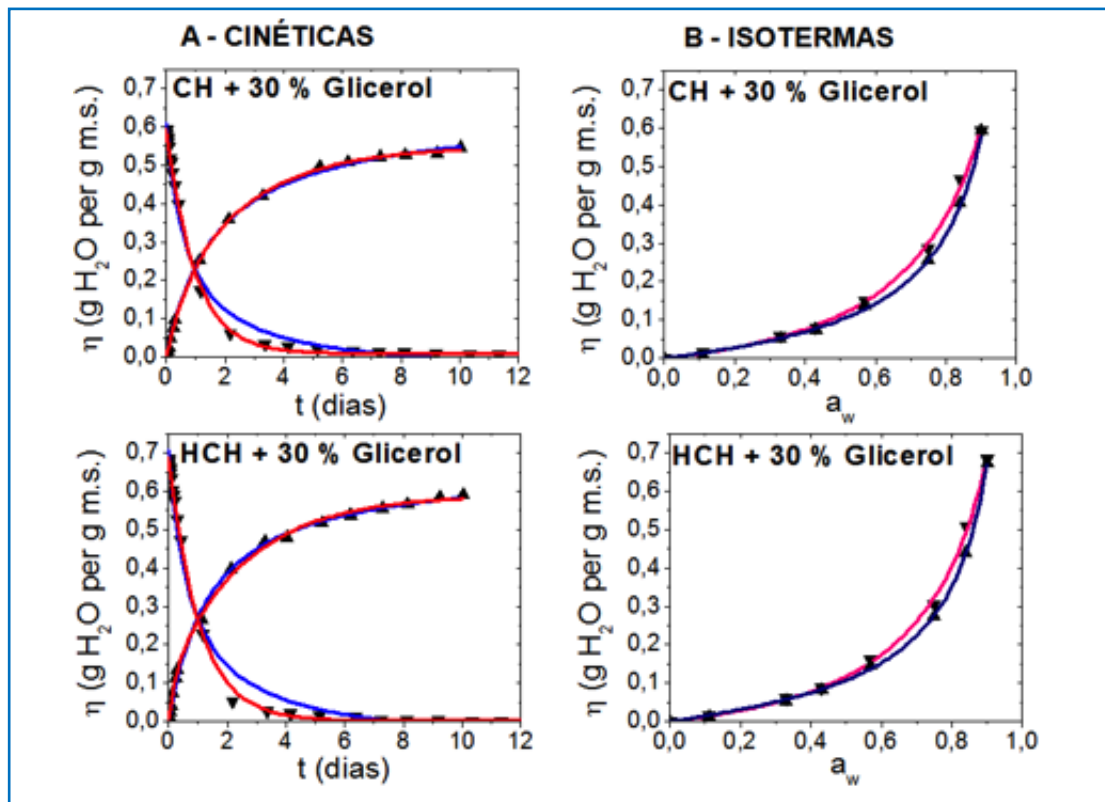
**TABLA 2.** Valores de los parámetros obtenidos por el ajuste de las isotermas de deshidratación/hidratación mediante la ecuación de GAB, con valores fijos de los parámetros N y c obtenidos mediante el análisis de BET

| Película            | Proceso        | $N_{BET}$<br>(g agua/g m.s.) | $c_{BET}$ | $k_{GAB}$  |
|---------------------|----------------|------------------------------|-----------|------------|
| C                   | deshidratación | 0,031 ± 0,007                | 7,9 ± 2,1 | 1,01 ± 0,1 |
|                     | hidratación    | 0,042 ± 0,022                | 1,3 ± 0,7 | 0,99 ± 0,1 |
| CH                  | deshidratación | 0,036 ± 0,009                | 6,2 ± 1,2 | 0,99 ± 0,1 |
|                     | hidratación    | 0,045 ± 0,011                | 1,3 ± 0,4 | 0,98 ± 0,1 |
| HCH                 | deshidratación | 0,038 ± 0,007                | 4,4 ± 1,5 | 0,99 ± 0,1 |
|                     | hidratación    | 0,036 ± 0,006                | 3,6 ± 1,0 | 1,00 ± 0,1 |
| CH + 30 % Glicerol  | deshidratación | 0,091 ± 0,015                | 1,5 ± 0,3 | 0,96 ± 0,1 |
|                     | hidratación    | 0,100 ± 0,028                | 1,0 ± 0,3 | 0,95 ± 0,1 |
| HCH + 30 % Glicerol | deshidratación | 0,105 ± 0,014                | 1,3 ± 0,2 | 0,96 ± 0,1 |
|                     | hidratación    | 0,107 ± 0,030                | 1,0 ± 0,3 | 0,96 ± 0,1 |

| Film ultra delgado | Proceso        | $N_{BET}$<br>(g agua/g m.s.) | $C_{BET}$      | $k_{GAB}$      |
|--------------------|----------------|------------------------------|----------------|----------------|
| C                  | deshidratación | $0,068 \pm 0,005$            | $25,3 \pm 4,7$ | $0,85 \pm 0,1$ |
|                    | hidratación    | $0,062 \pm 0,004$            | $23,1 \pm 3,7$ | $0,88 \pm 0,1$ |
| CH                 | deshidratación | $0,046 \pm 0,006$            | $31,6 \pm 8,2$ | $0,94 \pm 0,1$ |
|                    | hidratación    | $0,041 \pm 0,003$            | $20,2 \pm 4,7$ | $0,96 \pm 0,1$ |
| HCH                | deshidratación | $0,087 \pm 0,009$            | $6,8 \pm 1,9$  | $0,93 \pm 0,1$ |
|                    | hidratación    | $0,083 \pm 0,008$            | $4,9 \pm 0,9$  | $0,93 \pm 0,1$ |



**FIGURA 1.** Hidratación de las muestras C, CH, y HCH. Panel A: Cinéticas de deshidratación en silica gel e hidratación a 90 % h.r. ajustadas con el modelo bi-exponencial (—), y con el modelo de Pilosof y colaboradores (—). Panel B: Isothermas de deshidratación (—) e hidratación (—) ajustadas con el modelo de GAB combinado con BET



**FIGURA 2.** Hidratación de las muestras CH y HCH con 30 % de glicerol. Panel A: Cinéticas de deshidratación en silica gel e hidratación a 90 % h.r. ajustadas con el modelo bi-exponencial (—), y con el modelo de Pilosof y colaboradores (—). Panel B: Isothermas de deshidratación (—) e hidratación (—) ajustadas con el modelo de GAB combinado con BET

# PELÍCULAS COMESTIBLES ADICIONADAS CON EXTRACTO DE BROTES DE SOJA: INFLUENCIA SOBRE LAS PROPIEDADES MECÁNICAS

Ariel Germán Michaluk<sup>1</sup>, Ana María Romero<sup>1</sup>, María Alicia Judis<sup>1</sup>, Nora Bertola<sup>2</sup>

## 1. RESUMEN

En estudios previos fue reportada la mayor liberación de compuestos fenólicos de películas comestibles cuando fueron adicionadas con cantidades crecientes de extractos de brotes de soja (*Glycine max (L.) Merrill*). En el presente trabajo se estudió el efecto de la incorporación del extracto antioxidante liofilizado a la formulación de películas comestibles sobre el color, la humedad, la densidad y las propiedades mecánicas de las mismas. Las películas fueron elaboradas en base a proteína de suero de quesería concentrada (WPC) y plastificadas con glicerol (Gly) en concentraciones de 8,7 g proteína/100 g de solución formadora y 38 g Gly/100 g proteína respectivamente, mientras que el extracto liofilizado de brotes de soja (ELBS) fue adicionado en tres niveles (0=0, 1=26 y 2=76 mg ELBS/g película seca). Las películas fueron preparadas por moldeo y secado, luego fueron desmoldadas y acondicionadas por 48 h a 25 °C y 56 % de humedad relativa antes de los ensayos. Los parámetros de color superficial en el sistema CIELab fueron medidos en un espectrocolorímetro. La humedad fue determinada en estufa a 105 °C hasta peso constante y la densidad fue hallada como la relación entre el peso seco y el volumen de la película. Las propiedades mecánicas fueron analizadas con un texturómetro Brookfield CT3. Los resultados obtenidos indicaron que la humedad y la densidad de las películas no se vieron afectados significativamente ( $p < 0,05$ ) por la adición de

---

CONTACTO: Ariel Germán Michaluk [arielmichaluk@uncaus.edu.ar](mailto:arielmichaluk@uncaus.edu.ar)

1. Universidad Nacional del Chaco Austral, Cmte. Fernández 755, Pres. Roque Sáenz Peña, Chaco, Argentina. (054)-0364-4420137-int 114.

2. Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecología de Alimentos (CIDCA)-CONICET, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, Argentina.



ELBS. En cambio, la luminosidad ( $L$ ) y el parámetro  $b^*$  se vieron afectados significativamente ( $p < 0,05$ ) por el nivel mayor de ELBS incorporado, provocando una disminución en  $L$  y un aumento en  $b^*$ , mientras que  $a^*$  no fue afectado significativamente por ninguna de las cantidades de extracto. La elongación a la rotura (%E) no presentó diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) ( $0 = 26,7 \pm 1,6$ ;  $1 = 22,6 \pm 0,0$  y  $2 = 18,4 \pm 3,4$ ; [%]) con el incremento de la concentración de ELBS adicionado, mientras que el módulo elástico y el esfuerzo a la rotura ( $0 = 6,6 \pm 0,5$ ;  $1 = 6,3 \pm 0,3$  y  $2 = 4,8 \pm 0,1$ ; [MPa.%]), y ( $0 = 27,3 \pm 0,0$ ;  $1 = 27,4 \pm 1,0$  y  $2 = 20,8 \pm 0,2$  [MPa], respectivamente), no presentaron diferencias significativas entre el primer nivel de ELBS y la película sin ELBS. Por lo tanto, el ELBS puede ser adicionado como antioxidante hasta una determinada concentración, ya que no produce modificaciones en la apariencia y propiedades mecánicas de películas comestibles en base a WPC.

## 2. INTRODUCCIÓN

La gran demanda de los consumidores por alimentos seguros e inocuos impulsa el desarrollo de empaques comestibles que incorporan en su matriz biopolimérica compuestos activos de origen natural para reducir la utilización de materiales sintéticos en los envases. Los materiales biopoliméricos usados para formar las películas comestibles y/o biodegradables son polisacáridos, proteínas y lípidos. Las películas elaboradas con proteínas tienen propiedades muy interesantes: las propiedades de barrera y mecánicas son generalmente mejores que aquéllas presentadas por las elaboradas con polisacáridos (Vieira, da Silva, dos Santos, & Beppu, 2011). Las proteínas del suero de leche se obtienen como un subproducto de la elaboración de quesos. Estas poseen excelentes propiedades funcionales (emulsificantes, gelificantes, etc.) y por lo tanto son muy utilizadas en la industria como ayudantes tecnológicos en la elaboración de alimentos. Además de estas cualidades, poseen la habilidad de formar películas. La formación de películas de proteína de suero de quesería implica principalmente la desnaturalización térmica de las proteínas del suero en solución acuosa. El calentamiento modifica la estructura tridimensional de la proteína, exponiendo los enlaces SH internos y los grupos hidrofóbicos, los cuales promueven los enlaces intermoleculares S-S y las interacciones hidrofóbicas durante el secado (Pérez-Gago & Krochta, 2002). Generalmente, las películas necesitan de un material plastificante para disminuir su rigidez y, por lo tanto, hacerlas

más flexibles. Si bien el agua actúa como plastificante natural de las películas, existen muchos tipos de compuestos que se adicionan a la formulación para que actúen como plastificantes, dentro de los cuales el glicerol es el más comúnmente utilizado. Además de los plastificantes, compuestos activos pueden ser incorporados al material de empaque para proveer varias funciones que no existen en los sistemas de empaque convencionales (Siripatrawan & Harte, 2010). Los extractos vegetales constituyen una fuente renovable de compuestos activos. Más aún, los extractos provenientes de brotes de semillas incrementan su contenido en compuestos fenólicos por medio de la germinación de las semillas (Kim, Jeong, Gorinstein, & Chon, 2012, Alvarez-Jubete, Wijngaard, Arendt, & Gallagher, 2010). Los brotes de semillas soja son una fuente natural de compuestos fenólicos principalmente del grupo de las isoflavonas, las cuales poseen propiedades biológicas (prevenir ciertos tipos de cáncer, reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares, mejorar la salud ósea, etc.) y antioxidantes (capacidad quelante de metales, capturadora de radicales libres, etc.). Según el estudio realizado por Lee *et al.* (2007) encontramos que el mayor contenido de isoflavonas en los brotes de soja lo constituye el extracto obtenido de la porción del brote que incluye al hipocotiledón y a la raíz.

La adición de extractos vegetales con características antioxidantes a las películas incrementa la actividad antioxidante de las mismas. Así, al incorporar extracto de té a formulaciones de películas de quitosano se incrementó la actividad antioxidante de las películas con el incremento del contenido de extracto, pero las propiedades mecánicas de las mismas se vieron afectadas (Peng, Wu, & Li, 2013, Giménez, López de Lacey, Pérez-Santín, López-Caballero, & Montero, 2013, Siripatrawan & Harte, 2010). Las propiedades de tracción de las películas son indicadores de las interacciones proteína-proteína en las matrices de las películas de proteínas de suero de quesería (Joo-yandeh, 2011). Los compuestos fenólicos pueden interactuar con las proteínas de manera reversible o irreversible. Las interacciones reversibles involucran fuerzas no covalentes tales como puentes de hidrógeno, enlaces hidrofóbicos y fuerzas de Van der Waals, mientras que en las interacciones irreversibles los enlaces formados son covalentes entre los compuestos fenólicos y las proteínas. Estas interacciones afectan la estructura de las proteínas, el contenido de fenoles libres, la capacidad antioxidante y la biodisponibilidad de los compuestos fenólicos (Ozdal, Capanoglu, & Altay, 2013). Por otro lado, según el tipo de compuesto fenólico que interactúa con la proteína, las propiedades de las películas se ven afectadas en mayor o menor grado (Arcan &

Yemenicioğlu, 2011). En estudios previos fue reportada la mayor liberación de compuestos fenólicos de películas comestibles cuando fueron adicionadas con cantidades crecientes de extractos de brotes de soja (*Glycine max (L.) Merril*) (Michaluk *et al.*, 2014). En el presente trabajo se estudió el efecto de la incorporación del extracto antioxidante liofilizado a la formulación de películas comestibles sobre el color, la humedad, la densidad y las propiedades mecánicas de las mismas.

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **MATERIALES**

Se utilizó proteína de suero de quesería en polvo (Lacprodan80®, Arla Foods Ingredients, Córdoba, Argentina). Glicerol anhidro (Cicarelli, Santa Fe, Argentina) y semillas de soja (*Glycine max L.*, Merr., MUNASQA®, Tucumán, Argentina).

#### **PREPARACIÓN DEL EXTRACTO LIOFILIZADO**

Para la obtención de los brotes de soja se utilizaron semillas seleccionadas que fueron lavadas y sometidas a un remojo previo por el término de 12 h. Una vez escurridas fueron colocadas sobre papel húmedo en la oscuridad y a 30 °C de temperatura, hasta que los brotes alcanzaron una longitud de aproximadamente 20 a 50 mm. Luego fueron separados de la semilla y deshidratados en estufa a 30 °C durante 24 h. La obtención del extracto se llevó a cabo utilizando los brotes deshidratados, los que fueron sometidos a una reducción de tamaño por medio de un molinillo, seguido de la ayuda de un mortero de laboratorio, hasta lograr que las partículas del vegetal adquieran un tamaño menor o igual a 0,840 mm, utilizándose para esta clasificación, la malla N° 20 del tamiz de ensayo ZONYTEST. Una extracción hidroalcohólica fue realizada para lo cual se utilizó una mezcla de etanol absoluto y agua calidad MilliQ en una proporción 70:30 (v:v). Entonces, 1g de brotes de soja deshidratados y particulados fue pesado en un erlenmeyer de 50mL, seguidamente fue adicionado 20mL de la mezcla de extracción y el sistema fue colocado en un agitador orbital. La extracción fue llevada a cabo por un tiempo de 12 h a 25 °C y con una velocidad de agitación de 50rpm. Transcurrido el tiempo de extracción, el etanol fue eliminado del sistema por medio de destilación al vacío y el resto acuoso fue sometido a liofilización (Marca RIFICOR, Modelo L-I-E300-CRT) para obtener un extracto liofilizado (EL) con una humedad del 5 al 7 % (g agua/100 g EL).

## PREPARACIÓN DE LAS PELÍCULAS ACTIVAS

Las películas de proteína de suero de quesería (WPC) fueron preparadas usando el método propuesto por Perez-Gago y Krochta (2001) con pequeñas modificaciones. Las concentraciones utilizadas de proteína y glicerol fueron de 8,7g/100g solución formadora de película (SFP) y 38g/100g proteína, respectivamente. Dichas concentraciones fueron seleccionadas por medio de ensayos previos. Las soluciones formadoras de películas (SFP) fueron preparadas por suspensión lenta de la WPC en agua destilada con agitación continua durante 2 h. Las SFP fueron sometidas a vacío para remover burbujas de aire y luego se ajustó el pH a 7 por medio de NaOH 1 N. A continuación, las proteínas fueron desnaturalizadas por calentamiento en baño de agua a 80 °C por 30 min. El glicerol se adicionó como plastificante a las SFP a temperatura ambiente. En este momento el extracto liofilizado de brotes de soja fue adicionado en tres niveles (0=0, 1=26 y 2=76 mg ELBS/película seca). Las SFP adicionadas con ELBS fueron sometidas a vacío por 30 min y las películas fueron formadas colocando 8 g de SFP en placas de Petri (90 mm de diámetro interno) y secándolas en una cámara a 23 °C y 50% de humedad relativa (HR) por 18 h. Transcurrido el tiempo de secado, las películas formadas fueron separadas de las placas y colocadas en una cámara a una HR del 53% a 25 °C por un período de 48 h antes de someterlas a ensayo.

## CARACTERIZACIÓN DE LAS PELÍCULAS ACTIVAS

### *Humedad y Densidad*

El contenido de humedad de las películas fue determinado gravimétricamente según lo indica la norma ASTM D644-99 (2002) utilizando una estufa a 105±3 °C. La determinación del contenido de humedad fue realizada por triplicado y el promedio de estos valores fue informado. El contenido de humedad fue calculado usando la Ec. 1:

$$MC(\%) = \left( \frac{M_1 - M_0}{M_1} \right) \times 100 \quad \text{Ec. 1}$$

Donde  $M_1$  es el peso inicial de la película ensayada y  $M_0$  es el peso final de la misma.

La densidad de las películas ( $\rho^s$ ) fue calculada directamente a partir del peso de la película y sus dimensiones (Ramos *et al.*, 2013), aplicando la Ec. 2:

$$\rho^s = \frac{m}{A \times \delta} \quad \text{Ec. 2}$$

Donde  $A$  es el área de la película ( $\text{cm}^2$ ),  $\delta$  es el espesor de la película ( $\text{cm}$ ),  $m$  la masa seca de la película ( $\text{g}$ ) y  $\rho^s$  la densidad de la materia seca de la película ( $\text{g}/\text{cm}^3$ ). La densidad de la película fue expresada como el promedio de tres determinaciones.

### *Color*

El color de las películas fue evaluado usando un espectrocolorímetro EVOLUTION 600 UV-VIS con esfera integradora LABSPHERE (Thermo Fisher scientific, Madison, USA). Una escala de color CIELab fue empleada para medir el grado de luminosidad ( $L$ ), grado de rojo ( $+a$ ) o grado de verde ( $-a$ ), y grado de amarillo ( $+b$ ) o grado de azul ( $-b$ ) de las películas, bajo iluminante  $D_{65}$  y  $10^\circ$  de observador patrón. Se utilizó un fondo blanco estándar. Para cada muestra fueron tomadas lecturas en tres puntos diferentes de la superficie de cada película.

### *Propiedades Mecánicas*

Las propiedades mecánicas fueron medidas usando un texturómetro Brookfield CT3 (USA) de acuerdo al método dado por la norma ASTM D882-02 (2002) con algunas modificaciones. Las películas fueron cortadas en tiras rectangulares de 25,4 mm de ancho y 80,0 mm de largo utilizando un bisturí. Las tiras fueron montadas en las mordazas del texturómetro dejando una separación entre mordazas de 50 mm con una velocidad del cabezal de  $4,8 \text{ mm} \cdot \text{min}^{-1}$ . La fuerza y la distancia fue registrada durante la extensión de las mordazas y, el esfuerzo a la rotura, el porcentaje de elongación a la rotura y el modulo elástico fueron calculados como indica la norma ASTM D882-02 (2002). Al menos cinco muestras de cada tipo de película fueron analizadas.

### **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

El análisis estadístico fue realizado usando el programa Infostat® (Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina). Los resultados fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA). Diferencias entre pares de muestras fueron determinadas por medio del ensayo de Tukey ( $p < 0,05$ ).

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### HUMEDAD Y DENSIDAD

El contenido de humedad se relaciona con la cantidad de moléculas de agua que ocupan el volumen vacío de la microestructura de la red de la película (Li *et al.*, 2011). Los valores de humedad y densidad de las películas se muestran en la Tabla 1. El contenido de humedad de la película sin adición de ELBS fue de  $16,8 \pm 1,5$  %. Este valor se corresponde con el encontrado por Osés, Fernández-Pan, Mendoza, & Maté (2009) quienes estudiaron los contenidos de humedad de películas de proteína de suero de quesería aislada plastificadas con glicerol. Este valor no fue afectado significativamente ( $p < 0,05$ ) por la incorporación de ELBS a la formulación. La presencia de cantidades crecientes de extracto liofilizado en las películas de proteína de suero de quesería no afectó significativamente ( $p < 0,05$ ) la densidad de las mismas, encontrándose un valor de  $0,97 \pm 0,03$  g.cm<sup>-3</sup> para la película sin adición de ELBS.

### COLOR

Los atributos de color tienen importancia debido a que influyen directamente la atracción y aceptabilidad del producto por parte de los consumidores (Gounga, Xu, & Wang, 2007). Los efectos de la concentración de ELBS sobre el color de la película son mostrados en la Tabla 1. Respecto del color superficial, la luminosidad (L) y el parámetro b\* se vieron afectados significativamente ( $p < 0,05$ ) por el nivel mayor de ELBS incorporado, provocando una disminución en L y un aumento en b\* (grado de amarillo), mientras que -a\* (grado de verde) no fue afectado significativamente por ninguna de las cantidades de extracto.

### PROPIEDADES MECÁNICAS DE LAS PELÍCULAS

Las propiedades de las películas y los recubrimientos dependen de las interacciones entre los aditivos y la matriz, y son fuertemente afectadas por las condiciones físicas, químicas y de temperatura, las cuales influyen la estabilidad y flexibilidad de las películas (García, Pinotti, Martino, & Zaritzky, 2009). Los efectos de la concentración de ELBS sobre las propiedades mecánicas son mostrados en la Tabla 2. La elongación a la rotura (%E) no presentó diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) con el incremento de la concentración de ELBS, mientras que el esfuerzo a la rotura y el módulo elástico no presentaron diferencias significativas entre el primer nivel

de ELBS y la película sin ELBS. El detrimento de las propiedades mecánicas de las películas al alcanzar un determinado nivel de adición (76 mg ELBS/película seca) se podría deber a la presencia de compuestos fenólicos del tipo flavonoides, los cuales estarían presentes en las porciones de brotes de soja utilizados para la extracción (hipocotiledón y raíz), lo cual concuerda con el trabajo de (Lee *et al.*, 2007). Arcan & Yemenicioğlu (2011) obtuvieron resultados similares al estudiar el efecto individual del ácido gálico (GA), ácido p-hidroxibenzoico (HBA), ácido ferúlico (FA), catequina (CAT), flavona (FLA) y quercetina (QU) sobre las propiedades mecánicas de películas elaboradas con zeína donde encontraron que GA, HBA, FA y CAT mejoraban las propiedades mecánicas, pero los flavonoides estudiados no ejercieron este efecto (FLA y QU). No obstante, la adición de ELBS hasta 26 mg ELBS/película seca no produce modificaciones en las propiedades mecánicas de las películas elaboradas.

## 5. CONCLUSIONES

El extracto liofilizado de brotes de soja puede ser adicionado como fuente de compuestos activos de origen natural a las películas hasta una concentración de 26 mg ELBS/película seca, ya que no produce modificaciones en el contenido de humedad, densidad, color y propiedades mecánicas de películas comestibles en base a proteína de suero de quesería (WPC).

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVAREZ-JUBETE, L., Wijngaard, H., Arendt, E. K., & Gallagher, E. (2010). Polyphenol composition and in vitro antioxidant activity of amaranth, quinoa buckwheat and wheat as affected by sprouting and baking. *Food Chemistry*, 119(2), 770–778.
- ARCAN, I., & Yemenicioğlu, A. (2011). Incorporating phenolic compounds opens a new perspective to use zein films as flexible bioactive packaging materials. *Food Research International*, 44(2), 550–556.
- ASTM D644-99. (2002). Standard Test Method for Moisture Content of Paper and Paperboard by Oven Drying. In *ASTM* (Vol. 99, pp. 1–3).
- ASTM D882-02. (2002). Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting. In *ASTM* (Vol. 14, pp. 1–10).

- GARCÍA M., Pinotti, A., Martino, M. N., & Zaritzky, N. E. (2009). Characterization of Starch and Composite Edible Films and Coatings. In *Edible Films and Coatings for Food Applications* (pp. 169–209).
- GIMÉNEZ, B., López de Lacey, A., Pérez-Santín, E., López-Caballero, M. E., & Montero, P. (2013). Release of active compounds from agar and agar–gelatin films with green tea extract. *Food Hydrocolloids*, 30(1), 264–271.
- GOUNGA, M. E., Xu, S.-Y., & Wang, Z. (2007). Whey protein isolate-based edible films as affected by protein concentration, glycerol ratio and pullulan addition in film formation. *Journal of Food Engineering*, 83(4), 521–530.
- JOOYANDEH, H. (2011). Whey Protein Films and Coatings: A Review. *Pakistan Journal of Nutrition*, 10(3), 296–301.
- KIM, D.-K., Jeong, S. C., Gorinstein, S., & Chon, S.-U. (2012). Total polyphenols, antioxidant and antiproliferative activities of different extracts in mungbean seeds and sprouts. *Plant Foods for Human Nutrition (Dordrecht, Netherlands)*, 67(1), 71–5.
- LEE, S.-J., Ahn, J.-K., Khanh, T.-D., Chun, S.-C., Kim, S.-L., Ro, H.-M., ... Chung, I.-M. (2007). Comparison of isoflavone concentrations in soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) sprouts grown under two different light conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(23), 9415–21.
- LI, Y., Jiang, Y., Liu, F., Ren, F., Zhao, G., & Leng, X. (2011). Fabrication and characterization of TiO<sub>2</sub>/whey protein isolate nanocomposite film. *Food Hydrocolloids*, 25(5), 1098–1104.
- MICHALUK, A. G., Romero, A. M., Judis, M. A., Bertola, N. C. (2014). Liberación de antioxidantes naturales desde películas de proteína de suero de quesería. XVIII Seminario Internacional y V Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Libro de Actas (pp. 170-171).
- OSÉS, J., Fernández-Pan, I., Mendoza, M., & Maté, J. I. (2009). Stability of the mechanical properties of edible films based on whey protein isolate during storage at different relative humidity. *Food Hydrocolloids*, 23(1), 125–131.
- OZDAL, T., Capanoglu, E., & Altay, F. (2013). A review on protein–phenolic interactions and associated changes. *Food Research International*, 51(2), 954–970.
- PENG, Y., Wu, Y., & Li, Y. (2013). Development of tea extracts and chitosan composite films for active packaging materials. *International Journal of Biological Macromolecules*, 59, 282–9.
- PÉREZ-GAGO, M. B., & Krochta, J. M. (2002). Formation and Properties of Whey Protein Films and Coatings. In A. Gennadios (Ed.), *Protein-based Films and Coatings* (pp. 159–180). Boca Raton FL, USA: CRC PRESS.



- PEREZ-GAGO, M., & Krochta, J. (2001). Denaturation time and temperature effects on solubility, tensile properties, and oxygen permeability of whey protein edible films. *Journal of Food Science*, 66(5), 705–710.
- RAMOS, Ó. L., Reinas, I., Silva, S. I., Fernandes, J. C., Cerqueira, M. a., Pereira, R. N., ... Malcata, F. X. (2013). Effect of whey protein purity and glycerol content upon physical properties of edible films manufactured therefrom. *Food Hydrocolloids*, 30(1), 110–122.
- SIRIPATRAWAN, U., & Harte, B. R. (2010). Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract. *Food Hydrocolloids*, 24(8), 770–775.
- VIEIRA, M. G. A., da Silva, M. A., dos Santos, L. O., & Beppu, M. M. (2011). Natural-based plasticizers and biopolymer films: A review. *European Polymer Journal*, 47(3), 254–263.

## 7. TABLAS Y FIGURAS

**TABLA 1.** Contenido de humedad, densidad y color de películas elaboradas sin y con adición de extracto liofilizado de brotes de soja

| Muestras       | Contenido de Humedad [g agua/100 g película] | Densidad [g.cm <sup>-3</sup> ] | L*                        | a*                      | b*                        |
|----------------|--|--------------------------------|---------------------------|-------------------------|---------------------------|
| M <sub>0</sub> | 16,8±1,5 <sup>a</sup>                        | 0,97±0,03 <sup>a</sup>         | 88,75±0,49 <sup>b</sup>   | -0,65±0,21 <sup>a</sup> | 16,45±1,70 <sup>a</sup>   |
| M <sub>1</sub> | 16,8±0,9 <sup>a</sup>                        | 0,92±0,02 <sup>a</sup>         | 87,80±0,14 <sup>a,b</sup> | -0,75±0,07 <sup>a</sup> | 19,35±0,92 <sup>a,b</sup> |
| M <sub>2</sub> | 16,8±1,2 <sup>a</sup>                        | 0,96±0,04 <sup>a</sup>         | 86,95±0,21 <sup>a</sup>   | -0,85±0,07 <sup>a</sup> | 22,20±0,28 <sup>b</sup>   |

M<sub>i</sub> son las muestras de películas analizadas, donde el subíndice *i* indica el nivel de adición de ELBS.

\* Los valores promedios que posean igual letra (a, b, c, etc.) no son significativamente diferentes con  $p < 0,05$ .

**TABLA 2.** Propiedades mecánicas de películas adicionadas con extracto liofilizado de brotes de soja

| Muestras       | Esfuerzo a la rotura [MPa] | Elongación a la rotura [%] | Modulo elástico [MPa] |
|----------------|----------------------------|----------------------------|-----------------------|
| M <sub>0</sub> | 27,3±0,1 <sup>b</sup>      | 26,7±1,6 <sup>a</sup>      | 6,6±0,5 <sup>b</sup>  |
| M <sub>1</sub> | 27,4±1,0 <sup>b</sup>      | 22,6±0,1 <sup>a</sup>      | 6,3±0,3 <sup>b</sup>  |
| M <sub>2</sub> | 20,8±0,2 <sup>a</sup>      | 18,4±3,4 <sup>a</sup>      | 4,8±0,1 <sup>a</sup>  |

M<sub>i</sub> son las muestras de películas analizadas, donde el subíndice *i* indica el nivel de adición de ELBS.

Los valores promedios que posean igual letra (a, b, c, etc.) no son significativamente diferentes con  $p < 0,05$ .

# LOMITOS DE CABALLA PRESERVADOS MEDIANTE TECNOLOGÍA DE OBSTÁCULOS

Gerardo Checmarev<sup>1,2</sup>, María Isabel Yeannes<sup>1,2</sup>, Alicia Bevilacqua<sup>1,3</sup>, María Rosa Casales<sup>1,2</sup>

## 1. RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue diseñar una conserva de caballa de humedad intermedia mediante combinación de barreras de estrés microbiano. Las barreras utilizadas fueron: disminución de la carga bacteriana e inactivación enzimática por cocción al vapor disminución de la actividad de agua, envasado al vacío en películas impermeables al O<sub>2</sub>, tratamiento térmico moderado y almacenamiento en refrigeración. Los troncos de caballa se cocinaron al vapor durante 20 minutos, se dejaron orear en refrigeración y se eliminó la piel, espinas y músculo rojo. Los lomitos se deshidrataron osmóticamente en una solución de glicerol y sal ( $a_w=0,64$ ) durante 19 hs en refrigeración, se envasaron al vacío en bolsas termosellables de polietileno de baja densidad y poliamida y se pasteurizaron a 60 °C durante 50 minutos (con *Staphylococcus aureus* como microorganismo de control). Luego de la pasteurización se enfriaron y se almacenaron en refrigeración (5 °C). La conserva tuvo una  $a_w$  de 0,89, un pH de 5,5 y un contenido de agua de 49,70 %. Los lomitos se analizaron el día de su preparación, semanalmente durante el primer mes y mensualmente durante 11 meses. Se realizaron análisis fisicoquímicos ( $a_w$  y contenido de agua), análisis microbiológicos (recuento total de microorganismos psicrótrofos, mesófilos, clostridios sulfito reductores y *Staphylococcus spp*) y análisis sensoriales (color y aroma rancio). No se detectó creci-

---

CONTACTO: Gerardo Checmarev [checmag@fi.mdp.edu.ar](mailto:checmag@fi.mdp.edu.ar)

1. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Buenos Aires, Argentina

2. Universidad Nacional de Mar del Plata (UNMDP), Facultad de Ingeniería, Grupo de Investigación en Preservación y Calidad de Alimentos. Mar del Plata, Argentina

3. Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecología de Alimentos (CIDCA), Universidad Nacional de La Plata (UNLP). Buenos Aires, Argentina.

miento microbiano y los parámetros sensoriales y fisicoquímicos se mantuvieron sin variación durante todo el tiempo de almacenamiento. Se diseñó satisfactoriamente una conserva de caballa mediante el uso de la tecnología de obstáculos.

## **2. INTRODUCCIÓN**

Los productos de la pesca son altamente perecederos en comparación con otros productos de origen animal. Por este motivo, se han desarrollado a lo largo de la historia métodos de preservación que permiten extender la vida útil. La preservación de alimentos implica exponer los microorganismos a un ambiente hostil a fin de inhibir su crecimiento, acortar su supervivencia o causar su muerte. La estabilidad y seguridad microbiana de la mayoría de los alimentos se basa en la combinación de varios factores u obstáculos (temperatura, actividad de agua, pH, potencial redox, etc.) que no deberían ser vencidos por los microorganismos, surge entonces el concepto de preservación de alimentos multitarget (Leistner y Rodel, 1976, Leistner, 1994, 2000). Una combinación inteligente de estas barreras asegura la estabilidad y seguridad microbiana, así como propiedades nutritivas satisfactorias (Leistner 2000).

La deshidratación osmótica ha sido utilizada en distintos productos de la pesca como sardina Corzo y Bracho, 2007), anchoa (Czerner y Yeannes, 2010), calamar (Uribe y col., 2011), bagre (Oladele y Odedeji, 2008) y se han utilizado distintos agentes depresores de la  $a_w$  como sal, azúcares, glicerol y sorbitol (Sanchez Pascua y col., 1994, 2001, Casales y Yeannes, 2006, Musjaffar y Sankat, 2006, Larrazabal-Fuentes y col. 2009).

El objetivo de este trabajo fue diseñar una conserva de caballa de humedad intermedia mediante combinación de barreras de estrés microbiano.

## **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **MATERIA PRIMA**

Se utilizó caballa (*Scomber japonicus*) capturada entre los meses de septiembre y noviembre en las costas de la provincia de Buenos Aires. Luego de su arribo al puerto de la ciudad de Mar del Plata, la materia prima fue transportada en cajones con hielo para su posterior lavado, envasado y congelado en la planta procesadora MIA

S.A. La etapa de congelado se realizó en un túnel de congelación a  $-38 \pm 4$  °C y se almacenó en freezer a  $-18 \pm 2$  °C hasta su utilización.

Se utilizaron 40 piezas de  $40 \pm 2$  cm de largo con un peso de  $0,59 \pm 0,03$  kg.

#### **PROCESO DE ELABORACIÓN DE LOMITOS DE CABALLA DE HUMEDAD INTERMEDIA**

Las caballas fueron descongeladas en refrigeración ( $5 \pm 1$  °C) durante 48hs. Luego se separó la cabeza, vísceras y cola del “tronco” del pescado. Los troncos fueron lavados y cocidos al vapor durante 20 minutos a 100 °C. Una vez cocidos, se dejaron enfriar por 20 minutos a temperatura ambiente y luego fueron mantenidos en refrigeración ( $5 \pm 1$  °C) durante 2 horas. La separación de los lomos se realizó de forma manual, se retiró la piel, la columna vertebral, el músculo oscuro y las espinas obteniendo el músculo blanco al que se denominó “lomo”. Los lomos fueron deshidratados osmóticamente durante 19hs a 5 °C. La composición de la solución ( $a_w$ : 0,64) fue la siguiente: agua 54,5 %, glicerol 40 %, sal 5 % y ácido cítrico 0,5 %. La proporción pescado: solución fue de 1:2. Una vez deshidratados, los lomos se sacaron de la solución y se escurrieron sobre bandejas. Los lomos deshidratados y escurridos se colocaron en bolsas termosellables de polietileno de baja densidad (PEBD) y poliamida (PA) de 75 micrómetros de espesor (Cryovac®) y se procedió al envasado al vacío utilizando una envasadora Rapi Vac modelo DZ 400 (Servivac, Argentina). Luego del envasado al vacío se pasteurizaron en agua a  $60 \pm 1$  °C durante 50 minutos (Checmarev y col., 2011) mediante el uso de un baño termostático modelo Masson D (Vicking, Argentina), se dejaron enfriar a temperatura ambiente durante 20 minutos y se almacenaron en refrigeración ( $5 \pm 1$  °C).

#### **ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS**

El contenido de agua se determinó a  $105 \pm 1$  °C hasta peso constante (AOAC, Sec. 984.25, 1990) utilizando un horno de secado modelo 644 (Marne, Córdoba, Argentina). Los lípidos totales se determinaron por hidrólisis ácida (AOAC, 1990. Sec. 922.06). El contenido total de proteínas se determinó utilizando el método de Kjeldahl (AOAC, 1990. Sec. 920.152). Las cenizas fueron determinadas por calcinación a 550 °C como lo describe la técnica de la AOAC, Sec. 945.46 (1990) utilizando un horno eléctrico modelo 332 (Indef, Córdoba, Argentina). El pH se midió utilizando una relación pescado:agua destilada de 1:1 (AOAC, 1993, Sec. 981.12) con pH-metro digital marca INSTRU modelo IN07601. La  $a_w$  fue determinada

mediante higrómetro Aqualab, modelo CX-2T (Decagon, Pulman, WA, USA). Todos los análisis se determinaron por triplicado.

#### **ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS**

Se cuantificaron bacterias psicrótrofas mediante recuento en placa, utilizando Agar para Recuento en Placa, por siembra en profundidad. Se incubó a  $25 \pm 0,5$  °C durante 96 hs (ICMSF, 1983).

Se cuantificaron bacterias aerobias mesófilas por recuento en placa, por siembra en profundidad de Agar para Recuento en Placa, incubando a  $35 \pm 0,5$  °C durante 48 horas (ICMSF, 1983).

Se cuantificaron bacterias *Staphylococcus* spp. por siembra en superficie en Agar Baird Parker incubando a  $35 \pm 0,5$  °C durante 48 horas (ICMSF, 1983).

Se investigó la presencia de clostridios sulfito reductores. Se sembró en Agar Sulfito Polimixina-Sulfadiazina (SPS) en placa. El medio SPS es selectivo para sulfito-reductores. Se incubó en jarras de anaerobiosis a  $35 \pm 0,5$  °C y  $46 \pm 0,5$  °C durante 48 horas.

#### **ANÁLISIS SENSORIAL**

Se trabajó con 10 evaluadores entrenados en productos de la pesca. Se evaluaron los cambios del color y la intensidad de aroma rancio utilizando escalas estructuradas de 0 a 10 puntos. El valor 0 de la escala de color fue determinado por el “color característico de la conserva (gris claro-crema)” y el punto 10 por el “color amarillo-rojizo intenso”. A su vez, el punto 0 de la escala de aroma rancio se refirió a “aroma característico de la conserva” y el valor 10 a “aroma intenso de caballa enranciada”.

#### **4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

La composición proximal de los lomitos crudos sin procesar expresada en g/100g fue la siguiente: 71,66 % de agua, 5,50 % de lípidos, 21,48 % de proteínas y 1,36 % de cenizas.

Al finalizar el proceso, la conserva tuvo una  $a_w$  de 0,89, un pH de 5,5 y un contenido de agua de 49,70 %.

El diagrama de flujo del proceso de elaboración de la conserva se muestra en la Figura 1.

## ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS

El comportamiento de los microorganismos estudiados durante el procesado de los lomitos se muestra en la Figura 2.

El recuento inicial de bacterias psicrótrofas y mesófilas en la materia prima cruda fue de  $1,3 \times 10^5$  y  $1,2 \times 10^3$  UFC/g respectivamente. Luego del proceso de cocción al vapor el recuento fue de  $1,9 \times 10^3$  y  $1,3 \times 10^2$  UFC/g respectivamente, la población de bacterias psicrótrofas se redujo 2 ciclos logarítmicos y la población de bacterias mesófilas 1 ciclo logarítmico.

El recuento inicial de *Staphylococcus* spp. en la materia prima cruda fue de  $7,3 \times 10^3$  UFC/g. Luego de la cocción no se detectó desarrollo de estos microorganismos.

No se detectaron clostridios sulfito reductores.

Luego del envasado y pasteurización se analizó microbiológicamente la conserva y no se detectaron microorganismos psicrótrofos, mesófilos, clostridios sulfito reductores ni *Staphylococcus* spp. No hubo crecimiento microbiano de ninguno de los grupos estudiados durante 11 meses de almacenamiento en refrigeración.

## ANÁLISIS FISCOQUÍMICOS Y SENSORIALES

En cuanto a los análisis físicoquímicos, se realizaron análisis de  $a_w$  y contenido de agua durante el almacenamiento determinándose que no hubo diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) durante los 11 meses de almacenamiento. La  $a_w$  se mantuvo en un rango de valores entre 0,90 y 0,91 y la humedad entre 49,62 y 51,30 %.

Un comportamiento similar se observó en el análisis sensorial ya que tanto el color como el aroma rancio no tuvieron cambios significativos ( $p < 0,05$ ) durante el almacenamiento en refrigeración. El color obtuvo puntajes entre 0,7 y 1,95 y el aroma rancio entre 1,05 y 1,85.

## 5. CONCLUSIONES

Se desarrolló una conserva de caballa de humedad intermedia. La combinación de barreras de estrés microbiano permitió obtener un producto microbiológicamente estable. Durante 11 meses de almacenamiento en refrigeración no hubo cambios en las características físico-químicas y sensoriales de la conserva.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOAC. Association of Official Analytical Chemists. 1990. Official Methods of Analysis. 15<sup>th</sup> ed. Washington D.C.
- CHECMAREV, G., Casales, M. R., Yeannes, M. I. Estimación del tiempo de pasteurización en lomitos de caballa de  $a_w$  reducida. Proceeding de la III Convención Internacional Alimentación Saludable para la Comunidad y el Turismo. La Habana. Cuba. Trabajo 2. 2011.
- CORZO, O. y Bracho, N. 2007. Water effective diffusion coefficient of sardine sheets during osmotic dehydration at different brine concentrations and temperatures. *Journal of Food Engineering*, 80(2):497-502.
- CZERNER M. y Yeannes, M.I. 2010. Brining kinetics of different cuts of anchovy (*Engraulis anchoita*). *International Journal of Food Science and Technology*, 45(10): 2001-2007.
- ICMSF. (1983). Microorganismos de los alimentos 1: Técnicas de análisis microbiológico y 2: Métodos de muestreo para análisis microbiológicos: Principios y aplicaciones específicas Ed. Acribia. España.
- LARRAZABAL-Fuentes, M.J., Escriche-Roberto, I. y Camacho-Vidal, M.M. 2009. Use of immersion and vacuum impregnation in marinated salmon (*Salmo salar*) production. *Journal of Food Processing and Preservation*, 33: 635–650.
- LEISTNER, L., W. Rodel. 1976. The stability of intermediate moisture foods with respect to microorganisms. In: *Intermediate Moisture Foods*, Ends Davies, R., Birch, G.G. & Parker, K.J. Applied Science Publishers, London, UK, p. 12-137.
- LEISTNER, L. 1994. Further developments in the utilization of hurdle technology for food preservation. *Journal of Food Engineering*, 22:421-432.
- Leistner, L. 2000. Basic aspects of food preservation by hurdle technology. *International Journal of Food Microbiology*, 55:181-186.
- MUJAFFAR, S. y Sankat, C.K. 2006. The mathematical modelling of the osmotic dehydration of shark fillets at different brine temperatures. *International Journal of Food Science and Technology*, 41:405–416.
- NACMCF. 2006. National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods. Requisite scientific parameters for establishing the equivalence of alternative methods of pasteurization. *Journal of Food Protection*, 69: 1190-1216.
- OLADELE, A.K. y Odedeji, J.O. 2008. Osmotic dehydration of catfish (*Hemisynodontis membranaceus*): effect of temperature and time. *Pakistan Journal of Nutrition*, 7(1):57-61.

SÁNCHEZ PASCUA, G.L.; Casales, M.R. y Yeannes, M.I. 1994. Preliminary development of intermediate moisture, pasteurized chub mackerel (*Scomber japonicus marplatensis*) chunks. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 64:199-204.

SÁNCHEZ PASCUA, G.L.; Casales, M.R. y Yeannes, M.I. 2001. Influence of moisture and glycerol content on the aw of fish pastes. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 10(1): 89-100.

URIBE E., Miranda M., Vega-Galvez, A., Quispe I., Clavería R. y Di Scala, K. 2011. Mass transfer modelling during osmotic dehydration of jumbo squid (*Dosidicus jigas*): influence of temperature on diffusion coefficients and kinetic parameters. *Food Bioprocess Technology*, 4, 320-326.

## 7. TABLAS Y FIGURAS

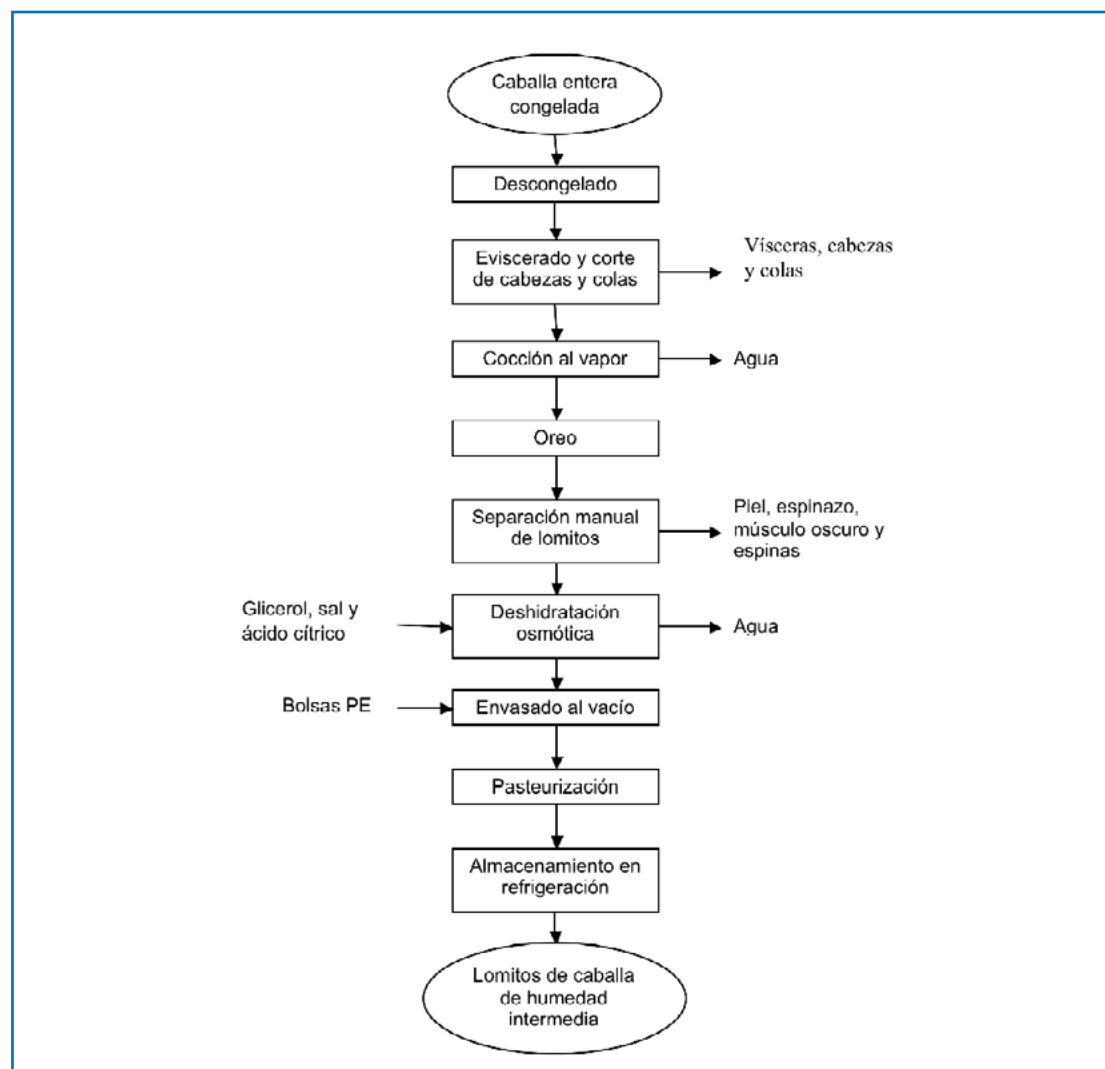
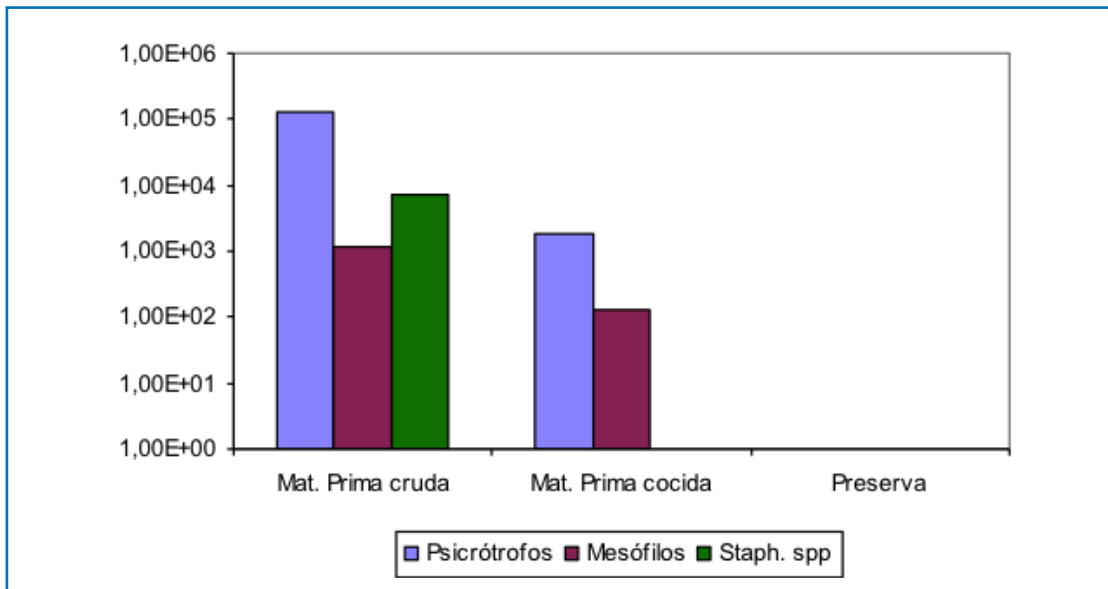


FIGURA 1. Diagrama de Flujo del proceso de elaboración de lomitos de caballa de humedad intermedia





**FIGURA 2.** Comportamiento microbiológico durante el procesado de los lomititos

# SOLID DOSAGE FORMS (POWDERS AND TABLETS) AS AN ALTERNATIVE TO PREVENT ZINC NUTRITIONAL DEFICIENCY

Alex Fernando López Córdoba<sup>1</sup>, Alba Sofía Navarro<sup>1,2</sup>, Miriam Nora Martino<sup>1</sup>

## 1. ABSTRACT

The objective of this work was to develop solid dosage forms (powders and tablets) containing zinc to supply the requirements of at-risk populations. Firstly, zinc loaded powders (17 mg/g powder) were obtained through co-crystallization in sucrose matrix with high encapsulation efficiency (98%). The co-crystallized products showed values of water activity (0.6) and moisture content (2%) characteristics of good stability. These products were also analyzed by differential scanning calorimetry (DSC) and no degradation peaks were found below 100 °C, showing a high thermal stability. Moreover, the zinc loaded powders showed similar FTIR spectra than raw sucrose indicating that interactions between the active compound and the matrix would not take place. Then, tablet formulations were obtained based on the co-crystallized powders with zinc (80% w/w), native corn starch (20% w/w) and magnesium stearate (1g /100g of blend). These blends showed low moisture content and acceptable flowability and compressibility. Finally, the formulations were directly compressed and tablets with high zinc content (4.5 mg per tablet) and optimal values of hardness (around 18 kPa) were obtained. *In vivo* disintegration time was evaluated by an untrained panel of ten judges obtaining values of around 3 min. Sensory evaluation of the tablets showed an acceptance level of 55%, thus, these systems could be a good alternative to help in preventing zinc deficiency.

---

CONTACTO: Alex F. López Córdoba [alexlcordoba@gmail.com](mailto:alexlcordoba@gmail.com)

1. Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecología de Alimentos (CIDCA), CONICET, Fac. Cs. Exactas (UNLP), La Plata, Argentina.

2. Facultad de Ingeniería (UNLP), La Plata, Argentina.

## 2. INTRODUCTION

Zinc (Zn) is an essential micronutrient for human growth, development and function of the immune system. Besides, Zn has antioxidant properties which could avoid the illness appearance from oxidative stress. Nevertheless, Zn deficiency is one of the ten biggest factors contributing to the burden of disease in developing countries with high mortality. Therefore, nowadays World Health Organization suggests the incorporation of this mineral in government nutritional programs (WHO, 2002).

Zinc sulfate is commonly used as a Zn source for supplementation due to its low cost and bioavailability. However, several authors have reported that this compound modifies the product sensorial characteristics rendering flavor unacceptable and it can also generate side-effects such as nausea and vomiting (Salgueiro *et al.*, 2002; Solomons *et al.*, 2011). Therefore, the incorporation of this salt in their original state is not always possible and a previous process to face these disadvantages is often necessary.

Co-crystallization represents a viable means of enhancing the physical properties of active compounds such as solubility, dispersibility, wettability, anticaking, antidusting, antiseperation, homogeneity, flowability and stability (Bhandari and Hartel, 2002). In this process, the crystalline structure of sucrose is modified from perfect to irregular agglomerated crystals, to provide a porous matrix in which a second active ingredient can be incorporated. Co-crystallized products can be used as sugar-based excipients to mask the bitter taste of active ingredients. Moreover, they offer direct tableting characteristics which provide significant advantages in the candy and pharmaceutical industries (Awad and Chen, 1993). In the current work, solid dosage forms (powders and tablets) containing zinc were developed. The characterization of the products was carried out and the sensory acceptability was tested, as well.

## 3. MATERIALS AND METHODS

### CO-CRYSTALLIZED POWDERS WITH ZINC

Zinc sulfate 7H<sub>2</sub>O (Parafarm, Argentina) was used as a source of zinc (4.4 mg of zinc sulfate provided 1 mg of elemental zinc). The co-crystallized products were prepared as described by López-Córdoba *et al.* (2014). Briefly, a blend of raw su-

crose (50 g) (Ledesma, Argentina), zinc sulfate (3.5 g) and distilled water (10 mL) was heated to 132 °C on a hot plate and stirred with a vertical agitator (IKA Labortechnik, Staufen, Germany). When a slight turbidity was detected in the syrup, indicating the beginning of crystallization process, the mix was removed from the heat, maintaining the agitation. The co-crystallized products were dried in a convection oven (SanJor, Argentina) at 40 °C for 15 h and then were ground and sieved through a 500 µm mesh. Blends of raw sucrose (50 g) and distilled water (10 mL) were crystallized as described above for control purposes. These samples will be referred as “control products”.

The zinc content of the products was quantified using an atomic absorption spectrometer model EspectrAA 300-plus (Cambridge, United Kingdom). The co-crystallization yield (%) was calculated as the ratio between the Zn mass loaded per gram of co-crystallized product and the Zn mass employed in the formulation per gram of raw sucrose.

Micrographs of the co-crystallized products were acquired by scanning electron microscopy (SEM) using an FEI, Quanta 200 equipment (The Netherlands). The zinc sulfate distribution on the co-crystallized samples was tested by Energy-dispersive X-ray microanalysis (EDX).

The moisture content and the water activity (AquaLab Serie 3 TE equipment, USA) of the products were determined according to . The thermal behavior of the samples was tested by differential scanning calorimetry (DSC) (Q100 equipment, TA Instruments, USA). The main functional groups of the samples were identified by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) (Nicolet IS-10 equipment, Thermo Scientific, USA). The flowability of the products was evaluated in terms of the dynamic repose angle and the Hausner (HI) and Carr (CI) indexes . HI is widely used as measurement of interparticle friction; HI values less than 1.2 are indicative of the good flowability of the material, whereas values of 1.5 or higher suggest a poor flow display by the material. CI is considered a good indicator of the potential bridge strength and stability; the lower CI values are indicative of better compressibility properties.

### **COMPRESSED TABLETS**

Tablet formulations were prepared based on co-crystallized powders (80 % w/w), native corn starch (20 % w/w) and magnesium stearate (1g/ 100 g of blend). Pre-

vious to the compression, the moisture content and the flowability of the blends were determined. Then, these were directly compressed on a single punch-tablet machine (Model SC1, Sanchez, Argentina), regulated to obtain tablets of around 325-370 mg, using flat-punches with a diameter of 9 mm.

The Zinc content of the compressed tablets was determined by atomic absorption spectrometry following the method mentioned above.

The characterization of the tablets was carried out according to United States Pharmacopeia (USP 30-NF 25, 2007). For the weight uniformity test, ten tablets were weighed individually and the results were expressed as a mean value of the determinations. The thickness of 10 tablets was measured using a Vernier caliper. The density was calculated as the ratio between the mass and the volume of the tablets. The tablet hardness was measured using a Erweka hardness tester (Erweka, Germany).

Besides, the time required for complete oral disintegration and the sensory acceptability were tested by 10 untrained judges (6 Males and 4 Females) aged between 28 and 35 years. The volunteers did not move their tongues during the test. The end point of oral disintegration was considered when a tablet placed on the tongue had disintegrated until no lumps remained. The disintegrated material was held in the mouth for another 30 s, and then spat out. The mouth was rinsed with water between samples and, finally, the acceptability level was recorded on a hedonic numerical scale ranging from 1 to 9 (1: dislike very much; 5: neither like nor dislike; 9: like very much)

#### **STATISTICAL ANALYSIS**

Analysis of variance (ANOVA) and mean comparisons were carried out using SYSTAT INC. software (Evanston, USA). Unless indicated, a level of 95 % of confidence ( $\alpha=0.05$ ) was used.

### **4. RESULTS AND DISCUSSION**

#### **CO-CRYSTALLIZED PRODUCTS**

The co-crystallization process allowed obtaining products with high zinc content (17 mg/g powder) with a yield process around 98 %. Taking into account the Zn

recommended daily intake (RDA) for an adult established by FAO/WHO (11 mg), these products constitute a useful alternative to supply the mineral requirements.

Figure 1 shows morphological aspect and the superficial mapping of the zinc sulfate performed on the co-crystallized products, by SEM–EDX. The samples showed a typical structure corresponding to cluster-like agglomerates with irregular cavities between them. Moreover, energy dispersive X-ray microanalysis (EDX) confirmed a homogeneous distribution of both, zinc and sulfate, on agglomerates surface.

The co-crystallized products with zinc showed lower values of moisture content (2 %) than the raw zinc sulfate (37 %), suggesting that during the co-crystallization process the Zn salt was significantly dehydrated. The water activity of the products was around 0.6, which is favorable to prevent microbial spoilage (Fu and Labuza, 1993).

Figure 2 shows the DSC thermograms of raw zinc sulfate, control samples (without zinc) and co-crystallized products with zinc. The Zn salt showed several endotherms around 48, 82, 167 and 197 °C. The control samples exhibited an endothermic peak around 192 °C, typical of sucrose melting (Bhandari and Hartel, 2002). For the co-crystallized products with zinc no degradation peaks were found below 100 °C, showing a high thermal stability. These powders showed an endotherm around 201 °C, which was broad probably due to the overlapping of the bands located at 192 °C for the control sample and at 197 °C for the raw Zn sulfate. Besides, in the co-crystallized products, the others endotherms present in the thermograms of Zn sulfate were not found (Figure 2). This fact was attributed to both, the dehydration of the salt during co-crystallization process and the incorporation of the mineral into the sucrose matrix.

FTIR spectra of control samples (without zinc) and co-crystallized products with zinc are shown in Figure 3. Both samples showed signals at 3319, 3012, 2970, 2941, 2983, 1128, 1069, 991 and 942  $\text{cm}^{-1}$  corresponding to the “fingerprint” of sucrose (Brizuela *et al.*, 2012). This fact suggests that conformational changes on the sugar did not take place during the co-crystallization process. Besides, bands corresponding to the zinc salt were not detected in the co-crystallized products, probably due to the low amount of mineral in relation to the sucrose mass.

The flowability parameters of the raw materials, the control samples and the co-crystallized products with zinc are shown in Table 1. The dynamic repose angle ranged between 40 and 50° in all cases. Several authors have reported that materials

with repose angle between 40 and 50° can be handled satisfactorily, while products with repose angle higher than 50° correspond to very cohesive materials (Geldart *et al.*, 2006; Santomaso *et al.*, 2003).

Hausner (HI) and Carr (CI) indexes are useful quality parameters to evaluate the flowability and also the ability of powders to form tablets. Both parameters, HI and CI, suggested that the raw materials and the co-crystallized products showed good flowability and compressibility. These indexes were agreed with the results of the repose angle measurement (Table 1).

### **COMPRESSED TABLETS**

Co-crystallized products with zinc led to compressed tablets with optimal characteristics (Table 2). In addition, the tablet formulations showed low moisture content (around 2 %) and acceptable flow properties (repose angle greater than 50; HI: 1.2-1.5; CI: 21-26 %).

The tablets showed a Zn content around 4.5 mg per tablet. This mineral dosage corresponds to 41 % of the recommended daily intake (RDA) for adults, useful to avoid deficiency and prevent toxicity (FAO/WHO). The tablet hardness values were around 18 kPa, which are suitable to facilitate their handling. Working with co-crystallized sucrose with dextrin, found that these co-crystallized materials were deformed readily by plastic fracture leading to much harder compacts compared with sucrose which is a brittle material.

With respect to the *In vivo* disintegration times, values of around 3 min were obtained. As it is well known, the hardness is a critical factor for the disintegration time and the dissolution behavior of the tablets. Frequently, harder tablets take longer to disintegrate than softer tablets (Lee, 2007). In this case, compressed tablets with appropriate hardness but also fast disintegration were achieved. This behavior could be attributed to the high solubility of sucrose and zinc sulfate in water and also to the action of starch as disintegrating agent.

The sensory evaluation of the tablets showed a mean overall acceptability rating of 5, corresponding to the neutral point of the 9-points hedonic scale (“neither like nor dislike”). This score correspond to a consumer acceptance level around 55 %. On the other hand, the frequency distribution analysis showed that 22 % of judges evaluated the tablets with rating between 7 and 9, 56 % with rating between 4-6 and 22 % with rating between 1 and 3. These results suggest that the use of co-crys-

tallized sucrose with zinc in tablet preparations constitute a potential strategy to render more palatable the bitter taste of zinc-dosage forms.

## 5. CONCLUSIONS

Zinc solid dosage forms in powder and compressed tablets were developed. Co-crystallization process proved a useful technique for the preparation of powders with high zinc load, low water activity and moisture content and good flowability and compressibility. Besides, the co-crystallized products led to compressed tablets with suitable hardness, fast-oral disintegration times and optimal sensory perception. The developed products constitute a very feasible way to prevent zinc nutritional deficiency.

## ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to thank the Argentinean National Research Council (CONICET). *In memoriam* Dra. Miriam Martino (1958-2014).

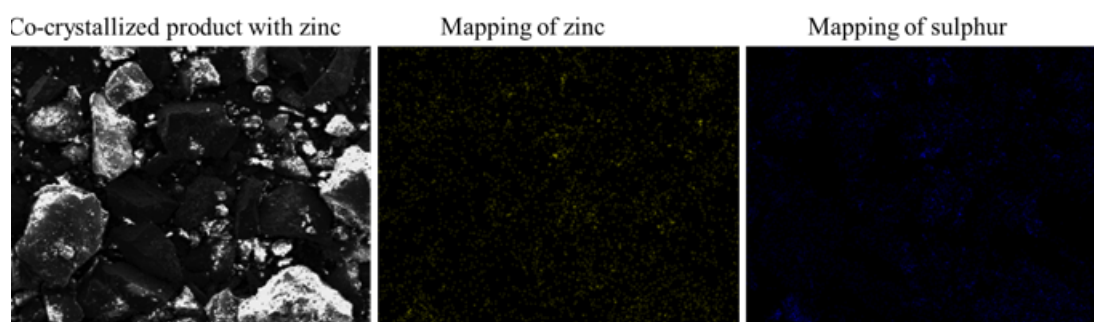
## 6. REFERENCES

- AOAC, (1998). Official methods of analysis (16th ed.), 16 ed, Gaithersburg, EE.UU.
- AWAD, A., Chen, A.C., (1993). A new generation of sucrose products made by co-crystallization. *Food Technology* 47(1), 146-148.
- BHANDARI, B.R., Hartel, R.W., (2002). Co-crystallization of sucrose at high concentration in the presence of glucose and fructose. *Journal of Food Science* 67(5), 1797-1802.
- BRIZUELA, A.B., Bichara, L.C., Romano, E., Yurquina, A., Locatelli, S., Brandán, S.A., (2012). A complete characterization of the vibrational spectra of sucrose. *Carbohydrate Research* 361(0), 212-218.
- FU, B., Labuza, T.P., (1993). Shelf-life prediction: theory and application. *Food Control* 4(3), 125-133.
- GELDART, D., Abdullah, E.C., Hassanpour, A., Nwoke, L.C., Wouters, I., (2006). Characterization of powder flowability using measurement of angle of repose. *China Particuology* 4(3-4), 104-107.
- GOEL, A., Dani, V., Dhawan, D.K., (2005). Protective effects of zinc on lipid peroxidation, antioxidant enzymes and hepatic histoarchitecture in chlorpyrifos-induced toxicity. *Chemi-co-Biological Interactions* 156(2-3), 131-140.

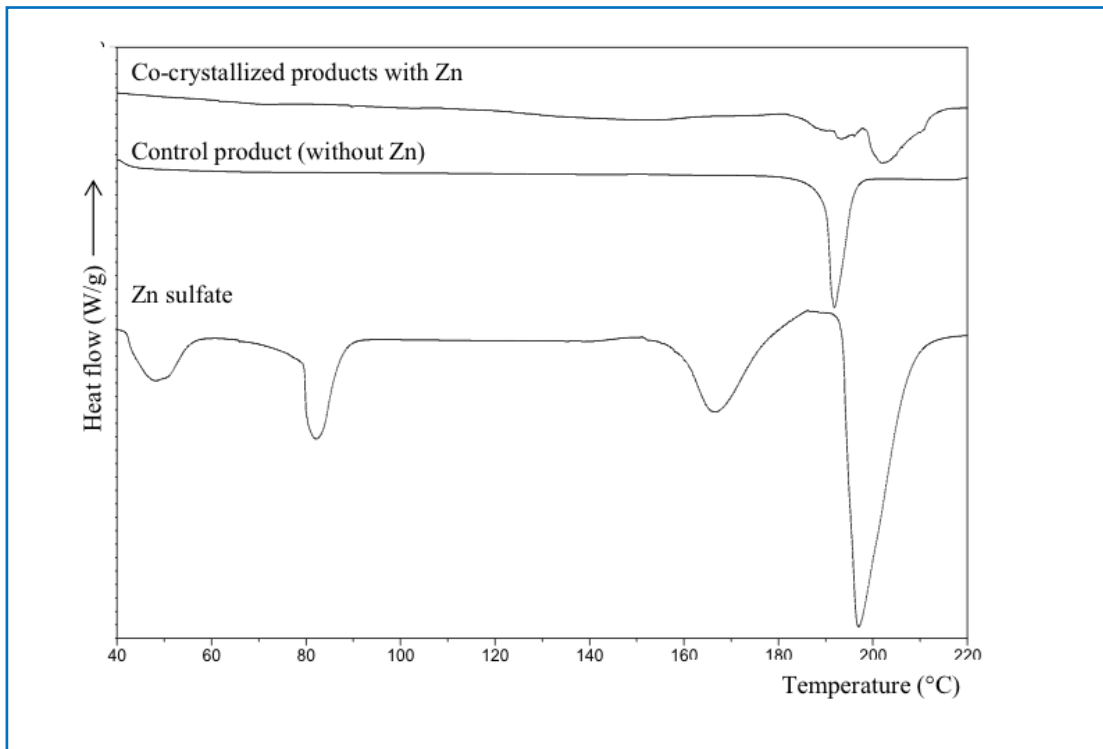


- LEE, B.J., (2007). *Pharmaceutical Preformulation: Physicochemical Properties of Excipients and Powders and Tablet Characterization*, *Pharmaceutical Manufacturing Handbook*. John Wiley & Sons, Inc., pp. 879-931.
- LÓPEZ-CÓRDOBA, A., Deladino, L., Agudelo-Mesa, L., Martino, M., (2014). Yerba mate antioxidant powders obtained by co-crystallization: Stability during storage. *Journal of Food Engineering* 124(0), 158-165.
- RIZZUTO, A., Chen, A., Veiga, M., (1984). Modification of the sucrose crystal structure to enhance pharmaceutical properties of excipient and drug substances. *Pharmaceutical Technology* 8(9), 32-35.
- SALGUEIRO, M.J., Zubillaga, M., Lysionek, A., Caro, R., Weill, R., Boccio, J., (2002). Fortification Strategies to Combat Zinc and Iron Deficiency. *Nutrition Reviews* 60(2), 52-58.
- SANTOMASO, A., Lazzaro, P., Canu, P., (2003). Powder flowability and density ratios: the impact of granules packing. *Chemical Engineering Science* 58(13), 2857-2874.
- SOLOMONS, N.W., Romero-Abal, M.-E., Weiss, G., Michalke, B., Schumann, K., (2011). Bioavailability of zinc from NutriSet zinc tablets compared with aqueous zinc sulfate. *Eur J Clin Nutr* 65(1), 125-131.
- USP 30-NF 25, (2007). *United States Pharmacopeia -National Formulary*, Rockville, MD.
- WHO, (2002). *The world health report: reducing risks, promoting healthy life*. [http://www.who.int/whr/2002/en/whr02\\_en.pdf](http://www.who.int/whr/2002/en/whr02_en.pdf).

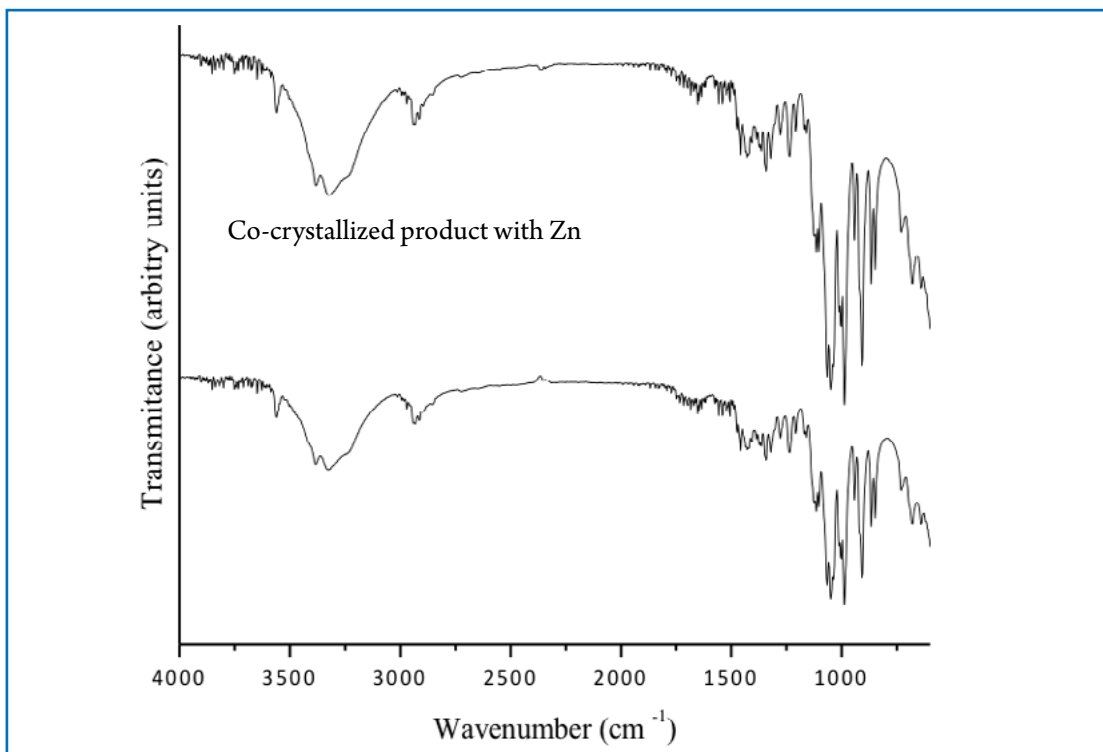
## 7. TABLES AND FIGURES



**FIGURE 1.** Morphological aspect and superficial mapping of the zinc sulfate on the co-crystallized products, performed by SEM-EDX



**FIGURE 2.** DSC thermograms of raw zinc sulfate, control samples (without zinc) and co-crystallized products with zinc



**FIGURE 3.** FTIR spectra of control samples (without zinc) and co-crystallized products with zinc

**TABLE 1.** Flowability parameters of raw materials, control samples and co-crystallized products with zinc

| Samples                           | Dynamic repose angle | Hausner Index | Carr compressibility index (%) |
|-----------------------------------|----------------------|---------------|--------------------------------|
| Raw zinc sulfate                  | 49.1 ± 0.5           | 1.1 ± 0.05    | 12.8±3.2                       |
| Raw sucrose                       | 41.9 ± 2.6           | 1.1 ± 0.01    | 9.1 ± 1.1                      |
| Control product                   | 41.8 ± 4.7           | 1.0 ± 0.04    | 7.05 ±0.5                      |
| Co-crystallized product with zinc | 47.1 ± 5.9           | 1.2 ± 0.07    | 12.5±2.9                       |

**TABLE 2.** Physical properties and sensorial evaluation of the tablets

| Physical properties |                |                               |                | Sensory evaluation                     |               |
|---------------------|----------------|-------------------------------|----------------|--|---------------|
| Average weight (mg) | Thickness (mm) | Density (g cm <sup>-3</sup> ) | Hardness (kPa) | Disintegration time in the mouth (min) | Mean rating * |
| 344± 12             | 5.0 ± 0.2      | 1.3 ± 0.2                     | 18.7 ± 3.1     | 3.7 ± 1.6                              | 5             |

\* 9-points hedonic scale: 1: dislike very much; 5: neither like nor dislike; 9: like very much

# MATRICES DE QUITOSANO MICROCRISTALINO OBTENIDAS POR MODIFICACIÓN QUÍMICA DEL QUITOSANO

Diego Alejandro Marín Silva<sup>1</sup>, Sandra Rivero<sup>1</sup>, Adriana Pinotti<sup>1,2</sup>

## 1. RESUMEN

El quitosano (Q) es un polímero derivado de la quitina, cuyas propiedades físicas y químicas dependen fuertemente del grado de desacetilación. Una modificación del Q es la preparación de quitosano microcristalino (QMC) por agregación de las macromoléculas glucosamina a partir de soluciones acuosas de ácidos orgánicos. Los objetivos del trabajo fueron: I) Caracterizar y modificar el Q a fin de obtener QMC; II) Estudiar las propiedades de las películas formuladas a partir de estos polímeros. Las películas mostraron buena apariencia e integridad estructural evidenciándose por SEM. Los perfiles mecánicos de los materiales obtenidos mostraron una mayor elongación de las películas QMC manteniendo los valores de esfuerzo respecto a las películas Q. Se determinó la solubilidad acuosa de las películas, obteniéndose mayores valores de solubilidad para las películas de Q. El análisis térmico por DMA evidenció que la temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ) fue menor para las películas formuladas con QMC, lo que se correlacionó con el mayor contenido de humedad de las películas QMC en comparación con las de Q, siendo estos de 23 % y 19 %, respectivamente. Los termogramas obtenidos por MDSC mostraron la intensificación de una relajación alrededor de 50 °C debido a un cambio microestructural experimentado por el Q. La modificación química del polímero también fue confirmada a través del análisis realizado por FTIR. Los resultados obtenidos demuestran que la modificación química del quitosano amplía las potenciales aplicaciones del polímero en el campo de los alimentos.

---

CONTACTO: Sandra Rivero [sandra\\_gmr@yahoo.com](mailto:sandra_gmr@yahoo.com)

1. Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecología de Alimentos, CONICET-La Plata, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP. La Plata, Argentina.

2. Facultad de Ingeniería, UNLP. La Plata, Argentina.

## 2. INTRODUCCIÓN

La producción de películas biodegradables a partir de fuentes renovables le confiere un valor agregado a las materias primas, ampliando así su campo de aplicación. Existen numerosos estudios sobre la potencialidad del quitosano obtenido de diferentes fuentes para el desarrollo de películas y recubrimientos con propiedades diferenciales.

El quitosano se obtiene por desacetilación de la quitina, proceso que involucra la remoción parcial de los grupos acetilos de las cadenas poliméricas, siendo necesaria la evaluación de la extensión de este proceso ya que el grado de desacetilación determina las propiedades fisicoquímicas, y funcionales del quitosano, condicionando sus posibles usos. Es un polisacárido catiónico y su importancia reside en sus aplicaciones dado las propiedades antimicrobianas y formadores de películas que posee (No *et al.*, 2007).

Una modificación del quitosano (Q) es la preparación de quitosano microcristalino (QMC) por agregación de las macromoléculas glucosamina a partir de soluciones acuosas de ácidos orgánicos. Esta modificación posee ventajas que superan las del quitosano no modificado, otorgándole mayor elasticidad y menor solubilidad, entre otras propiedades (Pighinelli y Kucharska, 2014). Las propiedades biodegradables de la película dependen del tipo de material utilizado y condiciones de obtención que determinan sus aplicaciones (Krochta y De Mulder Johnston, 1997). Los estudios de obtención y aplicación de QMC en el desarrollo de películas biodegradables son escasos. Los objetivos del trabajo fueron: I) Caracterizar y modificar el quitosano a fin de obtener QMC; II) Estudiar las propiedades de las películas formuladas a partir de estos polímeros.

## 3. MATERIALES Y MÉTODOS

### CARACTERIZACIÓN FISICOQUÍMICA DEL POLÍMERO

Se determinó el contenido de cenizas y de humedad del Q de acuerdo a la metodología descrita por Rivero *et al.* (2009).

### *Determinación del peso molecular del quitosano*

Para determinar el peso molecular del quitosano (*Polymar Ciência e Nutrição*, Fortaleza, Brazil) se utilizó un viscosímetro capilar tipo Ubbelohde. Para calcular la

viscosidad intrínseca se determinó el tiempo de caída de un conjunto de muestras de Q de diferentes concentraciones preparadas por disolución en una mezcla de ácido acético 0,1 M y cloruro de sodio 0,2 M. Una vez calculada la viscosidad intrínseca, se determinó el peso molecular viscosimétrico ( $M_\eta$ ) del polímero a partir de la Ecuación 1 de Mark-Houwink: Las constantes utilizadas fueron  $K = 1,81 \cdot 10^{-3} \text{ (cm}^3 \text{ g}^{-1})$  y  $a = 0,93$  (Abd-Elmohdy *et al.*, 2010; Ravi Kumar, 2000).

$$[\eta] = K(M_\eta)^a \quad \text{Ec.1}$$

#### ***Determinación del grado de desacetilación del quitosano por titulación potenciométrica***

Se utilizó un pH-metro HACH Instrument modelo EC30, equipado con un electrodo de vidrio combinado. La muestra se preparó disolviendo 0,5 g de Q en 20 mL de HCl 0,3 M y se tituló con una solución valorada de NaOH 0,102 N, registrándose el pH de la solución para distintos volúmenes de titulante agregado. El punto final de la titulación se determinó a través del método de la primera derivada obtenida de la curva de titulación.

#### **MODIFICACIÓN QUÍMICA DEL POLÍMERO**

El QMC se obtuvo por disolución del Q al 2 % (p/p) en ácido acético 2 % (v/v), tratamiento térmico durante 3 h a 70 °C y posterior precipitación mediante el agregado de NaOH 1,25 M hasta alcanzar un pH de 8,2. El residuo semi-sólido obtenido fue lavado, filtrado y finalmente liofilizado, hasta obtener el QMC en polvo.

#### **PREPARACIÓN DE LAS PELÍCULAS**

Las películas se prepararon por solubilización del Q y QMC al 2 % (p/p) en una solución de ácido acético al 1,5 % (v/v). Las películas fueron obtenidas por moldeo en placas de acrílico y secado en estufa a 37 °C de las soluciones filmogénicas.

#### **PROPIEDADES DE LAS PELÍCULAS**

##### ***Caracterización fisicoquímica de las matrices***

Las medidas de los espesores de las películas se realizaron utilizando un micrómetro digital (Microprocessor digital meter. CM – 8822). El contenido de humedad se determinó midiendo el peso de las matrices a tiempo iniciales y luego de ser secadas en estufa a 105 °C hasta peso constante.

La solubilidad se determinó sobre muestras de 3×3cm, las que fueron pesadas y sumergidas en 100 mL de agua destilada. Las muestras se mantuvieron bajo agitación durante 1 h a 20 °C. Las piezas remanentes se secaron nuevamente a 105 °C hasta alcanzar peso constante.

### ***Permeabilidad al vapor de agua (PVA)***

Se determinó según una modificación del método de la ASTM E96 (Rivero *et al.*, 2009). Las muestras se colocaron en celdas de acrílico, y éstas en recipientes herméticos. Las películas se sometieron a un gradiente de 75 % de humedad relativa (RH) que corresponde a una fuerza impulsora de 1753,55 Pa. Se registró el cambio en el peso de la celda en función del tiempo (h). Los datos se regresionaron linealmente y, considerando el espesor, se calculó la PVA a 20 °C.

### ***Propiedades mecánicas***

Las propiedades mecánicas se analizaron mediante un equipo de análisis dinámico-mecánico térmico Q800 (TA Instruments, New Castle, EE.UU) usando pinzas de tensión con un sistema de enfriamiento con N<sub>2</sub> líquido. Las muestras se cortaron de 30 mm de largo y 6 mm de ancho. El ensayo se realizó a temperatura ambiente, a una velocidad de 1 N min<sup>-1</sup> obteniéndose las curvas de esfuerzo-deformación hasta la ruptura de las películas o hasta un máximo de 18 N.

### ***Propiedades térmicas***

Las propiedades térmicas del Q y QMC se analizaron por calorimetría diferencial de barrido modulada (MDSC) con un equipo modelo Q100 TA Instruments, EEUU. Los análisis de DSC se realizaron a una velocidad de calentamiento de 10 °C min<sup>-1</sup> en un intervalo de temperaturas de -100 a 200 °C.

Por otra parte, se empleó la técnica de DMA para determinar las temperaturas de relajación asociadas a la transición vítrea (T<sub>g</sub>) de los materiales. Se llevaron a cabo ensayos de barrido de frecuencias a 1, 3, 5, 10 y 15 Hz dentro del rango de viscoelasticidad lineal. La temperatura se varió entre -90 a 200 °C a una velocidad de calentamiento de 5 °C min<sup>-1</sup>. Tanto los parámetros evaluados por MDSC y DMA se determinaron con el universal Analysis V1.7F software (TA Instrument).

### ***Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR)***

Los espectros de FTIR de las películas de Q y QMC se registraron en la región 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$  con una resolución de 4  $\text{cm}^{-1}$  realizando 60 escaneos por ensayo, con un espectrofotómetro FTIR Nicolet, iS10 Thermo Scientific, (USA). Los datos se analizaron utilizando el software Omnic 8 (Thermo Scientific).

### ***Caracterización de la microestructura***

Los estudios de la morfología de las películas se realizaron por microscopía electrónica de barrido SEM FEI QUANTA 200 (Japón). Las películas fueron criofracturadas por inmersión en  $\text{N}_2$  líquido. Las muestras se montaron en tacos de bronce con una cinta bifaz, permitiendo así la visualización de las superficies y de las secciones transversales.

## **4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DEL POLÍMERO**

Se obtuvo un contenido de cenizas de 3,5 %, mientras que el contenido de humedad del Q fue del 13,9 %.

Se ha determinado que la quitina (fuente de la cual es extraído el Q) posee aproximadamente un 6,89 % de nitrógeno debido a que el Q tiene en su estructura primaria grupos aminos ( $\text{NH}_2$ ), (Ravi Kumar, 2000). Debido a la diversidad de métodos para la determinación de grupos amino libres, se seleccionó la titulación potenciométrica por tratarse de un método rápido y de bajo costo (Abdou *et al.*, 2008). Las curvas de titulación presentan dos puntos de inflexión; los volúmenes de NaOH correspondientes se determinaron según el método gráfico de la primera derivada, como se muestra en la Figura 1a y b. El porcentaje de grupos amino libres o grado de desacetilación (DD) del polímero fue del 65 %.

A partir de medidas viscosimétricas se pudo estimar el peso molecular del polímero (Eq. 1). De los datos extraídos de la Figura 2, se calculó la viscosidad intrínseca obteniéndose un valor de 349,5  $\text{cm}^3 \text{g}^{-1}$  para el Q, obteniéndose un peso molecular de  $4,80 \cdot 10^5 \text{ g mol}^{-1}$ . Este valor es similar al informado por Ravi Kumar, (2000).



## PROPIEDADES DE LAS PELÍCULAS DE Q Y QMC

### *Caracterización fisicoquímica*

A partir de las soluciones filmogénicas a base de quitosano y su derivado (quitosano microcristalino) fue posible obtener películas de apariencia uniforme. El espesor promedio de las películas fue de 70  $\mu\text{m}$ . Se determinó la solubilidad de las películas en agua, obteniendo mayores valores de solubilidad para las películas de Q en comparación con las películas QMC, siendo los valores promedio obtenidos 63 % y 52,3 %, respectivamente. Asimismo, se observó que las películas obtenidas a partir de QMC presentaron un mayor contenido de humedad comparado con la película de Q, siendo 19,11 % y 23,4 %, respectivamente. En este sentido, el contenido de agua presente en la matriz tiene una significativa influencia en las propiedades físicas de las películas obtenidas a partir de polímeros biodegradables.

### *Permeabilidad al vapor de agua (PVA)*

Los valores de permeabilidad al vapor de agua para las películas de Q no mostraron diferencias significativas en comparación con el QMC ( $P > 0,05$ ), siendo  $9,38 \times 10^{-11} \text{ g m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$  y  $1,16 \times 10^{-10} \text{ g m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$ , respectivamente.

### *Propiedades mecánicas*

Se estudiaron las propiedades mecánicas de los materiales mediante ensayos de tensión cuasi estáticos a través de análisis dinámico mecánico (DMA). En la Figura 3 se muestran los perfiles mecánicos de los materiales obtenidos los cuales evidenciaron una mayor elongación de las películas QMC manteniendo sin embargo los valores de esfuerzo respecto a las películas Q. Estos resultados indicarían que la modificación química del polímero induce un cambio o reacomodamiento de las cadenas poliméricas del quitosano.

### *Propiedades térmicas*

Las curvas obtenidas por MDSC evidenciaron la aparición de un evento endotérmico asociado a la remoción de agua presente en la matriz ( $T_p$ ), a 122,3 °C para el Q y a 126,4 °C para el QMC, con una entalpía de 356,8 y 445,3  $\text{J g}^{-1}$ , respectivamente (Figura 4a). Los sitios más importantes para la unión de las moléculas de agua son los grupos polares como los oxhidrilos y los grupos amino presentes en los po-

límeros. De los resultados obtenidos, se observó una correlación entre los valores de humedad de las películas y la entalpía asociada a la transición térmica observada por MDSC. Por otra parte, el termograma de las películas QMC demostró la intensificación de una relajación alrededor de 50 °C asociado a un cambio microestructural experimentado por el Q.

La Figura 4b muestra la dependencia de  $\tan \delta$  con la temperatura. Los patrones mecánico-dinámicos de las películas mostraron dos relajaciones, una localizada alrededor de 90 °C y otra a 67 °C asociada a la  $T_g$  del material. A partir de los espectros de Q y QMC se evidenció que la relajación asociada a la  $T_g$  ocurrió a menor temperatura para las películas formuladas con QMC. Cabe destacar que esta disminución se corresponde con un mayor contenido de humedad de las muestras.

### ***Propiedades microestructurales***

Las películas de Q y QMC mostraron buena apariencia e integridad estructural evidenciada por SEM (Figura 5), a través de las secciones transversales y la topografía de la superficie de las matrices. El análisis microestructural confirmó que la morfología superficial de las muestras era lisa y uniforme, sin grietas, poros e imperfecciones. El espesor medio de las películas determinado por SEM fue de 70  $\mu\text{m}$ .

### ***Análisis por FTIR***

En la Figura 6 se presentan los espectros FTIR obtenidos para las muestras de Q y QMC. La región comprendida entre 3600 y 3000  $\text{cm}^{-1}$  es atribuida al estiramiento de los grupos O-H y de los grupos N-H, mientras que las bandas en la zona 2920-2850  $\text{cm}^{-1}$  se deben al estiramiento del grupo C-H (Dong *et al.*, 2002). En 1650  $\text{cm}^{-1}$  se observó el pico de la amida I correspondiente al estiramiento del grupo N-H. Además, las bandas entre 1485-1380  $\text{cm}^{-1}$  corresponden al estiramiento asimétrico del C-H del grupo  $\text{CH}_2$  y entre 1092 -1031  $\text{cm}^{-1}$  al estiramiento simétrico del puente de C-O-C del residuo de glucosamina. Los resultados encontrados concuerdan con los informados por Kumirska *et al.*, (2010). La modificación química del Q fue confirmada por esta técnica cuyos espectros mostraron el corrimiento de la banda de la amida I y la amida II, la aparición de un pico a 1340  $\text{cm}^{-1}$  y una mejor resolución de la banda a 3370  $\text{cm}^{-1}$ .

## 5. CONCLUSIONES

La aplicación de diferentes técnicas instrumentales de variada complejidad permitió caracterizar de forma adecuada las propiedades fisicoquímicas del quitosano, un hidrocoloide con un amplio espectro de aplicaciones industriales.

Los estudios por FTIR confirmaron las modificaciones estructurales atribuidas al tratamiento químico del polímero, que permitieron obtener matrices más flexibles y con menor solubilidad acuosa. Los resultados obtenidos demuestran que la modificación química del quitosano amplía las potenciales aplicaciones del polímero en el campo de los alimentos.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABD-ELMOHDY F.A., El-said Z., Essam S., y Hebeish A. (2010). "Controlling Chitosan Molecular Weight via Bio-chitosanolytic". *Carbohydrate Polymers*, 82(3), 539-542.
- DONG Y., Xu C., Wang J., Wu Y., Wang M., y Ruan Y. (2002). "Influence of degree of deacetylation on critical concentration of chitosan/dichloroacetic acid liquid crystalline solution". *Journal Applied Polymer Science*, 83, 1204-1208.
- KROCHTA, J. M. y De Mulder-Johnston, C. (1997). "Edible and biodegradable polymer films: Challenges and opportunities". *Food Technology*, 51(2): 61-74.
- KUMIRSKA J., Czerwicka M., Kaczynski Z., Bychowska A., Brzozowski K., Thoming J., y Stepnowski P (2010). "Review: Application of Spectroscopic Methods for Structural Analysis of Chitin and Chitosan". *Marine Drugs*, 8, 1567-1636.
- NO H.K., Meyers S.P., Prinyawiwatkul W., y Xu Z. (2007). "Applications of chitosan for improvement of quality and shelf life of foods: A Review". *Concise Reviews/Hypotheses in Food Science*, 72(5), 87-100.
- PIGHINELLI, L., y Kucharska, M. (2014). "Properties and Structure of Microcrystalline Chitosan and Hydroxyapatite Composites". *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, 5, 128-138
- RAVI KUMAR M.N.V., Muzzarelli C., Sashiwa H., y Domb A.J. (2004). "Chitosan chemistry and pharmaceutical perspectives". *Chemical Reviews*, 104, 6017-6084.
- RIVERO S, García MA, Pinotti A. (2009). "Composite and bi-layer films based on gelatin and chitosan". *Journal of Food Engineering*. 90, 531-539.

## 7. TABLAS Y FIGURAS

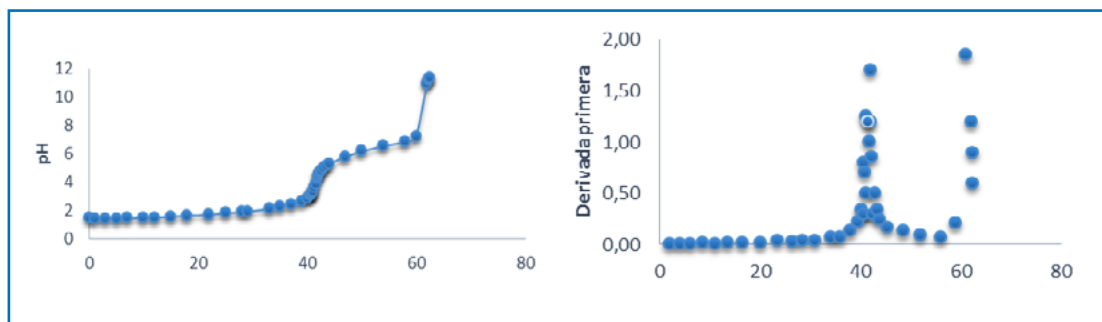


FIGURA 1. a) Curva de titulación para Q; b) primera derivada. Los máximos corresponden a los puntos de inflexión

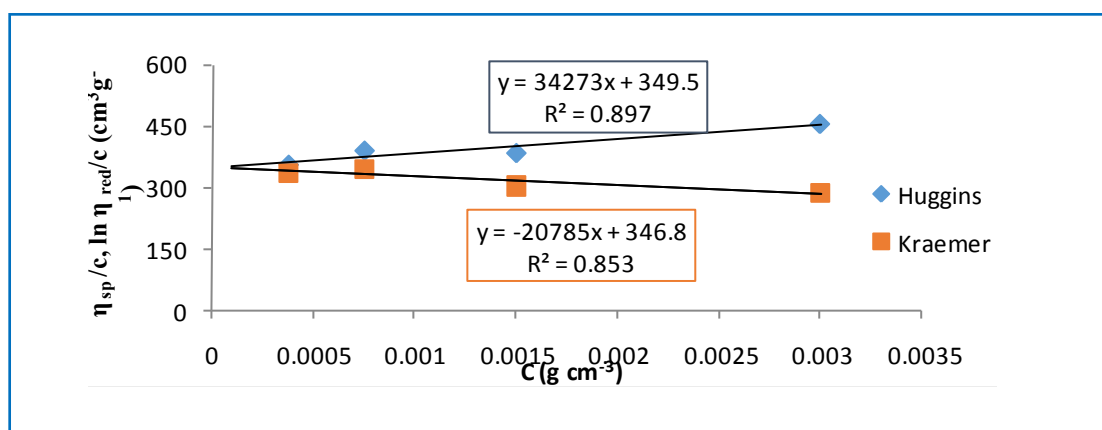


FIGURA 2. Determinación gráfica de la viscosidad intrínseca del Q

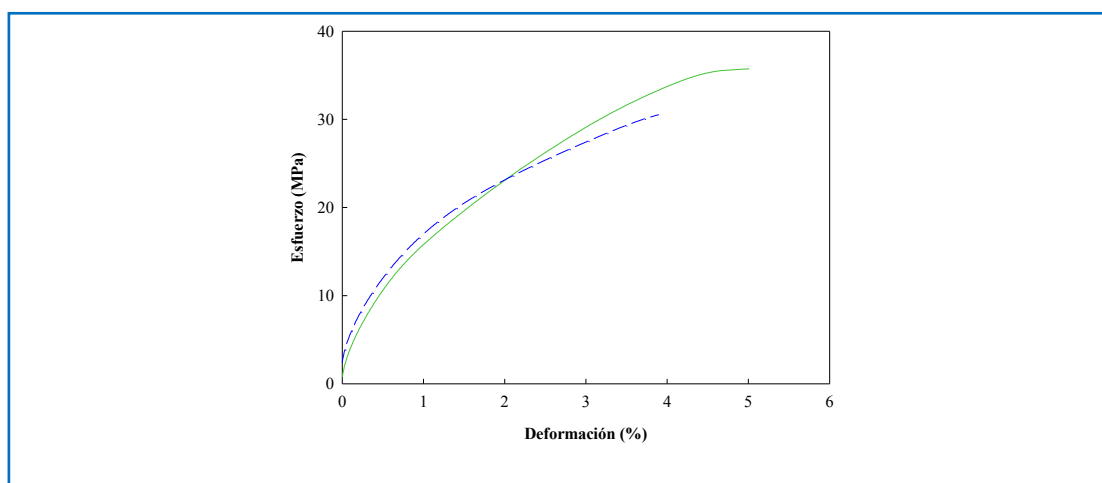
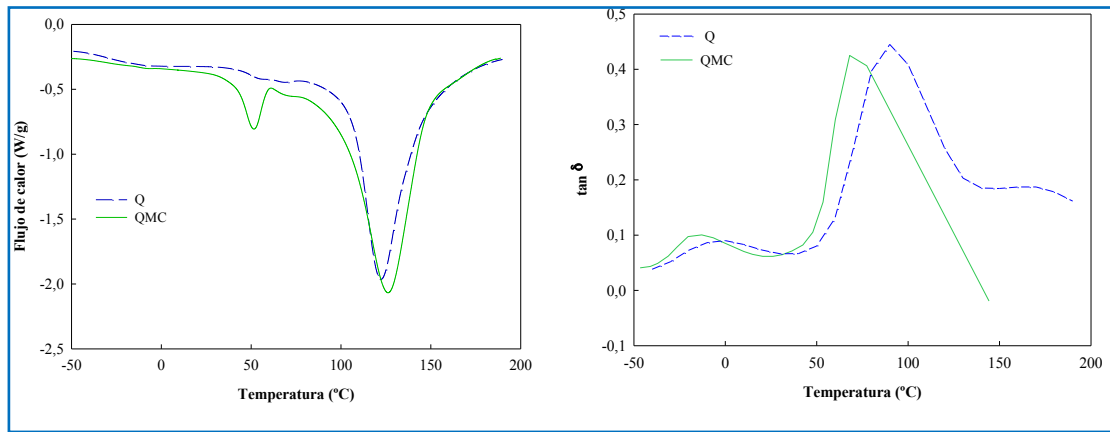
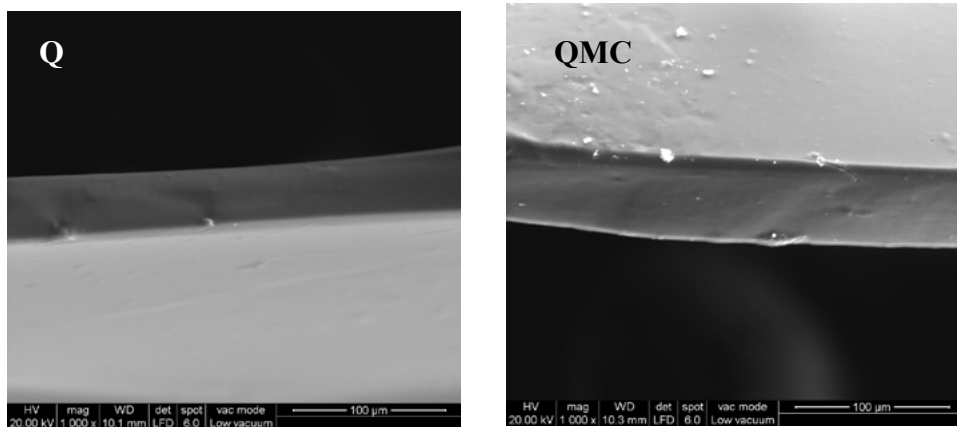


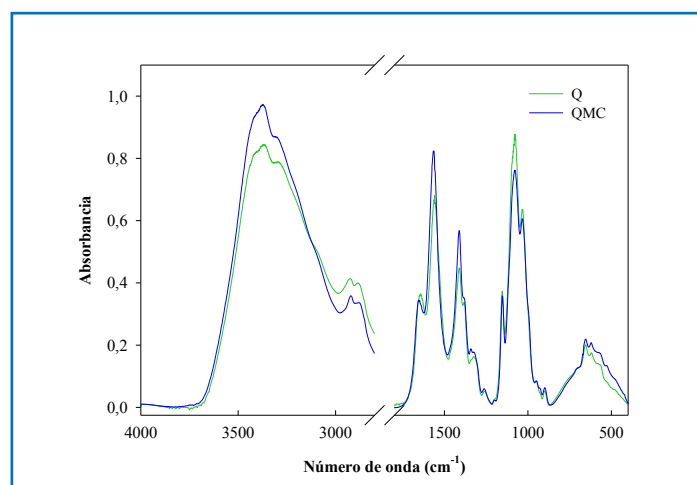
FIGURA 3. Perfil mecánico de películas de Q y QMC. Efecto de la modificación química del Q



**FIGURA 4.** a) Termogramas obtenidos por MDSC;  
b) espectros dinámico-mecánicos de Q y QMC



**FIGURA 5.** Microscopía electrónica de barrido de cortes transversales de películas de Q y QMC. Escala: 100 μm



**FIGURA 6.** Espectro FTIR de Q y QMC

# CAMBIOS INDUCIDOS POR LA RADIACIÓN UV EN PELÍCULAS DE CARBOXIMETILCELULOSA Y ALCOHOL POLIVINÍLICO EN PRESENCIA DE BENZOATO DE SODIO

Sabrina Villarruel<sup>1</sup>, Leda Gianuzzi<sup>1</sup>, Sandra Rivero<sup>1</sup>, Adriana Pinotti<sup>1,2</sup>

## 1. RESUMEN

La carboximetilcelulosa sódica (CMC) es un derivado de la celulosa con propiedades filmogénicas, utilizada en el área de alimentos. El alcohol polivinílico (PVOH) es un polímero sintético semicristalino obtenido mediante hidrólisis del acetato de polivinilo. El fotoentrecruzamiento de las películas con UV constituye una tecnología que permite mejorar las propiedades de los materiales. Para este tratamiento es necesario incorporar durante el procesamiento de la matriz fotoiniciadores como el benzoato de sodio (BS), para producir radicales que inicien las reacciones de reticulación. Además el BS funcionaliza el material otorgándole propiedades antimicrobianas. Los objetivos del trabajo fueron: I) desarrollar películas puras y compuestas a base de PVOH y CMC, estudiando sus propiedades fisicoquímicas, mecánicas, térmicas y microestructurales; II) analizar las interacciones establecidas entre CMC y PVOH y los cambios inducidos por el tratamiento con radiación UV en presencia de benzoato de sodio (BS); III) evaluar la capacidad antimicrobiana de las películas activas. Análisis térmicos, rayos X, SEM y FTIR evidenciaron los cambios microestructurales producido en la matriz y proporcionaron información acerca de la modificación inducida ya sea por la presencia de BS o por el tratamiento con UV. Los espectros de FTIR reflejaron cierto grado de interacción polímero-polímero a nivel molecular en las regiones amorfas, especialmente en las películas compuestas fotoentrecruzadas con BS. La incorporación de este compuesto

---

CONTACTO: Sandra Rivero [sandra\\_gmr@yahoo.com](mailto:sandra_gmr@yahoo.com)

1. Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos, CONICET-La Plata, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP, La Plata, Argentina.

2. Facultad de Ingeniería, UNLP, La Plata, Argentina.

activo combinado con UV fue positiva debido a la inhibición del crecimiento de un amplio espectro de microorganismos (*E. coli*, *Salmonella* spp, *Penicilium* sp. y *Candida* spp.). Asimismo, desde el punto de vista físico-químico y estructural el tratamiento de las películas compuestas modificó significativamente su morfología evidenciada por SEM, obteniendo materiales más insolubles en agua. El desarrollo de películas funcionalizadas permitió obtener un material potencialmente aplicable en el envasado de alimentos.

## 2. INTRODUCCIÓN

La carboximetilcelulosa sódica (CMC) es un polímero derivado de la modificación química de la celulosa. Dado que la CMC tiene abundantes grupos hidroxilos puede ser usada para preparar películas e hidrogeles (Ibrahim y col., 2010). El alcohol polivinílico (PVA) es un polímero sintético, hidrosoluble con excelentes propiedades filmogénicas, que puede ser utilizado como base para la realización de mezclas con otros polímeros. La solubilidad en agua varía con la temperatura y depende del grado de polimerización e hidrólisis, alcanzando valores máximos con un grado de hidrólisis entre el 86 y 89 %. La mezcla de dos polímeros permite la preparación de materiales compuestos con propiedades controlables que difieren significativamente de sus componentes (Park y col., 2001; Ramakrishna y col., 2011).

La radiación ha sido usada para mejorar las propiedades de los materiales poliméricos debido a la tendencia a la reacción química entre las moléculas del polímero expuestas a radiación. Se usan fotosensibilizadores como el benzoato de sodio, que es conocido por ser fotolisado por la radiación UV (Detduangchan y Wittaya, 2011). Asimismo, el benzoato de sodio, reconocido por su capacidad antimicrobiana, es extensamente usado en la conservación de alimentos.

Este trabajo se centra en, I) desarrollar películas puras y compuestas a base de PVOH y CMC, estudiando sus propiedades fisicoquímicas, mecánicas, térmicas y microestructurales;

II) estudiar los cambios inducidos por el tratamiento con radiación UV de películas compuestas con BS con el fin de alterar sus propiedades de superficie e introducir nuevas funcionalidades, evaluando los cambios experimentados debido a la adición de I foto-iniciator;

III) evaluar la capacidad antimicrobiana de las películas activas.

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **PREPARACIÓN DE LAS SOLUCIONES Y OBTENCIÓN DE LAS PELÍCULAS**

Se utilizó carboximetilcelulosa sódica (Parafarm) y alcohol polivinílico (ELVANOL T25) proporcionado por DuPont. Las soluciones de PVA al 2 % (p/v) se prepararon por solubilización en agua destilada a 90 °C bajo agitación durante 45 min. Las soluciones de CMC se prepararon por dispersión de 1,5 % (p/v) del polímero en agua destilada a 80 °C por 24 h. Las soluciones se mezclaron en una proporción 50:50 (p/p). Las películas se prepararon mediante moldeo de las soluciones en placas de acrílico y secado en estufa a 37 °C. Se adicionó 0,1 % (p/p) de BS (Supelco) a soluciones 50:50. Algunas de las películas compuestas con BS se expusieron a luz UV a una longitud de onda de 254 nm. La intensidad de la radiación fue de 0,137 J cm<sup>-2</sup> min<sup>-1</sup>, y se midió con un Cole-Parmer Radiometer (VLX 3W, EE.UU.)

#### **ESPESOR DE LAS PELÍCULAS**

Las medidas de los espesores se realizaron utilizando un medidor electrónico CheckLine 900 (EEUU) para materiales no conductores y sustratos no ferrosos.

#### **SOLUBILIDAD DE LAS PELÍCULAS**

La solubilidad se determinó sobre muestras de 3×3cm, las que fueron pesadas y sumergidas en agua destilada. Las muestras se mantuvieron bajo agitación durante 1 h a 20 °C. Las piezas remanentes se secaron nuevamente a 105° hasta alcanzar peso constante.

#### **CONTENIDO DE HUMEDAD**

La pérdida de peso de las películas se determinó midiendo el peso a tiempo inicial y luego de ser secadas en estufa a 105 °C hasta peso constante.

#### **PROPIEDADES DE BARRERA**

La permeabilidad al vapor de agua (WVP) se determinó según una modificación del método de la ASTM E96 (Rivero y col., 2013). Los valores de permeabilidad al oxígeno (PO<sub>2</sub>) de las películas se determinaron utilizando un medidor de permeabilidad al oxígeno Oxtran-2/20 (MOCON, Modern Controls, EEUU), siguiendo el procedimiento descrito en la norma ASTM F1927-07. Los experimentos se realizaron a 23 °C y a 65 % de HR.



### **PROPIEDADES MECÁNICAS DETERMINADAS POR DMA**

Las propiedades mecánicas se analizaron mediante un equipo de análisis dinámico-mecánico térmico Q800 (TA Instruments, New Castle, EEUU) usando pinzas de tensión con un sistema de enfriamiento con N<sub>2</sub> líquido. Las muestras se cortaron de 30 mm de largo y 6 mm de ancho y se aplicó una pre-carga de 1,5 N. El ensayo se realizó a temperatura ambiente, programándose una isoterma a 25 °C y un aumento de fuerza a una velocidad de 0,6 N min<sup>-1</sup> obteniéndose las curvas de esfuerzo-deformación hasta la ruptura de las películas o hasta un máximo de 18 N.

### **PROPIEDADES TÉRMICAS DE LAS PELÍCULAS (MDSC)**

Las propiedades térmicas de las películas fueron determinadas usando un calorímetro diferencial de barrido modulado (MDSC) modelo Q100 de (TA Instruments, New Castle, Delaware, USA). Los análisis de DSC se realizaron a 10 °C min<sup>-1</sup> desde -100 a 250 °C. Luego la muestra se enfrió hasta -100 °C y se registró una segunda corrida. Los parámetros vinculados al proceso se determinaron con el software Universal Analysis V1.7F (TA Instruments).

### **DIFRACCIÓN DE RAYOS X**

Los patrones de difracción de rayos X se obtuvieron usando un equipo X'Pert Pro P Analytical Model PW 3040/60 (Holanda), utilizando la línea Cu K $\alpha$  (1.542 Å), con una diferencia de potencial de 40 kV y una densidad de corriente de 30mA. Las medidas se registraron entre 3–60° grados (2 $\theta$ ).

### **ESPECTROSCOPÍA DE INFRARROJO (FTIR)**

Los espectros de las películas fueron obtenidos por FTIR usando un IR espectrofotómetro (Nicolet, iS10 Thermo Scientific, Madison, USA) en el rango 4000-400 cm<sup>-1</sup> por acumulación de 64 barridos con una resolución de 4 cm<sup>-1</sup>.

### **MICROSCOPÍA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM)**

Los estudios de la morfología de las películas se realizaron por microscopía electrónica de barrido con un SEM FEI QUANTA 200 (Holanda), sobre muestras criofracturadas por inmersión en N<sub>2</sub> líquido.

## **CAPACIDAD ANTIMICROBIANA**

*Candida* spp. se cultivaron en caldo nutritivo que contiene extracto de malta (1 %, Biokar, Francia), extracto de levadura (2 %, Biokar, Francia) y glucosa (1 %, Merck, Alemania). *E. coli* y *Salmonella* spp. fueron cultivadas en un caldo nutritivo TSB (Caldo Triptona Soja, Merck, Alemania). Todos los cultivo se incubaron a 37 °C durante 12 h hasta que las concentraciones alcanzaran  $10^8$  UFC mL<sup>-1</sup> determinados por densidad óptica. Se prepararon diluciones 1:10 a partir de estos inóculos con agua de peptona estéril 0,1 % (Oxoid) para obtener concentraciones de  $10^7$  UFC mL<sup>-1</sup>. El inóculo de *Penicillium* spp. fue preparado por crecimiento del hongo en agar papa dextrosa (Merck, Alemania) durante 7 días a 30 °C. La capacidad antimicrobiana de las películas se determinó mediante el método de difusión en agar descrito por Rivero *et al.* (2013).

## **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Para el análisis de los resultados obtenidos se empleó el test de comparación de medias de Fisher (LSD) y análisis de varianza (ANOVA), utilizando el paquete estadístico Systat (versión 10, USA), con un nivel de significación de 0,05.

## **4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS, DE BARRERA Y MECÁNICAS**

En la Tabla 1 se muestran los valores de humedad, y las propiedades mecánicas y de barrera. Excepto en el caso del esfuerzo, las películas de CMC y PVA presentaron los valores extremos de las variables, mientras que las compuestas tuvieron comportamientos intermedios.

Como era de esperar, las películas de CMC presentan los valores más altos de WVP, en contraste con bajos valores de WVP para películas de PVOH, atribuidos a la alta cristalinidad del polímero. Las películas fotoentrecruzadas mostraron WVP similares a películas compuestas sin tratar ( $P > 0,05$ ). Teniendo en cuenta la  $PO_2$ , se observó tendencia similar como se puede ver en la Tabla 1.

Todas las películas se solubilizaron por completo mientras que en las matrices compuestas con agregado de BS y tratadas con UV la solubilidad fue del 57 %, manteniendo su integridad estructural.

## PROPIEDADES TÉRMICAS

La MDSC ha sido extensamente usada para investigar la miscibilidad de las mezclas de polímeros. Los termogramas de CMC, PVA y su mezcla 50:50 se muestran en la Figura 2. Se observó un pico endotérmico localizado a 127,5 °C, el cual fue atribuido a la pérdida de humedad residual de las películas de CMC. El termograma del PVA desplegó dos picos endotérmicos. El primero a 129 °C se asigna al efecto térmico debido a la evaporación de humedad de la muestra, con una entalpía de 131 J g<sup>-1</sup> y una transición endotérmica a 207 °C con una entalpía de 41,2 J g<sup>-1</sup>, atribuida a la fusión de la fase cristalina (Hasimi y col., 2008). Las películas compuestas mostraron que el pico endotérmico correspondiente a la fusión de la fase cristalina del PVA se corrió hacia valores más bajos. Asimismo el valor de la entalpía correspondiente resultó menor. El grado de cristalinidad de la muestra de PVA estuvo en el rango 27 % según la metodología descrita por Hasimi y col. (2008). La cristalinidad de la película compuesta sin tratamiento fue 21 %, valor superior al obtenido para estas películas en presencia de BN y sometidas a la radiación UV (13 y 10 %, respectivamente).

## ANÁLISIS DE DIFRACCIÓN DE RAYOS X

Los espectros de difracción de rayos X se utilizaron para estimar la cristalinidad de las películas puras y compuestas. Patrones típicos de XRD de películas de PVOH y CMC y su mezcla con y sin tratamiento UV están representados en la Figura 3. El espectro de difracción de rayos X de la película de CMC exhibió un pico en  $2\theta = 21^\circ$ , mientras que el espectro de PVA evidenció un pico de difracción a  $2\theta = 19,7^\circ$ . Los picos de difracción de CMC: PVA se ubicaron en  $2\theta = 19,7$  y  $10,7^\circ$ , siendo su grado de cristalinidad del 22,5 %. Este resultado indicaría la formación de una nueva estructura de PVA/ CMC, como consecuencia de los enlaces de hidrógeno entre -OH y -COONa de CMC y OH de las moléculas de PVA.

Hubo un cambio perceptible en la intensidad del pico de la mezcla en comparación con las películas formuladas con polímeros puros, cuyos valores de cristalinidad fueron 27 y 11 % para PVA y CMC, respectivamente. Se observó que la cristalinidad de PVA se vio afectada por la presencia del otro componente, CMC. Teniendo en cuenta las películas compuestas con la adición de BS, con y sin tratamiento con radiación UV, no se observaron diferencias significativas ( $P > 0,05$ ) en comparación con la matriz formulada con la mezcla sin BS.

## ESPECTROSCOPÍA INFRARROJA CON TRANSFORMADA DE FOURIER

Los espectros FTIR de las películas compuestas difirieron de los correspondientes a las películas de los polímeros puros. El pico a  $1600\text{ cm}^{-1}$  se asignó a las absorciones características de la vibración de tensión asimétrica del  $\text{COO}^-$  de la CMC. La fuerte banda de absorción a  $1600\text{ cm}^{-1}$  se puso de manifiesto en las películas compuestas. Sobre la base de estos resultados, es probable que los grupos  $\text{COO}^-$  y  $\text{OH}$  de la CMC participen en enlaces de hidrógeno intermoleculares con los grupos  $\text{OH}$  del PVA. En los espectros FTIR de películas compuestas con la adición de BS se observó la aparición de un hombro a  $1556\text{ cm}^{-1}$  y un pico de absorción a  $725\text{ cm}^{-1}$  que desapareció en las películas compuestas expuestas a radiación, revelando la foto-descomposición del sensibilizador. Se produjo una intensificación del pico a  $1141\text{ cm}^{-1}$  en presencia de BS y BS+UV (Figura 4).

Por el contrario la banda a  $1418\text{ cm}^{-1}$  disminuyó su intensidad con la adición de BS y la misma aumentó luego de la exposición a luz UV (Miranda y col., 2001).

## ANÁLISIS MICROESTRUCTURAL

A pesar de que el PVA y CMC son compuestos polihidroxi solubles en agua y exhiben excelente miscibilidad en soluciones acuosas, en estado sólido demostraron ser sólo parcialmente miscibles. El PVA es un material suave y elástico, mientras que la CMC es más rígida y dura.

Desde el punto de vista microscópico, las películas puras presentaron un aspecto homogéneo, con una buena integridad estructural. Teniendo en cuenta la película de material compuesto, los dos polímeros se presentaron como materiales intercalados, formando una red de aspecto levemente granular (Figura 5a). Esta falta de homogeneidad se hizo más acentuada en presencia de benzoato de sodio. Tal como muestra la Figura 5b, hay dominios claros y regiones oscuras, posiblemente debido a la modificación del grado de cristalinidad tal como se pudo observar por rayos X (Cortázar y col., 1982). Cuando las películas compuestas con adición de BS se sometieron a tratamiento con luz UV se produjeron cambios estructurales, presentando una apariencia de un retículo como un panal de abejas (Figura 5c). Las imágenes microscópicas revelaron que la morfología de las superficies de las películas puras y compuestas con y sin la adición de SB fue suave. En tanto las matrices compuestas que se sometieron a la luz UV, presentaron superficies más rugosas en relación a aquellas sin tratamiento.

## CAPACIDAD ANTIMICROBIANA

En todos los casos, la concentración más diluida de inóculo permitió una mejor visualización del efecto inhibitor de la película. La Figura 6 muestra la placa de agar con películas control y matrices CMC: PVOH / SB con y sin tratamiento UV para todos los microorganismos ensayados. Como era de esperar la muestra control no inhibió el crecimiento microbiano. Las películas que contenían BS en su formulación inhibieron el crecimiento microbiano por contacto con el medio de cultivo, independientemente del microorganismo ensayado. En el caso de *Candida* spp. (Figura 6b), la inhibición fue completa después de 24 h de incubación. Como puede verse en la Figura 6 las películas que contienen BS mantuvieron su capacidad antimicrobiana después del tratamiento UV.

## 5. CONCLUSIONES

Los nuevos materiales obtenidos presentaron diferente estabilidad térmica y química que la de los componentes individuales. Teniendo en cuenta los resultados obtenidos para las películas compuestas, así como películas tratadas con UV, la PO<sub>2</sub> mostró un valor muy bajo que permita su aplicación como envases con permeabilidad selectiva de oxígeno. El análisis térmico, rayos-X, SEM y FT-IR evidencian los cambios microestructurales que ocurrieron en la matriz, ya que proporcionaron información adicional sobre la modificación inducida ya sea por la presencia de BS o por el tratamiento con UV. Los espectros de FT-IR reflejaron cierto grado de interacción polímero-polímero a un nivel molecular en las regiones amorfas, especialmente en películas compuestas en presencia de SB. En resumen, la incorporación de BS combinado con UV en películas compuestas fue positiva debido a la inhibición del crecimiento de un amplio espectro de microorganismos. Mientras tanto desde un punto de vista fisicoquímico el tratamiento UV de las películas compuestas en presencia de BS cambió su morfología tornándolas más insoluble en agua, convirtiendo las películas compuestas funcionalizadas en un material potencialmente aplicable en el envasado de alimentos.

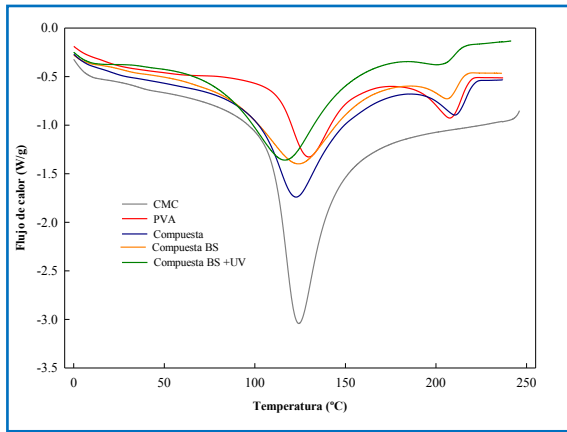
## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CORTÁZAR, M., Sarasola, C. y Guzman, G.M. (1982). "X-Ray analysis of the influence of various nucleating agents on the crystallinity of poly-e-butene". *European Polymer Journal*, 18: 439-442.
- DETDUANGCHAN, N. y Wittaya, T. (2011). "Effect of UV-treatment on properties of biodegradable film from rice starch". *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 57: 464-469.
- HASIMI, A., Stavropoulou, K.G., Papadokostaki, M. y Sanopoulou. (2008). "Transport of water in polyvinyl alcohol films: Effect of thermal treatment and chemical crosslinking". *European Polymer Journal*, 44: 4098-4107.
- IBRAHIM, M.M., Koschella, A., Kadry, G y Heinze, T. (2010). "Evaluation of cellulose and carboxymethyl cellulose/ poly(vinyl alcohol) membranes". *Carbohydrate Polymers*, 95: 414- 420
- MIRANDA, T.M.R., Goncalves, A.R. y Pessoa Amorim, M.T. (2001). "Ultraviolet-induced crosslinking of poly(vinyl alcohol) evaluated by principal component analysis of FTIR spectra". *Polymer International*, 50: 1068-1072.
- PARK, J.-S. Park, J.-W. y Ruckenstein, E. (2001). "Thermal and dynamic mechanical analysis of PVA/MC blend hydrogels". *Polymer*, 42: 4271-4280.
- RAMAKRISHNA, P., Mallikarjuna, B., Chandra Babu, A., Sudhakar, P., Chowdoji Rao, K. y Subha, M. (2011). "Interpenetrating polymer network of crosslinked blend microspheres for controlled release of Acebutolol HCl". *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 1: 212-219.
- RIVERO S, Giannuzzi L, Garcia M.A, Pinotti A. (2013). "Controlled delivery of propionic acid from chitosan films for pastry dough conservation". *Journal Food Engineering*, 116, 524-531.

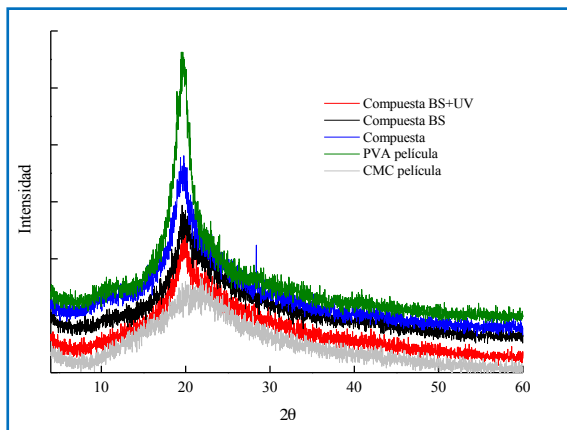
## 7. TABLAS Y FIGURAS

**TABLA 1.** Contenido de humedad, propiedades de barrera y mecánicas de las películas de un solo componente y compuestas con diferentes tratamientos

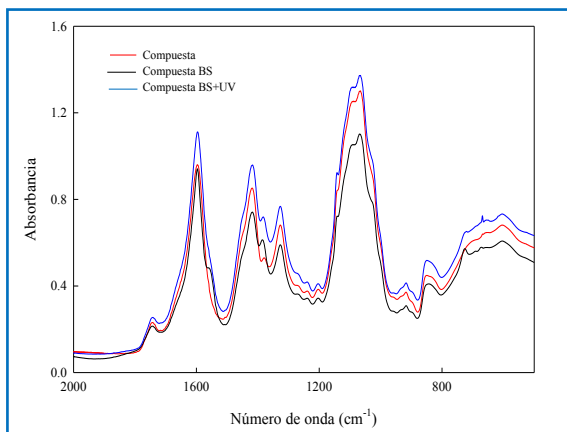
| Formulación       | Humedad<br>(g /100 g <sub>película</sub> ) | WVP 10 <sup>11</sup><br>(g s <sup>-1</sup> m <sup>-1</sup> Pa <sup>-1</sup> ) | PO <sub>2</sub> x 10 <sup>13</sup><br>(cm <sup>3</sup> m <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> Pa <sup>-1</sup> ) | Esfuerzo<br>(MPa)        | Elongación<br>%          |
|-------------------|--|---|---|--------------------------|--------------------------|
| PVA               | 5,24 (0,3) <sup>a</sup>                    | 0,83 (0,4) <sup>a</sup>   | 1,97 (1,2) <sup>a</sup>   | 48,39 (1,3) <sup>a</sup> | 87,40 (3,9) <sup>a</sup> |
| CMC               | 24,06 (0,5) <sup>b</sup>                   | 7,68 (0,9) <sup>b</sup>   | 34,28 (3,5) <sup>b</sup>  | 46,59 (4,6) <sup>a</sup> | 2,09 (0,6) <sup>b</sup>  |
| Compuesta         | 16,08 (0,6) <sup>b</sup>                   | 2,07 (0,1) <sup>ac</sup>  | 8,34 (6,5) <sup>c</sup>   | 43,25 (2,9) <sup>a</sup> | 5,76 (0,9) <sup>c</sup>  |
| Compuesta BS      | 15,62 (0,5) <sup>bc</sup>                  | 3,07 (0,6) <sup>c</sup>   | 14,45 (0,9) <sup>d</sup>  | 35,43 (3,3) <sup>b</sup> | 15,63(0,6) <sup>d</sup>  |
| Compuesta BS + UV | 14,89 (0,1) <sup>c</sup>                   | 2,02 (0,2) <sup>ac</sup>  | 8,84 (6,4) <sup>c</sup>   | 34,88 (2,0) <sup>b</sup> | 11,29 (1,1) <sup>e</sup> |



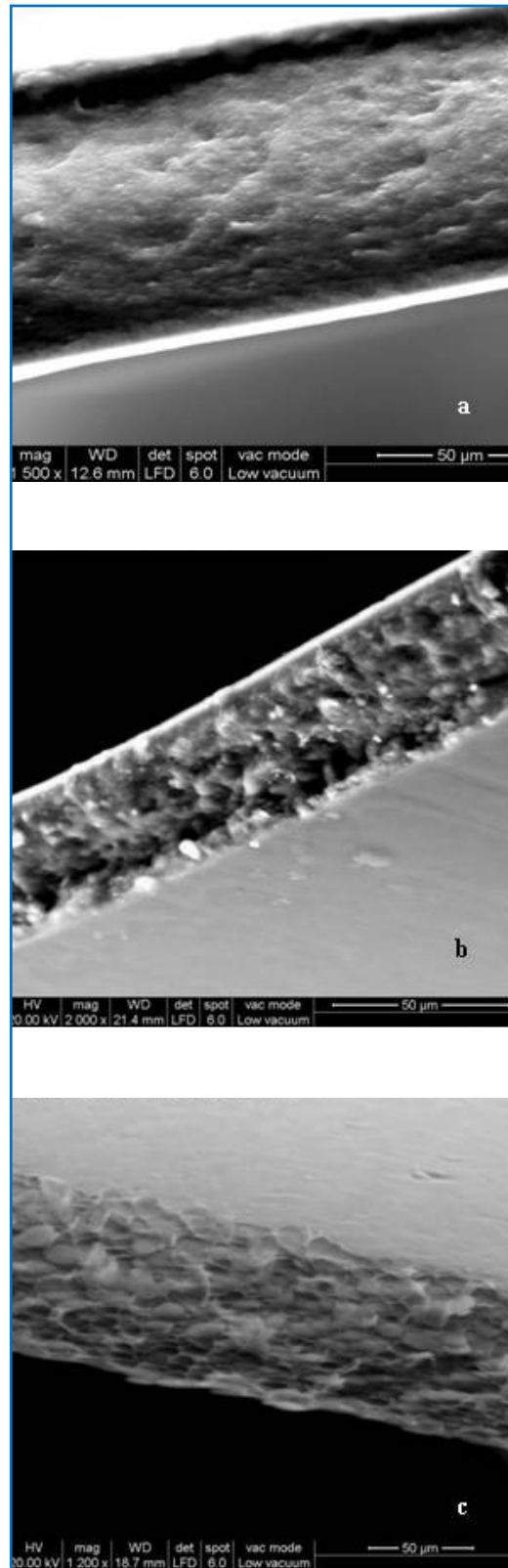
**FIGURA 2.** Termogramas de películas puras y compuestas obtenidas por MDSC



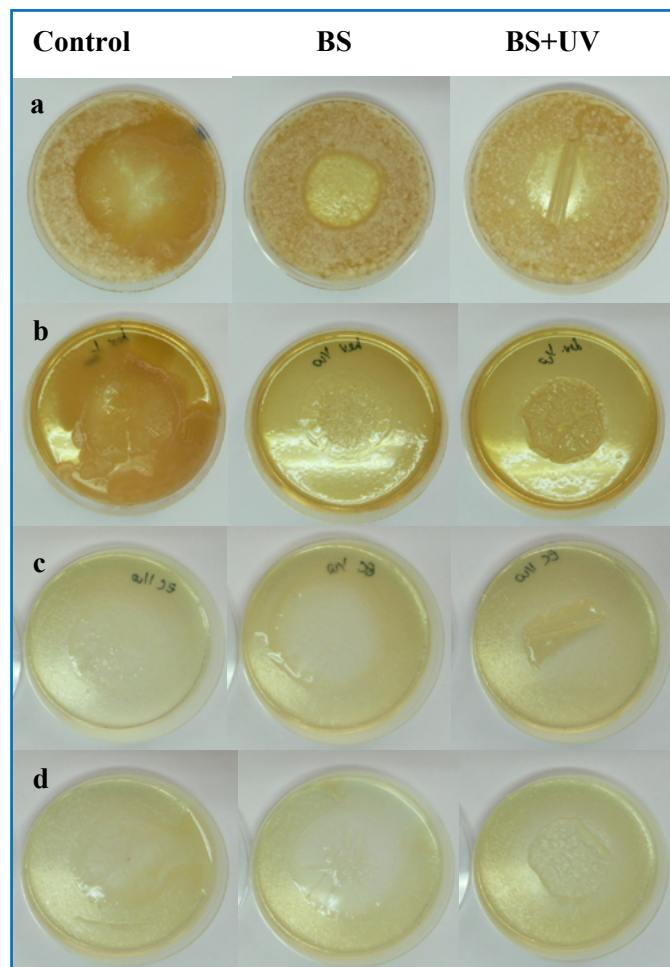
**FIGURA 3.** Difractogramas de rayos X de películas puras y compuestas



**FIGURA 4.** Espectros FTIR de películas compuestas 50:50, compuestas BS y compuestas BS+ UV



**FIGURA 5.** Micrográfías obtenidas por SEM de películas compuestas 50:50 (a), compuestas con adición de BS sin (b) y con tratamiento UV (c)



**FIGURA 6.** Propiedades antimicrobianas de películas compuestas control y matrices conteniendo BS con y sin radiación UV incubadas a 37 ° C contra a) *Penicillium* sp., b) *Candida* spp., c) *E. coli* y d) *Salmonella* spp.



# MATERIALES ECO-COMPATIBLES DE ALMIDÓN DE MANDIOCA TERMOPLÁSTICO Y RESIDUOS FIBROSOS

Florencia Versino<sup>1</sup>, Olivia Valeria López<sup>1,2</sup>, María Alejandra García<sup>1</sup>

## 1. RESUMEN

El desarrollo de materiales eco-compatibles permite reducir la contaminación ambiental generada por el uso de sintéticos, siendo esta una temática de interés mundial. Con el fin de mejorar las propiedades del almidón termoplástico (TPS) de mandioca, se utilizaron como material de relleno, la cáscara y el bagazo resultante de la extracción de almidón de la raíz. El TPS se obtuvo por plastificación del almidón con glicerol y agua, mediante un proceso de mezclado en fundido en una mezcladora Brabender Plastograph. Las películas se obtuvieron por termo compresión (140 °C-150 kg/cm<sup>2</sup>-6 min). Se evaluó el efecto de la concentración de los refuerzos (0,5 y 1,5 g/100g de almidón) en las propiedades mecánicas y de barrera del material. La permeabilidad al vapor de agua (WVP) se midió en un equipo Permatran 3/33-Mocon (ASTM F 1249-89). Se realizaron ensayos de esfuerzo-deformación en un analizador dinámico mecánico (DMA Q800) y se calcularon el módulo elástico, el esfuerzo de tensión máximo y la elongación a la ruptura. Las muestras y rellenos se observaron por microscopía electrónica de barrido (SEM) con un microscopio JEOL JSM 6360. Las medidas de color superficial de las películas se realizaron con un colorímetro Minolta CR 400; y se analizó su capacidad de barrera al UV con un espectrofotómetro U-1900 HITACHI. La composición química y la distribución de tamaño de partículas de los subproductos explicaron su morfología y las modi-

---

CONTACTO: María A. García [magarcia@quimica.unlp.edu.ar](mailto:magarcia@quimica.unlp.edu.ar)

1. CIDCA (Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecología de Alimentos), Facultad de Ciencias Exactas Universidad Nacional de La Plata – Centro Científico Tecnológico La Plata (CCT-La Plata) CONICET, 47 y 116 S/n.º, La Plata (B1900AJJ), Buenos Aires, Argentina.

2. Planta Piloto de Ingeniería Química, PLAPIQUI (UNS-CO-NICET), Departamento de Ingeniería Química, UNS, Camino La Carrindanga km. 7, (8000) Bahía Blanca, Argentina

ficaciones de las propiedades mecánicas y de barrera de los materiales compuestos. Las condiciones de procesamiento favorecieron las interacciones almidón-relleno, permitiendo reducir los requerimientos energéticos del proceso. La compatibilidad matriz-relleno se demostró por espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR) y análisis térmico. El relleno aumentó la capacidad de barrera al UV y la opacidad de los materiales, manteniendo su WVP. Ambos subproductos reforzaron las matrices de TPS a pesar de su baja concentración. Asimismo, el agregado de 1.5 % de bagazo aumentó el módulo elástico 260 % y la tensión máxima a la tracción 128 %, siendo éste el refuerzo más eficiente debido a su alto contenido de almidón residual y menor tamaño de partículas. El uso de residuos agro-industriales como material de refuerzo es una opción de bajo costo que no afecta el carácter compostable de la matriz y da lugar a un aprovechamiento integral de la raíz.

## 2. INTRODUCCIÓN

La mandioca (*Manihot esculenta*) constituye la tercer fuente alimenticia en las regiones tropicales (Teixeira *et al.*, 2012). La raíz, derivados y subproductos, son utilizados en la industria alimenticia y farmacéutica, en la manufactura de papel y de textiles, y como forraje para animales. Además, el almidón de mandioca se utiliza como materia prima para materiales biodegradables para envasado y conservación de alimentos, u otros fines que no requieran una prolongada durabilidad del envase (Pasquini *et al.*, 2010; Teixeira *et al.*, 2012; Teixeira *et al.*, 2009; Versino and García, 2014). Sin embargo, debido a las múltiples transiciones de fase que presenta el almidón, la microestructura y propiedades mecánicas de los materiales derivados dependen de las técnicas y condiciones de procesamiento (Liu *et al.*, 2009; Liu *et al.*, 2013). Al respecto, el almidón termoplástico (TPS, por sus siglas en inglés) obtenido por plastificación a alta temperatura representa una prometedora alternativa para el desarrollo de biomateriales. Asimismo, con el fin de mejorar sus propiedades mecánicas, se han estudiado distintos materiales fibrosos de origen natural (Azwa *et al.*, 2013; Da Róz *et al.*, 2006; Ludueña *et al.*, 2012; Shalwan and Yousif, 2013) como rellenos para matrices compuestas. Estos biocompuestos presentan enormes ventajas respecto a los materiales convencionales, ya que muestran una considerable resistencia mecánica y flexibilidad, son fácilmente procesados, reciclables y ecológicos. Así, el presente trabajo se centra en el estudio de la cáscara y bagazo de mandioca obtenidos

como remanentes de la extracción del almidón de la raíz, como relleno para materiales biocompuestos de almidón termoplástico de mandioca. Además, se estudió la composición de los subproductos, su compatibilidad con la matriz y su efecto sobre las propiedades mecánicas y de barrera del material resultante.

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **MATERIALES Y PROCESAMIENTO**

Se empleó almidón de mandioca extraído por el método optimizado previamente por López *et al.* (2010), a partir de raíces tuberosas cultivadas en la Estación Experimental Agropecuaria perteneciente al INTA Montecarlo (Misiones, Argentina). Las cáscaras y el remanente de la extracción del almidón (bagazo) se secaron a 50 °C, se procesaron y tamizaron con un tamiz de malla normalizada (500µm).

El TPS se obtuvo por plastificación de almidón de mandioca con glicerol (30 % p/p) y agua (45 % p/p), mediante un proceso de mezclado en fundido en una mezcladora Brabender Plastograph (140 °C-50rpm-15min). Las mezclas con (0,5 y 1,5 % p/p) y sin relleno se acondicionaron a 25 °C y 60 % HR; y, las películas se obtuvieron por termo-compresión (140 °C-150 kg/cm<sup>2</sup>-6 min).

#### **CARACTERIZACIÓN**

La composición química de los subproductos y su distribución de tamaño de partículas se determinó como se detalló en un trabajo anterior (Versino and García, 2014). Las interacciones entre la matriz de TPS y los residuos se evaluaron por espectrofotometría infrarroja (FTIR) en un espectrofotómetro Thermo Nicolet Nexus (Milwaukee, USA) utilizando pastillas de KBr al 3 % p/p.

La homogeneidad y apariencia de las películas se evaluó visualmente y por SEM con un microscopio electrónico de barrido JEOL JSM 6360 (Japón). Las medidas de color superficial se realizaron con un colorímetro Minolta (CR 400, Osaka, Japón), evaluándose los parámetros de: luminosidad ( $L^*$ ), chroma ( $C^*$ ), hue ( $H^\circ$ ) y la diferencia de color ( $\Delta E$ ). La opacidad y capacidad de barrera a la luz UV de las películas se determinaron a partir de la integración de los espectros de absorbancia en el espectro UV-visible, obtenidos en un espectrofotómetro U-1900 (HITACHI, Japón) (Castillo *et al.*, 2013). El espesor se evaluó con un medidor electrónico de espesores Check Line DCN-900.

La permeabilidad al vapor de agua (WVP) de las muestras se determinó en un equipo PERMATRAN-W® Modelo 3/33 (Mocon Inc., USA) estandarizado bajo la norma ASTM F 1249-89. El comportamiento mecánico de las películas se analizó mediante ensayos de tracción en un analizador dinámico mecánico (DMA Q800, TA Instruments, USA), y la curva obtenida esfuerzo-deformación se modeló matemáticamente para estimar el módulo de elasticidad (E) de las muestras. La transición vítrea se estudió mediante ensayos modulados de frecuencia por DMA y la estabilidad térmica se evaluó en un calorímetro diferencial de barrido modulado MDSC (Q100, TA Instruments, USA).

Para el análisis estadístico de resultados se utilizó el software Systat® (Versión 10.0). Se efectuó el análisis de varianza (ANOVA) y la comparación de medias mediante la prueba de la diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher, con un nivel de significación  $p = 0,05$ .

#### **4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

A partir del proceso de extracción del almidón de mandioca se obtienen dos sub-productos principales: el bagazo y la cáscara. La cáscara presenta un alto contenido de fibras (55 %) y lignina (24 %), mientras que el bagazo se conforma principalmente de carbohidratos (83 %), los cuales se estima que son en su mayoría almidón remanente, (Tabla 1). Esta diferencia en la composición química también se vio reflejada en la distribución de tamaños de partícula de los residuos, ya que en el bagazo predominan las partículas pequeñas ( $<53\mu\text{m}$ ), posiblemente debido al alto contenido de almidón; en tanto que la cáscara presenta una mayor proporción de partículas de mayor tamaño (300-250 $\mu\text{m}$ ), (Figura 1).

Los espectros FTIR tanto del bagazo como de la cáscara (Figura 2) muestran una marcada diferencia en los picos de absorción a  $1518\text{ cm}^{-1}$ , característico de la lignina, y en el ancho y posición de la banda a  $3400\text{ cm}^{-1}$ , correspondiente al estiramiento de los grupos OH. Estos resultados se corresponden con las diferencias en la composición química de los residuos, en especial debido al mayor contenido de lignina y proteína de la cáscara (Tabla 1). Por otro lado, las muestras de TPS mostraron los picos característicos propios del almidón, el glicerol y su interacción con el agua. Los picos a  $1642\text{ cm}^{-1}$  se asignaron a la flexión del agua absorbida. Los picos alrededor de  $1420\text{ cm}^{-1}$  se asignan a enlaces O-H. Los picos en  $1155$  y  $1040$

$\text{cm}^{-1}$  se atribuyeron al estiramiento del enlace C-O del grupo C-O-H en almidón de mandioca y al estiramiento del enlace C-O del grupo C-O-C en el anillo de anhidroglucosa, respectivamente. Además, el pico detectado en  $1456 \text{ cm}^{-1}$  se atribuyó al glicerol (Zhang and Han, 2006). Los espectros de los compuestos de TPS reforzados, independientemente del tipo de relleno utilizado, presentaron las señales correspondientes principalmente a la matriz de TPS, con intensidades relativamente débiles de las bandas características de los rellenos, probablemente debido a las bajas concentraciones empleadas.

En forma análoga, análisis de frecuencia termodinámicos realizados por DMA (Figura 3a) mostraron con la inclusión de los rellenos un incremento de la temperatura de transición vítrea a mayores temperaturas ( $T_{g2}$ ), siendo esta variación mayor para los materiales conteniendo cáscara. Resultados similares fueron informados para matrices de TPS de maíz rellenos con fibras naturales (Gironès *et al.*, 2012; Muller *et al.*, 2014). Dicho incremento en las temperaturas de transición podría indicar fuertes interacciones de puentes de hidrógeno entre el material de refuerzo y la matriz de almidón, lo cual está en concordancia con los cambios observados por FTIR en la banda situada en torno a  $3400 \text{ cm}^{-1}$ . Igualmente, la temperatura de fusión del material ( $T_m$ ) también aumentó con el contenido de refuerzos (Figura 3b). Por el contrario, la temperatura de transición vítrea a menores temperaturas ( $T_{g1}$ ) no presenta diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). La  $T_{g1}$  se atribuye a la fase rica en glicerol de la matriz de TPS (Muller *et al.*, 2014); por tanto, considerando que todas las formulaciones contienen la misma concentración de plastificante en su formulación, la invariancia de  $T_{g1}$  es congruente.

En general las películas de TPS presentaron un aspecto homogéneo y transparente, con una tonalidad ligeramente amarronada. El efecto del agregado de refuerzos naturales en la matriz sobre los parámetros de color se puede ver en la Tabla 2. Por un lado, se observó una disminución significativa ( $p < 0,05$ ) en la luminosidad ( $L^*$ ) de las películas con el agregado de cáscara, mientras que los parámetros Chroma ( $C^*$ ) y diferencia de color ( $\Delta E$ ) aumentaron. Sin embargo, el cambio en el tono ( $h^\circ$ ) fue menor. Bodirlau *et al.* (2013) señalan que los rellenos con tamaño de partícula mayores que las longitudes de onda del visible pueden obstruir la luz, disminuyendo la transparencia de las películas biocompuestas a base de almidón. En consecuencia, cuanto mayor sea el tamaño de partícula menor será la transmisión de la luz. En nuestro caso, la cáscara con tamaños de partícula más grandes que el

bagazo llevó a compuestos de TPS con valores de luminosidad más bajos y valores de opacidad más altos a la misma concentración (Tabla 2). En forma análoga, se observó un incremento en la absorbancia de las películas reforzadas en la porción UV del espectro (Tabla 2). Para estimar la capacidad de bloqueo de la radiación UV de las películas de TPS reforzadas con subproductos de mandioca, se calculó la barrera UV como el área bajo la curva de absorción en la región UV (200-400 nm) del espectro. El efecto de barrera de la cáscara fue mayor que el del bagazo, lo cual se atribuye al mayor contenido de lignina del relleno, cuyos componentes fenólicos absorben en esta región.

La Figura 4 muestra las curvas de ensayo de tracción-deformación correspondientes a películas de TPS de mandioca y los biocompuestos que contienen ambos subproductos de la mandioca, las cuales no evidencian modificación del comportamiento dúctil de las películas con la incorporación de los rellenos (López *et al.*, 2014). Además, la incorporación de ambos agentes de refuerzo dio lugar a películas más fuertes: se observó un incremento en la fuerza de tracción máxima ( $\sigma_m$ ) y los valores de módulo elástico (E) de las películas de TPS de mandioca (Figura 4). Por un lado, la adición de bagazo de mandioca aumentó significativamente ( $p < 0,05$ ) los parámetros  $\sigma_m$  y E de las películas de TPS, siendo dichos cambios más importantes para las concentraciones más altas de relleno (1,5 % p/p). Así, la  $\sigma_m$  de los materiales compuestos TPS-1.5B fue 128 % mayor que el valor correspondiente al de la matriz de TPS, mientras que el E se incrementó 2,6 veces con la incorporación de 1,5 % p/p de bagazo. La naturaleza fibrosa del bagazo, así como el contenido de almidón remanente podrían ser responsables de la capacidad de refuerzo de este relleno. Resultados similares han sido informados por otros autores para películas de almidón reforzadas con fibras de diferentes orígenes (Bodirlau *et al.*, 2013; Gáspár *et al.*, 2005; Gironès *et al.*, 2012; Lu *et al.*, 2006; Müller *et al.*, 2009; Vallejos *et al.*, 2011). El aumento significativo de la resistencia mecánicas de las películas de TPS puede atribuirse a la adhesión intrínseca entre el relleno y la matriz, debido a la similitud química entre el almidón y las fibras de bagazo (Ma *et al.*, 2005; Müller *et al.*, 2009). Además, las películas de TPS reforzadas con 1,5 % p/p bagazo exhibieron mayor  $\sigma_m$  y E que aquellos con el mismo contenido de cáscara, lo que evidencia la mayor eficiencia del bagazo como agente de refuerzo (Figura 4). Este resultado se puede atribuir principalmente a dos contribuciones: en primer lugar, puede estar asociado al

mayor contenido de almidón residual en el bagazo, lo que contribuye al desarrollo de una matriz de estructura densa; y en segundo lugar, a la diferencia en el contenido de fibra en ambos subproductos. Especialmente, cabe resaltar que la presencia de 1,5 % p/p de cáscara de mandioca en la matriz de TPS condujo a una disminución en  $\sigma_m$  y E respecto a los compuestos con menor concentración (0,5 % p/p). Este comportamiento puede estar relacionado con un mayor contenido de partículas más grandes que podrían promover la formación de defectos estructurales. Con respecto a la deformación máxima a la ruptura ( $\epsilon_B$ ), la adición de 0,5 % p/p de bagazo no afectó significativamente ( $p > 0,05$ ) este parámetro, mientras que la incorporación de 1,5 % p/p de este subproducto la aumentó un 42 %. Este resultado podría atribuirse a una buena orientación y dispersión del bagazo en la matriz de TPS, logrado durante el procesamiento en fundido y termo-compresión, que mejora la capacidad del material para deformarse hasta la fractura. Aunque la adición de cáscara condujo a un incremento en los valores de  $\epsilon_B$  de películas de almidón, este efecto no fue significativo ( $p > 0,05$ ), (Figura 4).

Debido al carácter hidrofílico del almidón, los materiales a base de TPS tienen propiedades de barrera al vapor de agua pobre y una alternativa para superar esta limitación es incorporar diferentes rellenos. Los valores obtenidos para la WVP de las películas de TPS de mandioca estudiadas fueron similar a los reportados para materiales a base de almidón de diferentes orígenes botánicos: siendo el valor medio para TPS de mandioca de  $1,49 \times 10^{-10}$  g/s m Pa. López *et al.* (2014) informaron una WVP de  $1,36 \times 10^{-10}$  g/s m Pa para películas de TPS maíz, desarrolladas por mezcla en estado fundido y termo-compresión. Contrariamente a lo esperado, la incorporación de rellenos fibrosos derivados de la mandioca no tuvo una influencia significativa ( $p > 0,05$ ) sobre la WVP de las películas de TPS de mandioca obtenidas por termo-compresión. Este comportamiento puede atribuirse a que si bien la presencia del relleno aumenta la tortuosidad del camino que deben atravesar las moléculas de agua, llevando a una disminución de los valores WVP el método de procesamiento podría promover la generación de huecos y defectos estructurales en la matriz que faciliten el transporte de moléculas de agua, aumentándola. La compensación de estos factores permite a explicar los resultados obtenidos.

## 5. CONCLUSIONES

Los subproductos de la obtención de almidón de mandioca –cáscara y bagazo– fueron procesados y caracterizados para ser utilizados como material de relleno en películas de almidón termoplástico de mandioca. La cáscara contenía mayores cantidades de fibra y proteína que el bagazo, siendo el almidón el componente principal del segundo. Además, la cáscara presentó una distribución de tamaño de partículas con una mayor proporción de partículas más grandes ( $>250\mu\text{m}$ ), lo que afectó tanto la morfología como las propiedades mecánicas y de barrera de las películas de TPS.

Bajo las condiciones de procesamiento estudiadas se favorecieron las interacciones entre el almidón y el relleno, lo cual se evidenció en el análisis de FTIR. Asimismo, las propiedades térmicas de los materiales compuestos de TPS concuerdan con los cambios observados en las bandas de absorción por FTIR. Los incrementos observados en  $Tg_2$  y  $Tm$  se atribuyen a una composición más heterogénea, así como a una fuerte interacción entre los componentes.

Los rellenos aumentaron la capacidad UV-barrera y la opacidad de los materiales a base de TPS, en especial aquellos que contienen cáscara, siendo este efecto dependiente de la concentración empleada. Por el contrario, las propiedades de barrera al vapor de agua no fueron afectadas por la inclusión de la cáscara o el bagazo de mandioca. Sin embargo, a pesar de las bajas concentraciones utilizadas, ambos subproductos reforzaron la matriz de TPS, siendo el bagazo el agente de refuerzo más eficiente debido a su alto contenido de almidón residual y mayor proporción de partículas más pequeñas ( $<53\mu\text{m}$ ).

De esta manera, se propuso una alternativa para el aprovechamiento integral de raíces de mandioca: se desarrollaron materiales biocompuestos de TPS de mandioca y los subproductos resultantes de la extracción de almidón (cáscara y bagazo) como agentes de refuerzo.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AZWA, Z.N., Yousif, B.F., Manalo, A.C., Karunasena, W., 2013. A review on the degradability of polymeric composites based on natural fibres. *Mater. Des.* 47, 424-442.
- BODIRLAU, R., Teaca, C.-A., Spiridon, I., 2013. Influence of natural fillers on the properties of starch-based biocomposite films. *Compos Part B-Eng* 44, 575-583.



- CASTILLO, L., Lopez, O., Lopez, C., Zaritzky, N., Garcia, M.A., Barbosa, S., Villar, M., 2013. Thermoplastic starch films reinforced with talc nanoparticles. *Carbohydr Polym* 95, 664-674.
- DA RÓZ, A.L., Carvalho, A.J.F., Gandini, A., Curvelo, A.A.S., 2006. The effect of plasticizers on thermoplastic starch compositions obtained by melt processing. *Carbohydr Polym* 63, 417-424.
- GÁSPÁR, M., Benkő, Z., Dogossy, G., Réczey, K., Czigány, T., 2005. Reducing water absorption in compostable starch-based plastics. *Polym Degrad Stabil* 90, 563-569.
- GIRONÈS, J., López, J.P., Mutjé, P., Carvalho, A.J.F., Curvelo, A.A.S., Vilaseca, F., 2012. Natural fiber-reinforced thermoplastic starch composites obtained by melt processing. *Compos Sci Technol* 72, 858-863.
- LIU, H., Xie, F., Yu, L., Chen, L., Li, L., 2009. Thermal processing of starch-based polymers. *Prog. Polym. Sci.* 34, 1348-1368.
- LIU, X., Wang, Y., Yu, L., Tong, Z., Chen, L., Liu, H., Li, X., 2013. Thermal degradation and stability of starch under different processing conditions. *Starch-Stärke* 65, 48-60.
- LÓPEZ, O.V., Castillo, L.A., García, M.A., Villar, M.A., Barbosa, S.E., 2014. Food packaging bags based on thermoplastic corn starch reinforced with talc nanoparticles. *Food Hydrocolloid*.
- LÓPEZ, O.V., Viña, S.Z., Pachas, A.N.A., Sisterna, M.N., Rohatsch, P.H., Mugridge, A., Fassola, H.E., García, M.A., 2010. Composition and food properties of *Pachyrhizus* ahiparoots and starch. *Int. J. Food Sci. Tech.* 45, 223-233.
- LU, Y., Weng, L., Cao, X., 2006. Morphological, thermal and mechanical properties of ramie crystallites—reinforced plasticized starch biocomposites. *Carbohydr Polym* 63, 198-204.
- LUDUEÑA, L., Vázquez, A., Alvarez, V., 2012. Effect of lignocellulosic filler type and content on the behavior of polycaprolactone based eco-composites for packaging applications. *Carbohydr Polym* 87, 411-421.
- MA, X., Yu, J., Kennedy, J.F., 2005. Studies on the properties of natural fibers-reinforced thermoplastic starch composites. *Carbohydr Polym* 62, 19-24.
- MÜLLER, C.M.O., Laurindo, J.B., Yamashita, F., 2009. Effect of cellulose fibers addition on the mechanical properties and water vapor barrier of starch-based films. *Food Hydrocolloid* 23, 1328-1333.
- MULLER, P., Renner, K., Moczo, J., Fekete, E., Pukanszky, B., 2014. Thermoplastic starch/wood composites: interfacial interactions and functional properties. *Carbohydr Polym* 102, 821-829.
- PASQUINI, D., Teixeira, E.d.M., Curvelo, A.A.d.S., Belgacem, M.N., Dufresne, A., 2010. Extraction of cellulose whiskers from cassava bagasse and their applications as reinforcing agent in natural rubber. *Ind. Crops Prod.* 32, 486-490.

- SHALWAN, A., Yousif, B.F., 2013. In State of Art: Mechanical and tribological behaviour of polymeric composites based on natural fibres. *Mater. Des.* 48, 14-24.
- TEIXEIRA, E.d.M., Curvelo, A.A.S., Corrêa, A.C., Marconcini, J.M., Glenn, G.M., Mattoso, L.H.C., 2012. Properties of thermoplastic starch from cassava bagasse and cassava starch and their blends with poly (lactic acid). *Ind. Crops Prod.* 37, 61-68.
- TEIXEIRA, E.d.M., Pasquini, D., Curvelo, A.A.S., Corradini, E., Belgacem, M.N., Dufresne, A., 2009. Cassava bagasse cellulose nanofibrils reinforced thermoplastic cassava starch. *Carbohydr Polym* 78, 422-431.
- VALLEJOS, M.E., Curvelo, A.A.S., Teixeira, E.M., Mendes, F.M., Carvalho, A.J.F., Felissia, F.E., Area, M.C., 2011. Composite materials of thermoplastic starch and fibers from the ethanol-water fractionation of bagasse. *Ind. Crops Prod.* 33, 739-746.
- VERSINO, F., García, M.A., 2014. Cassava (*Manihot esculenta*) starch films reinforced with natural fibrous filler. *Ind. Crops Prod.* 58, 305-314.
- ZHANG, Y., Han, J.H., 2006. Mechanical and thermal characteristics of pea starch films plasticized with monosaccharides and polyols. *J. Food Sci.* 71, 109-118.

## 7. TABLAS Y FIGURAS

**TABLA 1.** Composición química de subproductos de la extracción de almidón de mandioca

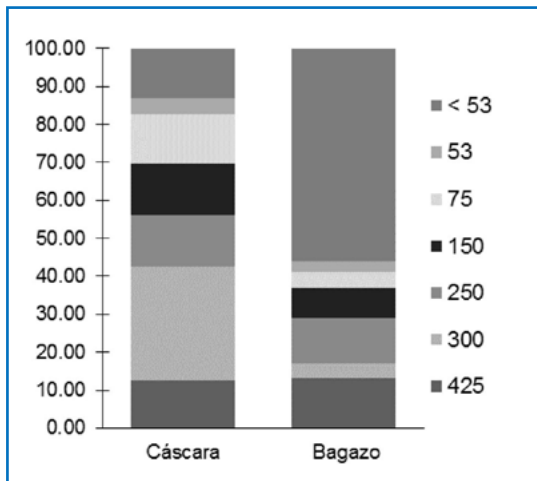
| <i>Subproducto</i> | <i>Fibras</i> | <i>Lípidos</i> | <i>Humedad</i> | <i>Proteínas</i> | <i>Cenizas</i> | <i>Lignina</i> |
|--------------------|---------------|----------------|----------------|------------------|----------------|----------------|
| Bagazo (B)         | 4,18±2,76     | 0,17±0,015     | 10,56±1,58     | 1,25±0,11        | 0,86±0,039     | 1,62±0,579     |
| Cáscara (P)        | 55,14±0,82    | 0,90±0,187     | 9,67±0,03      | 7,05±1,09        | 10,70±0,12     | 23,59±1,452    |

Valores expresados en % en base seca ± desviación estándar

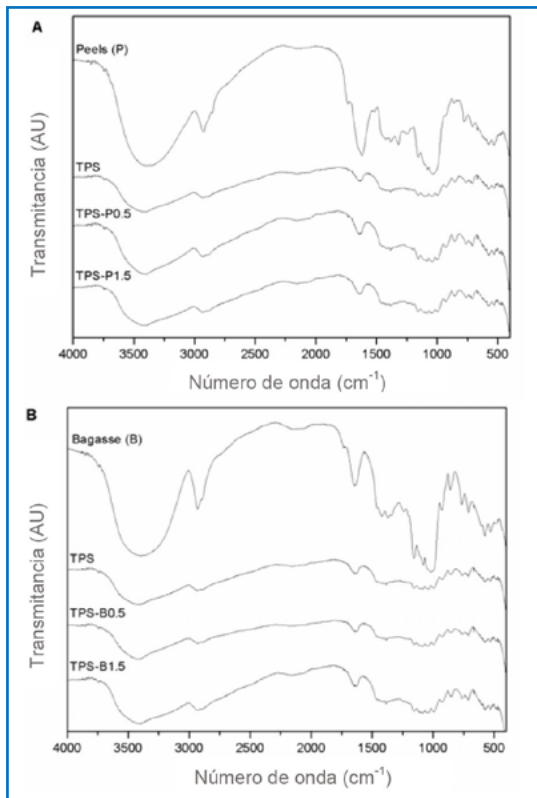
**TABLA 2.** Propiedades ópticas de films compuestos de TPS y rellenos naturales

| <b>Muestra</b>             | <b>TPS</b>                | <b>TPS-B0.5</b>           | <b>TPS-B1.5</b>            | <b>TPS-P0.5</b>           | <b>TPS-P1.5</b>           |
|----------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|
| <i>L*</i>                  | 90,53±1,00 <sup>a</sup>   | 88,83±0,81 <sup>b</sup>   | 90,68±0,59 <sup>a</sup>    | 85,02±1,59 <sup>c</sup>   | 78,42±0,98 <sup>d</sup>   |
| <i>C*</i>                  | 10,15±0,69 <sup>a</sup>   | 13,00±0,61 <sup>b</sup>   | 10,43±0,95 <sup>a</sup>    | 16,18±1,00 <sup>c</sup>   | 22,69±0,78 <sup>d</sup>   |
| <i>h°</i>                  | 87,03±0,51 <sup>a</sup>   | 85,22±0,45 <sup>a</sup>   | 88,15±0,38 <sup>b</sup>    | 82,58±0,32 <sup>c</sup>   | 77,57±0,47 <sup>d</sup>   |
| $\Delta E$                 | 11,25±1,04 <sup>a</sup>   | 16,48±2,80 <sup>b</sup>   | 11,12±0,97 <sup>a</sup>    | 19,26±1,40 <sup>c</sup>   | 28,33±1,18 <sup>d</sup>   |
| <i>Opacidad (AU' nm)</i>   | 48,58±11,70 <sup>a</sup>  | 53,14±14,61 <sup>a</sup>  | 69,07±13,81 <sup>ab</sup>  | 60,43±5,52 <sup>a</sup>   | 81,83±1,64 <sup>b</sup>   |
| <i>Barrera UV (AU' nm)</i> | 141,38±36,05 <sup>a</sup> | 159,67±8,34 <sup>ab</sup> | 186,98±21,98 <sup>ab</sup> | 200,11±16,94 <sup>b</sup> | 262,68±16,27 <sup>c</sup> |

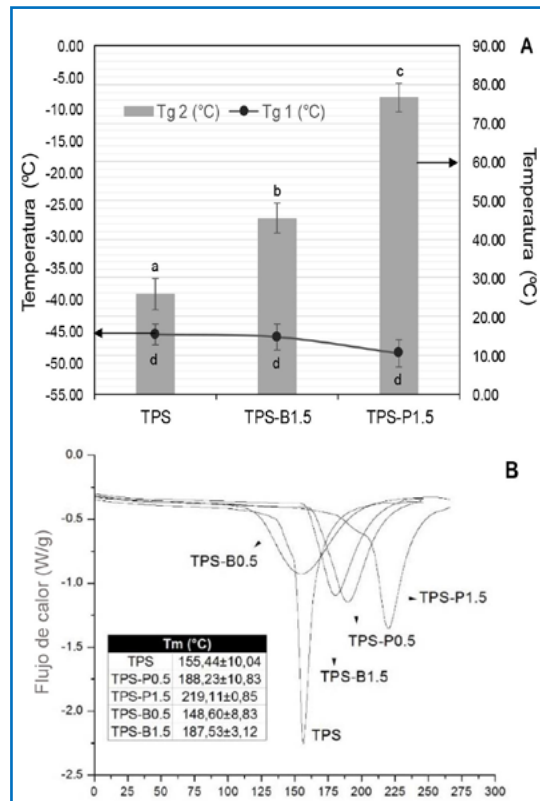
Letras distintas en una misma columna indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).



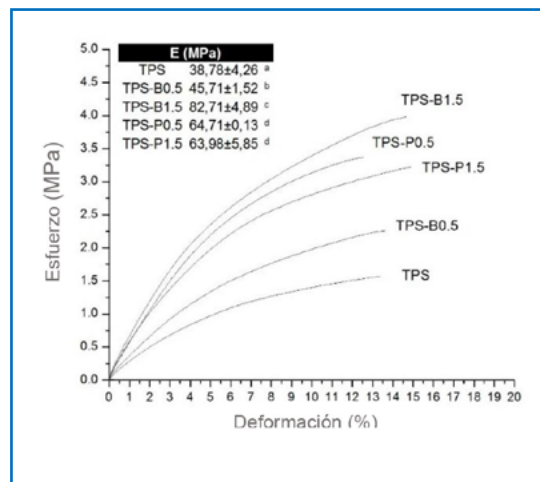
**FIGURA 1.** Distribución de tamaño de partícula (en  $\mu\text{m}$ ) de los subproductos de extracción del almidón de mandioca



**FIGURA 2.** Espectros FTIR de: a) cáscara (P), TPS de mandioca (TPS), TPS con cáscara al 0,5 (TPS-P0.5) y 1,5 %p/p (TPS-P1.5); y b) bagazo (B), TPS de mandioca (TPS), TPS con bagazo al 0,5 (TPS-B0.5) y 1,5 %p/p (TPS-B1.5)



**FIGURA 3.** a) Temperaturas de transición vítrea  $Tg_1$  y  $Tg_2$  obtenidas por ensayos dinámicos mecánicos de frecuencia, y b) Termogramas obtenidos por DSC de películas de TPS de mandioca con y sin rellenos naturales



**FIGURA 4.** Curvas de esfuerzo-deformación de películas de TPS de mandioca con y sin rellenos naturales

# EFFECTO DE LA INCORPORACIÓN DE LACTOFERRINA Y LISOZIMA SOBRE LAS PROPIEDADES FÍSICAS DE PELÍCULAS BIODEGRADABLES DE ALMIDÓN DE PATATA

Olga Moreno Marro, Lorena Atarés Huerta, Amparo Chiralt Boix

## 1. RESUMEN

De la necesidad de crear una alternativa al uso de plásticos sintéticos, surge una tendencia de investigación orientada al uso de biopolímeros para la obtención de envases de alimentos biodegradables. La incorporación de agente bioactivos, además, aumentaría la capacidad de conservación de dichos envases. En este sentido, se elaboraron películas comestibles de almidón de patata (AP) utilizando glicerol como plastificante, y con la adición, en diferentes proporciones, de dos proteínas bioactivas (lactoferrina, LF, y/o lisozima, LZ). El análisis microestructural de estas películas se llevó a cabo por medio de Microscopía Electrónica de Barrido (SEM). Además, las películas fueron caracterizadas en sus propiedades físicas más relevantes (espesor, humedad, propiedades mecánicas, de barrera y ópticas) al cabo de dos tiempos diferentes de acondicionamiento, una y cinco semanas. La adición de LF y LZ a las películas de AP generó interrupciones de la matriz continua de almidón y una mayor heterogeneidad estructural. Ambas proteínas presentaron un efecto negativo significativo sobre los parámetros mecánicos considerados (EM, TS y %E), mientras que el tiempo de almacenamiento condujo a una reducción de la resistencia y extensibilidad de la películas. Sin embargo, la LF y LZ mostraron una integración parcial en la matriz de almidón, lo cual favoreció la reducción de la permeabilidad al vapor de agua (PVA). Por otro lado, se produjo una reducción de los valores de luminosidad y brillo con la adición de ambas proteínas. La LF, además, generó un aumento significativo de los valores de croma y un tono rojizo en las pe-

---

CONTACTO: Amparo Chiralt Boix [dchiralt@tal.upv.es](mailto:dchiralt@tal.upv.es)

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

lículas, coherentemente con la proporción presente en la matriz. Ambas proteínas presentaron una compatibilidad parcial con el AP, siendo necesario un estudio de las propiedades bioactivas de las películas que las contienen para valorar la efectividad de la LF y LZ como componentes de las películas.

## **2. INTRODUCCIÓN**

Los plásticos derivados del petróleo han sido utilizados desde la década de los 40, según la Environmental Protection Agency (EPA) y su acumulación supone un grave problema medioambiental ineficientemente abordado (Azeredo, 2009). Existe una tendencia actual y creciente orientada a la investigación para la sustitución de estos materiales por polímeros biodegradables no contaminantes a partir de recursos renovables (Chen *et al.*, 2008, Mehyar and Han, 2004). El almidón es uno de los polímeros más destacados en este sentido debido a su bajo coste, fácil accesibilidad y gran disponibilidad (Dole *et al.*, 2004; Liu 2005). En su estado nativo, previo tratamiento con plastificantes y bajo calentamiento, adquiere propiedades termoplásticas similares a las de los polímeros sintéticos comunes.

Con fin de mejorar la eficacia del envase en la conservación de alimentos, este tipo de envases pueden actuar como soporte de agentes antimicrobianos y/o antioxidantes (Sánchez-García *et al.*, 2008), los cuales también podrían alterar las propiedades físicas del material de envase. La LF y LZ, proteínas presentes en el suero lácteo, constituyen una opción interesante para conferir propiedades bioactivas a las películas comestibles gracias a su actividad antimicrobiana y antioxidante (Jenssen and Hancock, 2009; Drago, 2006; Güçbilmez *et al.*, 2007).

El objetivo de este trabajo fue analizar el efecto de la incorporación de LF y/o LZ sobre las propiedades físicas de películas elaboradas a base de AP como paso previo al estudio de las propiedades bioactivas de las películas obtenidas.

## **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

Las películas fueron elaboradas con AP, con un contenido en amilosa de 17.9%, el cual fue suministrado por Roquette Laisa España, S.A. (Lestrem cedex, France). La LF liofilizada, de origen bovino, fue suministrada por ABIAL Tecnología e Innovación S.L (Santander, Cantabria, España), mientras que la LZ fue proporcionada

por DSM Food Specialties B.V. (Delft, Países Bajos). Tanto el glicerol (G), utilizado como plastificante, como el nitrato de magnesio ( $Mg(NO_3)_2$ ) y el pentóxido de fósforo ( $P_2O_5$ ), utilizados para el acondicionamiento de las películas, fueron adquiridos en Panreac Química S.A. (Castellar de Vallès, Barcelona, España).

#### **PREPARACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LAS PELÍCULAS**

Se prepararon dispersiones de AP al 2 % (p/p) mediante agitación magnética (10 minutos a 450rpm) con el fin de facilitar la gelatinización del almidón. Esta se llevó a cabo en un baño termostático a 99 °C durante 30 minutos con agitación manual cada 5 minutos. A continuación las dispersiones se enfriaron en baño de agua durante 30 minutos, manteniendo la agitación manual. Se añadió el glicerol como plastificante en un ratio 1:0.25 respecto al AP y se homogeneizó mediante un rotor estator ultraturax D125 a 13,500 rpm durante 4 minutos. Finalmente, las dispersiones de AP fueron desgasificadas a vacío. Paralelamente, se prepararon disoluciones acuosas de proteína al 10 % (p/p) por agitación magnética a 800 rpm durante 20 minutos, y se desgasificaron a vacío. Finalmente, se añadió la cantidad necesaria de las disoluciones de proteína a cada formulación para obtener la proporción almidón-proteína prefijada, y se ajustó el peso con agua destilada, se agitaron magnéticamente a 200 rpm durante 30 minutos y se desgasificaron a vacío. En la Tabla 1 se muestran las diferentes formulaciones obtenidas con las proporciones de cada componente. Para la obtención de las películas, estas formulaciones fueron vertidas en placas de teflón de 150 mm de diámetro, vertiéndose la cantidad de formulación necesaria para obtener una masa constante de sólidos por placa (1.5 g). El secado de las películas se llevó a cabo en condiciones controladas, 45 ( $\pm$  1) % de humedad relativa (HR) y 25 ( $\pm$  1) °C. Una vez obtenidas, las películas se almacenaron en desecadores a 25 °C con disolución sobresaturada de  $Mg(NO_3)_2$ , (HR: 54 %); durante un tiempo de 1 y 5 semanas, previamente a la realización de los análisis.

Se realizó un análisis microestructural, para el cual las películas se desecaron en sal de  $P_2O_5$  durante una semana. Se obtuvieron micrografías transversales y superficiales por microscopía electrónica de barrido (SEM), utilizando un microscopio JEOL®, modelo JSM-5410. Se cortaron mediante una fractura limpia muestras rectangulares de 5x2mm aproximadamente, se montaron en un soporte de cobre y se cubrieron con oro, con el fin de hacerlas conductoras. El voltaje utilizado fue de 10 KV.

Las propiedades mecánicas de las películas se determinaron con una prensa universal de ensayos mecánicos (Stable Micro Systems, TA.XT plus, Haslemere, Inglaterra) de acuerdo el método descrito por Jiménez *et al.* (2012b) realizándose 12 repeticiones por cada formulación. Se obtuvieron los parámetros mecánicos: módulo elástico (EM), tensión a la fractura (TS), y deformación en el punto de fractura (%E). El espesor se determinó en cuatro puntos con un micrómetro electrónico digital (modelo Palmer, Comecta, Barcelona).

Tanto la permeabilidad al vapor de agua (PVA) como la humedad de equilibrio fueron determinadas por medio de métodos gravimétricos (Bonilla *et al.*, 2013). La humedad se determinó en seis repeticiones por formulación, y los resultados se expresaron como g de agua por 100g de película seca. La medida de la PVA se llevó a cabo a 25 °C y un gradiente de 54-100 % de HR, habiendo medido previamente el grosor del film. Igualmente, se midieron seis muestras por formulación.

El análisis de las propiedades ópticas se realizó con un espectrocolorímetro Minolta modelo CM-3600d (Minolta CO. Tokyo) para la obtención de los parámetros colorimétricos ( $L^*$ ,  $C_{ab}^*$ ,  $h_{ab}^*$ ) y transmitancia interna ( $T_i$ ), y mediante un brillómetro Multi.Gloss 268 (Minolta, Alemania) para la determinación del brillo (Atarés *et al.*, 2010). Se realizaron seis repeticiones para los parámetros colorimétricos y diez medidas para el brillo.

#### **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

El análisis estadístico de los datos se realizó mediante el análisis de la varianza (ANOVA) utilizando el programa Statgraphics Centurion XVI. II. Para discernir entre las medias, se utilizó el procedimiento de las menores diferencias significativas de Fisher con un nivel de confianza del 95 %.

#### **4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Las Figura 1a y 1b muestran, respectivamente, imágenes obtenidas por SEM de la sección transversal y de la superficie de las películas tras una semana de almacenamiento.

Las películas sin proteína ( $AP_1:LF_0:LZ_0$ ) mostraron una estructura homogénea, compacta y sin presencia de poros. Sin embargo, ambas proteínas mostraron una incompatibilidad parcial con el AP, dando lugar al cremado parcial de las mismas durante el secado debido a su menor densidad con respecto al AP. Este fenómeno-

no originó un bajo nivel de dispersión de LF y LZ en la matriz de AP así como la formación de irregularidades en la superficie de las películas (Figura 1b), con formaciones globulares asociadas a la fracción proteica. Por otra parte, la fracción de proteína que permaneció integrada con el AP generó interrupciones de la matriz continua de almidón, dando lugar a la aparición de microfracturas en la estructura. Este comportamiento fue más acusado en las películas con LF, especialmente para aquella formulación con mayor proporción ( $AP_1:LF_{0.2}:LZ_0$ ), lo que podría indicar una menor compatibilidad de esta proteína con el polisacárido. En cuanto a la LZ, ésta presentó mayor compatibilidad e integración con el AP, lo cual redujo la heterogeneidad de la matriz de aquellas formulaciones que poseían una mezcla de ambas proteínas ( $AP_1:LF_{0.05}:LZ_{0.05}$ ,  $AP_1:LF_{0.1}:LZ_{0.1}$ ).

La Tabla 2 presenta los resultados obtenidos para los parámetros mecánicos considerados (EM, TS, %E) junto con los valores de espesor, humedad de equilibrio y PVA. Los valores obtenidos para las propiedades mecánicas de la formulación  $AP_1:LF_0:LZ_0$  fueron similares a los obtenidos por otros autores (Chen *et al.*, 2008; Phan The *et al.*, 2009; Da Matta *et al.*, 2011; Souza *et al.*, 2011). Para ambos tiempos de almacenamiento, el efecto de la adición de LF y LZ se tradujo en un descenso generalizado de la dureza, resistencia a la fractura y extensibilidad de las películas. Este empeoramiento estaría relacionado con la heterogeneidad observada a nivel microestructural, ya que ambas proteínas provocaron interrupciones en la matriz de AP. Después de 5 semanas de almacenamiento se observó una reducción en la dureza y resistencia de las películas con proteína, tal como se ha observado para películas de almidón de maíz y caseinato sódico (Jiménez *et al.*, 2012a). Los bajos valores de extensibilidad están relacionados con la reducida humedad de equilibrio que mostraron todas las formulaciones para ambos tiempos de almacenamiento. En cuanto a los resultados de PVA, las películas sin proteína ( $AP_1:LF_0:LZ_0$ ) mostraron valores del orden de los obtenidos por otros autores (Cano *et al.*, 2014; Han *et al.*, 2006; Ma *et al.*, 2008). La adición de LF y LZ generó, en ambos tiempos de almacenamiento, una ligera reducción en coherencia con la cantidad de proteína añadida a la matriz de AP. Este efecto puede estar vinculado con las interacciones específicas almidón-proteína que tienen lugar en la película durante el proceso de secado, posiblemente en combinación con la acumulación de proteína en la cara superior de las películas formando una monocapa en la superficie que contribuye a frenar el transporte de agua.



Los resultados de las propiedades ópticas (luminosidad, croma, tono y brillo a 60°) de las películas a ambos tiempos de almacenamiento se incluyen en la Tabla 3. La adición de proteínas supuso una reducción de la luminosidad de las películas para ambos tiempos de almacenamiento, sin un efecto relevante de la proporción de proteína adicionada. Sin embargo, la incorporación de LF dio lugar a un aumento significativo del croma en proporción a la cantidad de LF presente en la matriz, debido a su absorción específica a bajas longitudes de onda. Además el valor del tono disminuyó significativamente evolucionando hacia un tono rojizo más intenso a mayor cantidad de LF añadida, siendo la formulación AP<sub>1</sub>:LF<sub>0.2</sub>:LZ<sub>0</sub> la que presentó una tonalidad roja más acusada y una mayor pureza de color. La adición de LZ no afectó significativamente a los parámetros colorimétricos con respecto a la formulación sin proteína (AP<sub>1</sub>:LF<sub>0</sub>:LZ<sub>0</sub>). Todas las películas presentaron un aspecto mate con valores de brillo bajos, observándose una tendencia decreciente con la adición de proteínas para ambos tiempos de almacenamiento, en coherencia con la mayor heterogeneidad de la superficie de las películas, tal como se observa por SEM, que causaría una reflexión superficial más difusa. La película de almidón (AP<sub>1</sub>:LF<sub>0</sub>:LZ<sub>0</sub>) fue menos brillante a las 5 semanas, tal como han observado otros autores en películas de almidón de diferentes orígenes (Jiménez *et al.*, 2012b; Cano *et al.*, 2014) y que han atribuido a la re-cristalización del almidón en la superficie donde es mayor la humectación y la ganancia de movilidad molecular. La Figura 2 muestra los espectros de transmitancia interna (T<sub>i</sub>) entre 400 y 700nm de las películas. La incorporación de proteínas tuvo como consecuencia la reducción de la transmitancia interna de las películas, siendo especialmente relevante para la adición de LF. La heterogeneidad estructural adquirida dio lugar a cambios en el índice de refracción a través de las películas, además, a mayor proporción de proteína, mayor fue la dispersión de luz. En consecuencia, se produjo una disminución de la T<sub>i</sub>, principalmente a bajas longitudes de onda, lo que refleja un aumento en la opacidad de las películas y reducción de su transparencia.

## 5. CONCLUSIONES

La incorporación de diferentes proporciones de LF, LZ y mezcla de ambas a películas a base de AP afectó a las propiedades físicas de las películas a diferentes tiempos de almacenamiento. La microestructura de las películas reflejó una compatibilidad

parcial entre el almidón y las cadenas de las proteínas, lo que llevó a una cierta separación de fases y generación de interrupciones en la matriz de AP. La presencia de proteínas dio lugar a un descenso de la dureza, de la resistencia a la fractura y de la extensibilidad de las películas. El cremado de las proteínas hacia la cara superior de las películas durante el secado favoreció un descenso de los valores de PVA. La incorporación de LF a las películas generó un aumento significativo, coherente a su proporción, del valor de croma, junto con una evolución hacia tonos rojizos. Los valores de luminosidad, brillo y  $T_i$  se redujeron con la adición de ambas proteínas, efecto más acusado para la LF, en cuyas películas se apreció una mayor heterogeneidad estructural que afectó a las propiedades físicas.

#### **AGRADECIMIENTOS**

Los autores desean expresar su agradecimiento por el apoyo financiero recibido de la Universitat Politècnica de València (PAID-06-11-2013), la Generalitat Valenciana (GV/2013/152) y el Ministerio de educación y Ciencia (AGL2010-20694). Olga Moreno Marro agradece, igualmente, al Ministerio de Educación, Cultura y Deporte-Spain por la beca FPU concedida.

#### **6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- AZEREDO, H.M.C. (2009). Nanocomposites for food packaging applications. *Food Research International* 42, 1240-1253.
- CANO, A.; Jiménez, A.; Cháfer, M.; González, C.; Chiralt, A. (2014). Characterization of starch films with different amylose: amylopectin ratio. Effect of rice bran addition. *Carbohydrate Polymers*, 111, 543-555.
- CHEN, J., Liu, Ch., Chen, Y., Chen Y., Chang, P.R. (2008). Structural characterization and properties of starch/konjac glucomannan blend films. *Carbohydrate Polymers*, 74, 946-952.
- DA MATTA, M.D., Silveira, S.B., de Oliveira, L.M., Sandoval, S. (2011). Mechanical properties of pea starch films associated with xanthan gum and glycerol. *Starch*, 63, 274-282.
- DOLE, P.; Joly, C.; Espuche, E.; Alric, I.; Gontard, N. (2004). Gas transport properties of starch based films. *Carbohydrate Polymers*, 58, 335-343.
- DRAGO, M.E. (2006) Actividades antibacterianas de la lactoferrina. *ENF INF MICROBIOL*, 26 (2): 58-63.
- GÜÇBILMEZ, Ç.M., Yemenicioğlu, A., Arslanoğlu, A. (2007) Antimicrobial and antioxidant

- activity of edible zein Wlms incorporated with lysozyme, albumin proteins and disodium EDTA. *Food Research International* 40 80–91.
- HAN, J.H., Seo, G.H., Park, I.M., Kim, G.N., Lee, D.S. (2006). Physical and mechanical properties of pea starch edible films containing beeswax emulsions. *Journal of Food Science*, 71 (6), 290-296.
- JENSSEN, H., Hancock, R.E.W. (2009). Antimicrobial properties of lactoferrin. *Biochimie* 91 19-29.
- JIMÉNEZ, A.; Fabra, M.J.; Talens, P.; Chiralt, A. (2012a). Effect of sodium caseinate on properties and ageing behaviour of corn starch based films *Food Hydrocolloids*, 29(2), 265-279.
- JIMÉNEZ, A.; Fabra, M.J.; Talens, P.; Chiralt, A. (2012b). Effect of re-crystallization on tensile, optical and water vapour barrier properties of corn starch films containing fatty acids. *Food Hydrocolloids*, 26(1), 302-310.
- L. ATARÉS, J. Bonilla, A. Chiralt. (2010). Characterization of sodium caseinate-based edible films incorporated with cinnamon or ginger essential oils. *Journal of Food Engineering* 100, 678-687.
- LIU, Z. (2005). Edible films and coatings from starch. In J. H. Han (Ed.), *Innovations in food packaging* (pp. 318–332). London: *Elsevier Academic Press*.
- MA, X., Chang, P.R., Yu, J. (2008). Properties of biodegradable thermoplastic pea starch/carboxymethyl cellulose and pea starch/microcrystalline cellulose composites. *Carbohydrate Polymers*, 72, 369-375.
- MEHYAR, G.F. and Han, J.H. (2004). Physical and mechanical properties of high-amylose rice and pea starch films as affected by relative humidity and plasticizer. *Journal of Food Science*, 69 (9), 449-454).
- PHAN THE, D., Debeaufort, F., Voilley, A., Luu, D. (2009). Biopolymer interactions affect the functional properties of edible films based on agar, cassava starch and arabinoxylan blends. *Journal of Food Engineering*, 90, 548-558.
- SÁNCHEZ-GARCÍA, M.D., Giménez, E., & Lagaron, J.M. (2008). Morphology and barrier properties of solvent cast composites of thermoplastic biopolymers and purified cellulose fibers. *Carbohydrate Polymers* 71, 235-244.
- SOUZA, A.C., Benze, R., Ferrao, E.S., Ditchfield, C., Coelho, A.C.V., Tadini, C.C. (2011). Cassava starch biodegradable films: influence of glycerol and clay nanoparticles content on tensile and barrier properties and glass transition temperature. *Food Science and Technology*, 10-18.

## 7. TABLAS Y FIGURAS

**TABLA 1.** Nomenclatura y proporción de componentes de cada formulación (g/100g de formulación)

| Formulación   | PS (g) | G (g) | LF(g) | LZ(g) |
|---|--------|-------|-------|-------|
| AP <sub>1</sub> :LF <sub>0</sub> :LZ <sub>0</sub>       | 1      | 0.25  | 0     | 0     |
| AP <sub>1</sub> :LF <sub>0.1</sub> :LZ <sub>0</sub>     | 1      | 0.25  | 0.1   | 0     |
| AP <sub>1</sub> :LF <sub>0</sub> :LZ <sub>0.1</sub>     | 1      | 0.25  | 0     | 0.1   |
| AP <sub>1</sub> :LF <sub>0.05</sub> :LZ <sub>0.05</sub> | 1      | 0.25  | 0.05  | 0.05  |
| AP <sub>1</sub> :LF <sub>0.2</sub> :LZ <sub>0</sub>     | 1      | 0.25  | 0.2   | 0     |
| AP <sub>1</sub> :LF <sub>0</sub> :LZ <sub>0.2</sub>     | 1      | 0.25  | 0     | 0.2   |
| AP <sub>1</sub> :LF <sub>0.1</sub> :LZ <sub>0.1</sub>   | 1      | 0.25  | 0.1   | 0.1   |

**TABLA 2.** Resultados de espesor, parámetros mecánicos (EM, TS y %E), humedad de equilibrio (g agua/ g película seca) y permeabilidad al vapor de agua (WVP) de las películas, tras 1 y 5 semanas de almacenamiento

|          | Espesor (μm)  | EM (MPa)              | TS (MPa)                   | %E                         | X <sub>w</sub> (g agua/ 100g película seca) | WVP (g/Pa s m)x10 <sup>7</sup>  |                              |
|----------|---|-----------------------|----------------------------|----------------------------|---|---------------------------------|------------------------------|
| SEMANA 1 | PS <sub>1</sub> :LF <sub>0</sub> :LZ <sub>0</sub>       | 58 (4) <sup>a,2</sup> | 1350 (134) <sup>de,1</sup> | 37 (6) <sup>e,1</sup>      | 4.5 (0.6) <sup>e,1</sup>                    | 6.13 (0.09) <sup>c,1</sup>      | 6.7 (0.3) <sup>c,1</sup>     |
|          | PS <sub>1</sub> :LF <sub>0.1</sub> :LZ <sub>0</sub>     | 60 (4) <sup>a,1</sup> | 1420 (98) <sup>e,2</sup>   | 27 (6) <sup>cd,2</sup>     | 2.2 (0.6) <sup>bc,1</sup>                   | 4.8 (0.4) <sup>a,1</sup>        | 6.4 (0.16) <sup>bc,1</sup>   |
|          | PS <sub>1</sub> :LF <sub>0</sub> :LZ <sub>0.1</sub>     | 80 (5) <sup>d,1</sup> | 1225 (86) <sup>bc,2</sup>  | 22 (7) <sup>b,2</sup>      | 2.3 (0.6) <sup>bc,1</sup>                   | 4.8 (0.3) <sup>a,1</sup>        | 6.1 (0.3) <sup>b,1</sup>     |
|          | PS <sub>1</sub> :LF <sub>0.05</sub> :LZ <sub>0.05</sub> | 73 (4) <sup>b,1</sup> | 1296 (81) <sup>cd,2</sup>  | 22 (4) <sup>b,2</sup>      | 2.0 (0.4) <sup>b,1</sup>                    | 5.47 (0.19) <sup>b,1</sup>      | 6.4 (0.4) <sup>bc,1</sup>    |
|          | PS <sub>1</sub> :LF <sub>0.2</sub> :LZ <sub>0</sub>     | 79 (6) <sup>d,2</sup> | 1015 (333) <sup>a,1</sup>  | 5 (2) <sup>a,1</sup>       | 0.68 (0.13) <sup>a,1</sup>                  | 4.55 (0.49) <sup>a,1</sup>      | 5.66 (0.14) <sup>a,1</sup>   |
|          | PS <sub>1</sub> :LF <sub>0</sub> :LZ <sub>0.2</sub>     | 72 (5) <sup>b,1</sup> | 1190 (47) <sup>bc,2</sup>  | 30 (4) <sup>d,2</sup>      | 3.1 (0.4) <sup>d,2</sup>                    | 5.0 (0.5) <sup>a,1</sup>        | 5.621 (0.107) <sup>a,1</sup> |
|          | PS <sub>1</sub> :LF <sub>0.1</sub> :LZ <sub>0.1</sub>   | 75 (4) <sup>c,2</sup> | 1176 (60) <sup>b,2</sup>   | 25 (5) <sup>bc,1</sup>     | 2.4 (0.6) <sup>c,1</sup>                    | 5.5 (0.4) <sup>b,1</sup>        | 6.49 (0.17) <sup>c,2</sup>   |
| SEMANA 5 | PS <sub>1</sub> :LF <sub>0</sub> :LZ <sub>0</sub>       | 56 (3) <sup>a,1</sup> | 1344 (71) <sup>d,1</sup>   | 35 (4) <sup>f,1</sup>      | 4.3(0.5) <sup>d,1</sup>                     | 5.9 (0.4) <sup>a,2</sup>        | 7.5 (0.8) <sup>d,1</sup>     |
|          | PS <sub>1</sub> :LF <sub>0.1</sub> :LZ <sub>0</sub>     | 67 (7) <sup>b,2</sup> | 1167 (122) <sup>c,1</sup>  | 20 (6) <sup>de,1</sup>     | 2.3 (0.8) <sup>c,1</sup>                    | 6.9 (0.5) <sup>bc,2</sup>       | 6.7 (0.4) <sup>cd,1</sup>    |
|          | PS <sub>1</sub> :LF <sub>0</sub> :LZ <sub>0.1</sub>     | 83 (5) <sup>e,2</sup> | 762 (47) <sup>a,1</sup>    | 16 (2) <sup>c,1</sup>      | 2.6 (0.4) <sup>c,1</sup>                    | 7.0672 (0.1103) <sup>cd,2</sup> | 5.8 (0.3) <sup>abc,1</sup>   |
|          | PS <sub>1</sub> :LF <sub>0.05</sub> :LZ <sub>0.05</sub> | 82 (5) <sup>e,2</sup> | 814 (46) <sup>a,1</sup>    | 16.7 (0.9) <sup>cd,1</sup> | 2.44 (0.17) <sup>c,2</sup>                  | 7.6 (0.3) <sup>d,2</sup>        | 5.9 (0.3) <sup>abc,1</sup>   |
|          | PS <sub>1</sub> :LF <sub>0.2</sub> :LZ <sub>0</sub>     | 75 (3) <sup>d,1</sup> | 1091 (116) <sup>c,1</sup>  | 5 (3) <sup>a,1</sup>       | 0.7 (0.2) <sup>a,1</sup>                    | 6.3 (0.6) <sup>ab,2</sup>       | 6.4 (1.09) <sup>bc,1</sup>   |
|          | PS <sub>1</sub> :LF <sub>0</sub> :LZ <sub>0.2</sub>     | 71 (5) <sup>c,1</sup> | 956 (190) <sup>b,1</sup>   | 12 (7) <sup>b,1</sup>      | 1.3 (0.5) <sup>b,1</sup>                    | 6.6 (0.6) <sup>bc,2</sup>       | 5.7 (0.3) <sup>ab,1</sup>    |
|          | PS <sub>1</sub> :LF <sub>0.1</sub> :LZ <sub>0.1</sub>   | 67 (4) <sup>b,1</sup> | 1116 (51) <sup>c,1</sup>   | 24 (2) <sup>e,1</sup>      | 2.2 (0.4) <sup>c,1</sup>                    | 8.5 (0.6) <sup>e,2</sup>        | 5.6 (0.3) <sup>a,1</sup>     |

Diferentes letras (a, b, c, d, e) en la misma columna indica diferencias significativas entre las diferentes formulaciones en un mismo tiempo de almacenamiento (p<0.05).

Diferentes números (1, 2) en la misma columna indica diferencias significativas entre ambos tiempos de almace-

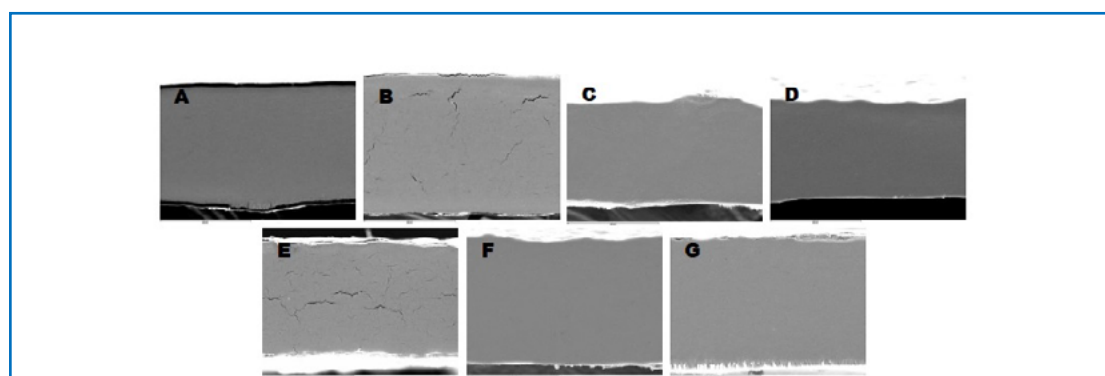
namiento para una misma formulación ( $p < 0.05$ ).

**TABLA 3.** Resultados de los parámetros ópticos de las películas (luminosidad, croma, tono e índice de blancura) y brillo a 60°, para ambos tiempos de almacenamiento

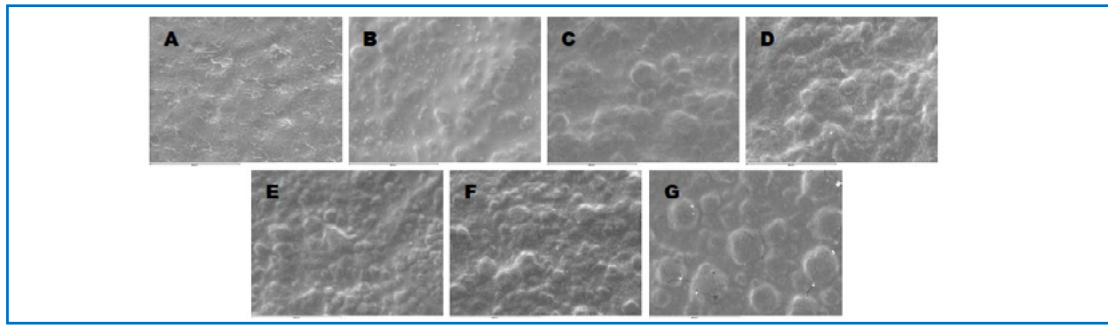
|          |   | L*                           | C <sub>ab</sub> *          | h <sub>ab</sub> *           | Brillo (60°)                |
|----------|---|------------------------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| SEMANA 1 | PS <sub>1</sub> :LF <sub>0</sub> :LZ <sub>0</sub>       | 84.6 (0.4) <sup>e,1</sup>    | 1.2 (0.5) <sup>a,1</sup>   | 286 (6) <sup>b,1</sup>      | 22.7 (1.9) <sup>d,2</sup>   |
|          | PS <sub>1</sub> :LF <sub>0.1</sub> :LZ <sub>0</sub>     | 77.35 (0.009) <sup>a,1</sup> | 8.3 (0.6) <sup>d,1</sup>   | 63.8 (0.5) <sup>a,1</sup>   | 8.3 (0.7) <sup>a,1</sup>    |
|          | PS <sub>1</sub> :LF <sub>0</sub> :LZ <sub>0.1</sub>     | 83.1 (0.6) <sup>d,1</sup>    | 1.4 (0.5) <sup>a,1</sup>   | 308 (17) <sup>c,1</sup>     | 8.3 (0.7) <sup>a,1</sup>    |
|          | PS <sub>1</sub> :LF <sub>0.05</sub> :LZ <sub>0.05</sub> | 80.8 (0.9) <sup>c,2</sup>    | 5.2 (0.8) <sup>b,1</sup>   | 67.13 (1.08) <sup>a,2</sup> | 8.5 (0.8) <sup>a,1</sup>    |
|          | PS <sub>1</sub> :LF <sub>0.2</sub> :LZ <sub>0</sub>     | 76.4 (0.3) <sup>a,2</sup>    | 11.3 (1.2) <sup>e,1</sup>  | 59.0 (0.6) <sup>a,2</sup>   | 8.23 (0.17) <sup>a,1</sup>  |
|          | PS <sub>1</sub> :LF <sub>0</sub> :LZ <sub>0.2</sub>     | 84.2 (0.9) <sup>e,1</sup>    | 1.6 (0.7) <sup>a,1</sup>   | 300 (13) <sup>c,1</sup>     | 10.1 (0.6) <sup>c,2</sup>   |
|          | PS <sub>1</sub> :LF <sub>0.1</sub> :LZ <sub>0.1</sub>   | 79.3 (1.3) <sup>b,1</sup>    | 6.8 (0.6) <sup>c,1</sup>   | 59.2 (1.3) <sup>a,1</sup>   | 9.4 (0.7) <sup>b,1</sup>    |
| SEMANA 5 | PS <sub>1</sub> :LF <sub>0</sub> :LZ <sub>0</sub>       | 84.4 (0.7) <sup>e,1</sup>    | 0.99 (0.13) <sup>a,1</sup> | 302 (3) <sup>d,2</sup>      | 15 (3) <sup>d,1</sup>       |
|          | PS <sub>1</sub> :LF <sub>0.1</sub> :LZ <sub>0</sub>     | 79.0 (0.2) <sup>b,2</sup>    | 7.58 (0.05) <sup>e,1</sup> | 63.41 (1.08) <sup>b,1</sup> | 10.3 (0.9) <sup>c,2</sup>   |
|          | PS <sub>1</sub> :LF <sub>0</sub> :LZ <sub>0.1</sub>     | 82.01 (1.15) <sup>d,1</sup>  | 1.2 (0.3) <sup>a,1</sup>   | 308 (10) <sup>d,1</sup>     | 8.8 (0.6) <sup>ab,1</sup>   |
|          | PS <sub>1</sub> :LF <sub>0.05</sub> :LZ <sub>0.05</sub> | 79.0 (0.2) <sup>b,1</sup>    | 4.6 (0.2) <sup>c,1</sup>   | 63.92 (1.12) <sup>b,1</sup> | 8.4 (0.8) <sup>a,1</sup>    |
|          | PS <sub>1</sub> :LF <sub>0.2</sub> :LZ <sub>0</sub>     | 75.8 (0.5) <sup>a,1</sup>    | 10.4 (0.3) <sup>f,1</sup>  | 57.36 (0.18) <sup>a,1</sup> | 8.52 (0.16) <sup>ab,2</sup> |
|          | PS <sub>1</sub> :LF <sub>0</sub> :LZ <sub>0.2</sub>     | 84.82 (1.13) <sup>e,1</sup>  | 2.0 (0.5) <sup>b,1</sup>   | 292 (5) <sup>c,1</sup>      | 9.6 (0.6) <sup>bc,1</sup>   |
|          | PS <sub>1</sub> :LF <sub>0.1</sub> :LZ <sub>0.1</sub>   | 80.4 (1.5) <sup>c,1</sup>    | 6.4 (0.8) <sup>d,1</sup>   | 60.4 (1.4) <sup>ab,1</sup>  | 9.2 (0.5) <sup>ab,1</sup>   |

Diferentes letras (a, b, c, d, e) en la misma columna indica diferencias significativas entre las diferentes formulaciones en un mismo tiempo de almacenamiento ( $p < 0.05$ ).

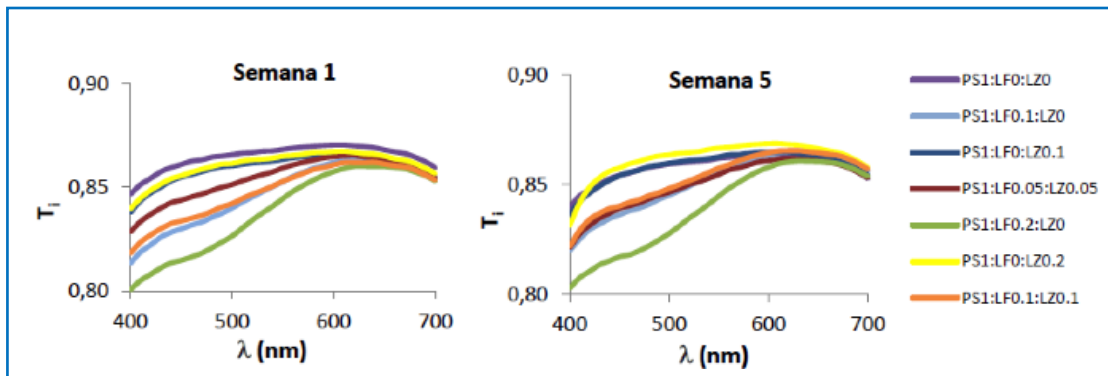
Diferentes números (1, 2) en la misma columna indica diferencias significativas entre ambos tiempos de almacenamiento para una misma formulación ( $p < 0.05$ ).



**FIGURA 1A.** Imágenes de SEM del corte transversal de películas acondicionadas con P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> a 25 °C. A) PS<sub>1</sub>:LF<sub>0</sub>:LZ<sub>0</sub>, B) PS<sub>1</sub>:LF<sub>0.1</sub>:LZ<sub>0</sub>, C) PS<sub>1</sub>:LF<sub>0</sub>:LZ<sub>0.1</sub>, D) PS<sub>1</sub>:LF<sub>0.05</sub>:LZ<sub>0.05</sub>, E) PS<sub>1</sub>:LF<sub>0.2</sub>:LZ<sub>0</sub>, F) PS<sub>1</sub>:LF<sub>0</sub>:LZ<sub>0.2</sub>, G) PS<sub>1</sub>:LF<sub>0.1</sub>:LZ<sub>0.1</sub>



**FIGURA 1B.** Imágenes de SEM del corte superficial de películas acondicionadas con  $P_2O_5$  a 25 °C. A)  $PS_1:LF_0:LZ_0$ , B)  $PS_1:LF_{0.1}:LZ_0$ , C)  $PS_1:LF_0:LZ_{0.1}$ , D)  $PS_1:LF_{0.05}:LZ_{0.05}$ , E)  $PS_1:LF_{0.2}:LZ_0$ , F)  $PS_1:LF_0:LZ_{0.2}$ , G)  $PS_1:LF_{0.1}:LZ_{0.1}$



**FIGURA 2.** Distribución espectral de la transmitancia interna ( $T_i$ ) para cada formulación, a la semana 1 y 5, respectivamente, de almacenamiento

# EVALUACIÓN SENSORIAL DE GOMINOLAS SALUDABLES FORMULADAS CON TAGATOSA, OLIGOFRUCTOSA Y EXTRACTOS ACUOSOS DE STEVIA

Ángela Periche, Paloma Quintanilla, María Luisa Castelló, Ana Heredia,  
Ana Andrés, Isabel Escriche

## 1. RESUMEN

Las golosinas, ampliamente consumidas por la población infantil, se componen fundamentalmente de azúcares, por lo que se asocian con la aparición de caries, sobrepeso y aumento rápido de los niveles de glucosa en sangre. En el mercado es posible encontrar edulcorantes artificiales, como sustitutos sintéticos al azúcar, no cariogénicos, que pueden tener un reducido o nulo poder calórico y con metabolismo distinto al de la glucosa. No obstante, algunos de estos edulcorantes presentan cierta toxicidad, además de no satisfacer las necesidades tecnológicas propias de los azúcares tradicionales. La industria agroalimentaria tiene a su disposición, hoy en día, nuevas alternativas de edulcorantes naturales como es el caso de la tagatosa, la oligofructosa y la stevia, los cuales presentan una serie de ventajas tecnológicas y/o saludables frente a los convencionales y artificiales. Por todo ello, el objetivo de este trabajo ha sido evaluar, sensorialmente, diferentes golosinas tipo goma en las que se han sustituido los azúcares convencionales por otros más saludables con el fin de establecer un orden de aceptación global entre ellas (según la Norma ISO 8587) y evaluar el nivel de aceptación (según la escala JAR) de diferentes atributos (dulzor, aroma, color, gomosidad y dureza). Concretamente, se evaluaron cuatro productos formulados con: 1) oligofructosa y tagatosa, 2) oligofructosa, tagatosa y stevia, 3) azúcares convencionales (sacarosa y jarabe de glucosa), 4) azúcares convencionales (sacarosa y jarabe de glucosa) y stevia. Los resultados obtenidos ponen

---

CONTACTO: María Luisa Castelló [mcasgo@upvnet.upv.es](mailto:mcasgo@upvnet.upv.es)  
Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos para  
el Desarrollo. Universitat Politècnica de València. Camino  
de Vera s/n, 46022, Valencia, Spain.

de manifiesto que las formulaciones más valoradas fueron las de azúcares convencionales y la de oligofructosa, tagatosa y stevia, sin diferencias significativas entre ellas. Además, la incorporación de extracto acuoso de stevia mejoró la aceptación del dulzor y del aroma y no modificó los atributos de textura, aunque motivó una menor aceptación en relación al color. Se puede concluir que los edulcorantes naturales estudiados pueden ser una buena opción para la industria de la confitería si se informa adecuadamente al consumidor de las ventajas que estos aportan.

## 2. INTRODUCCIÓN

Las golosinas pertenecen al grupo de los alimentos estimulantes, siendo uno de los más demandados (Hernández, 2012), ya que a pesar de no ser un alimento de primera necesidad, presentan un importante volumen de ventas. Sin embargo, y debido principalmente a la presencia de elevadas concentraciones de azúcar en su composición, su consumo ha sido relacionado con un aumento en la incidencia de la obesidad, la diabetes y de caries especialmente entre la población infantil. Por ello, la búsqueda de alternativas saludables al uso de azúcares convencionales, principalmente sacarosa y jarabe de glucosa (Edwards, 2002), en la formulación de estos productos es una constante por parte de la industria alimentaria en aras a responder a la preocupación creciente de la sociedad en relación al bienestar infantil. En este sentido, existen productos de confitería en el mercado (chicles, golosinas, caramelos, etc.) en los que se han sustituido los azúcares convencionales, parcial o totalmente, por edulcorantes artificiales con reducido o nulo poder calórico. No obstante algunos de los mismos, como los polialcoholes, pueden presentar efectos laxantes (Beneo-Palatinit, 2010a) además de cierta toxicidad (Guerrero & Flores, 2014). Por otro lado, no todos estos sustitutos son capaces de satisfacer las necesidades tecnológicas propias de los azúcares tradicionales. Por ello, se prioriza cada vez más el uso de edulcorantes naturales y seguros para la reformulación de alimentos dulces. Este es el caso de la tagatosa, la oligofructosa o la stevia. La tagatosa destaca por presentar un poder edulcorante del 92 % respecto a la sacarosa (FSANZ, 2004), bajo poder calórico y cariogénico, además de presentar un cierto efecto prebiótico (Li *et al.*, 2013) y antioxidante (Paterna *et al.*, 1998). Sus características sensoriales permiten su uso como potenciador de sabor de productos lácteos, de confitería y pastelería (Grant, 2010). La oligofructosa por su parte, es una fibra dietética, con los efectos fisiológicos atribuibles a este tipo de



compuestos, de bajo valor calórico y potenciadora de la absorción de calcio (Gibson *et al.*, 1995). En cuanto a la stevia (*Stevia rebaudiana*) se refiere, se trata de una planta perenne originaria de Paraguay y perteneciente a la familia Asteraceae (Goyal *et al.*, 2010). La principal característica de la hoja de stevia es su elevado sabor dulce como consecuencia de la presencia de diterpenos concretamente, glicósidos de steviol que son entre 250-300 veces más dulces que la sacarosa, en sus hojas (Ghanta *et al.*, 2007). Si bien se uso alimentario está extendido en Sudamérica, Japón y Estados Unidos desde los años 80's, la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (European Food Safety Authority-EFSA) la autorizó en noviembre de 2011 (EFSA, 2011). Actualmente y en Europa, el consumo de los esteviosidos extraídos como edulcorante acalórico natural es bastante común. Este no es el caso de sus extractos acuosos a pesar de las propiedades funcionales (antiinflamatorias, diuréticas, antihipertensas, antihiperlipémicas, antidiarreicas y antitumorales (Chatsudthipong & Muanprasat, 2009)) que estos presentan.

Por último, se ha de tener en cuenta que toda sustitución de un ingrediente por otro en la elaboración de un producto alimentario puede dejar una huella sensorial negativa con un rechazo del nuevo producto, aún siendo más saludable, por parte del consumidor.

Así, el objetivo de este trabajo ha sido evaluar sensorialmente la sustitución parcial o total de los azúcares convencionales, sacarosa y jarabe de glucosa, por una combinación de tagatosa y oligofructosa, así como la inclusión de extractos acuosos de stevia en la formulación de golosinas tipo goma.

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **INGREDIENTES**

Las gominolas se elaboraron con los siguientes ingredientes: sacarosa (Azucarrera Ebro S.L.; España), oligofructosa (Sensus B.V.; Países Bajos), jarabe de glucosa 43° (Emilio Peña S.A.; España) Tagatosa pura (99 % pureza: Cj CheilJedang Corp.; China), Tagatosa comercial (40 % pureza; Damhert NV/S.A.; Bélgica) Hojas de stevia (*Stevia rebaudiana*) deshidratadas "Energy fruits" (Tentorium Energy, S.L., España), gelatina (Junca Gelatines S.L.; España), colorante natural rojo (Roha Europe S.L.U.; España), aroma de fresa (Flavorix Aromáticos S.A.; España), ácido cítrico (Scharlab S.L. España) y aceite de girasol.

## METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

Se propusieron 4 formulaciones diferentes para evaluar la influencia de la sustitución de los azúcares convencionales (sacarosa y jarabe de glucosa) por otros más saludables (oligofructosa y tagatosa) y de la presencia de estevia en la aceptación sensorial de las golosinas tipo goma o “gominolas”. Así, el control (C) se elaboró con un 51,7 % de azúcares convencionales (40 % sacarosa+60 % jarabe de glucosa), 39,8 % de fracción acuosa (agua), 8 % de gelatina, 0,5 % de ácido cítrico, 200 µL de colorante y 250 µL de aroma. En la formulación O70T30, se sustituyeron por completo los azúcares convencionales de la formulación por una mezcla de oligofructosa (O) y tagatosa (T) al 70 y 30 % (p/p), respectivamente. Por último, se obtuvieron 2 gominolas más por sustitución de la fracción acuosa de agua por extracto acuoso de hojas deshidratadas de estevia (S) en las formulaciones C y O70T30. Estos nuevos productos se condicaron como SC y SO70T30, respectivamente.

Los extractos acuosos de stevia se prepararon por infusión de las hojas deshidratadas en agua, con una relación producto: disolvente de 1:100 (p/p), en un baño termostático (P Selecta Precisdig) a 90 °C durante 5 minutos, siendo estas las condiciones óptimas de extracción con el fin de preservar las propiedades antioxidantes (Periche *et al.*, 2014). Una vez finalizada la extracción, la fracción acuosa se separó por filtración para su incorporación a las gominolas. Previamente a la extracción, las hojas deshidratadas de stevia fueron extendidas en placas Petri e irradiadas con radiación ultravioleta en la campana de flujo laminar, en 2 periodos consecutivos de 20 minutos, para eliminar la posible contaminación.

Para la elaboración de las golosinas se siguieron los pasos descritos a continuación. Se pesaron los azúcares en una balanza analítica (PRECISA modelo BJ 6100D), diluidos con el 50 % del líquido de la formulación (agua o extracto acuoso de stevia) y mezclados en la batidora térmica (Thermomix, TM31, Vorwerk, Alemania) a una temperatura de 100 °C a 300 rpm, durante 10 minutos, para conseguir un líquido uniforme. A continuación, se dejó reposar el jarabe para que disminuyera la temperatura hasta 60-70 °C antes de incorporar la gelatina diluida, ya que a temperaturas más altas la gelatina podría perder sus propiedades gelificantes (Vercher, 2012) y se añadió la misma, previamente diluida, con el 50 % de la fracción acuosa restante y el ácido cítrico, el colorante y el aroma y se agitó el conjunto durante 5 minutos a 300 rpm. Después, la mezcla se vertió en moldes impregnados ligeramente con aceite para facilitar su posterior desmolde, y se mantuvieron a tempera-

tura ambiente durante 24 horas antes de desmoldarlas. Las gominolas se envasaron en tarrinas PET, en condiciones de máxima higiene para evitar contaminaciones, a temperatura ambiente, y separadas por aluminio para evitar el contacto entre ellas hasta la realización del análisis sensorial, que fue al cabo de 3 días.

#### **ANÁLISIS SENSORIAL**

Se llevó a cabo una prueba de ordenación de preferencias (Norma UNE-ISO 8587) con el fin de establecer un orden de aceptación global entre productos desarrollados. En esta prueba se utilizó una luz roja para evitar que el color de las muestras influyera en la apreciación de los catadores. Además, se realizó una evaluación individual de cada muestra, según la escala JAR (Just-about-right) empleada para medir la intensidad de un atributo sensorial específico (Narayanan *et al.*, 2014). Los atributos evaluados fueron el dulzor, aroma, color, gomosidad y dureza (ISO 5492, 2008). A los catadores se les presentaron 3 puntos o escalas hedónicas, (1 = menos de lo que me gusta, 2 = justo lo que me gusta, 3 = más de lo que me gusta) para determinar la intensidad de cada uno de los atributos citados anteriormente. Las pruebas sensoriales fueron realizadas por un panel de catadores no entrenados en el Laboratorio de Análisis Sensorial del Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo de la Universitat Politècnica de València. El número total de catadores fue de 30.

#### **4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Los resultados de la prueba sensorial basada en la escala JAR se muestran en la Figura 1. Como se puede observar, en términos de color (Figura 1A), las muestras control (C) fueron las que se ajustaron más a las preferencias de los evaluadores, no habiendo prácticamente diferencias en la valoración obtenida por el resto de gominolas en este atributo. Las gominolas formuladas con edulcorantes saludables (SC, O70T30 y SO70T30) presentaban un color más anaranjado que las C en las que el rosa del colorante estaba muy definido. Por lo que, este cambio en el tono atribuido a la presencia de los nuevos edulcorantes en la formulación no sería bien recibido por los consumidores, ya que entre el 57-60 % de los mismos valoraron el color de estas formulaciones como “menos de lo que me gusta”. En cuanto a las propiedades mecánicas analizadas [gomosidad (Figura 1B) y dureza (Figura 1C)], las

muestras control (C) y en especial con extracto acuoso de stevia (SC), presentaron los mayores porcentajes en el nivel óptimo de preferencia. La incorporación de tagatosa y oligofruktosa (O70T30 y SO70T30) supuso un aumento en el porcentaje de catadores que la percibían como más duras y gomosas. En cuanto a los atributos olfatogustativos [aroma (Figura 1D)], se detectó un déficit aromático considerable en todas las formulaciones (apreciaciones adicionales de los catadores) si bien en las gominolas formuladas con tagatosa y oligofruktosa (O70T30), el presencia de extracto de stevia (SO70T30) mejoró el nivel óptimo de preferencia por parte de los catadores. Respecto al dulzor (Figura 1E), la sustitución de los azúcares convencionales por oligofruktosa y tagatosa repercutió negativamete en la valoración de este atributo. Cabe destacar, por otro lado, que la incorporación de stevia tanto a las formulaciones C como O70T30 resultó positivo puesto que aumentó el nivel de preferencia “tal como me gusta” de los catadores en ambos casos.

En cuanto a los resultados de la prueba de ordenación (Tabla 1), las gominolas formuladas con sacarosa y jarabe de glucosa (C y SC), y en especial aquellas con extracto de stevia (SC), fueron las mejor valoradas. La incorporación de stevia (SO70T30) también mejoró la valoración de las gominolas con oligofruktosa y tagatosa (O70T30). La prueba de Friedman dio como resultado diferencias significativas entre las cuatro muestras estudiadas, ya que se obtuvo un valor de F de Friedman igual a 13 que fue superior al establecido (7,81) en la “Tabla de valores críticos de F” de la Norma, que relaciona el número de jueces con el número de muestras (nivel de significación del 95 %).

Por otra parte, se evaluó las diferencias encontradas entre pares de muestras, para detectar qué productos son significativamente diferentes de otros. Los resultados de este análisis se recogen en la Tabla 2, donde se encuentran los valores de la diferencias entre muestras para la prueba de Mínima Diferencia significativa (MDS) ( $\alpha=0,05$ ). El resultado de MDS fue de 25,76. De forma que se establece que todo par que presente un valor de MDS  $> 25,76$  se pueden considerar dichas muestras como significativamente diferentes entre sí. Este es el caso de los pares de muestras SC-O70T30 y C-O70T30. Además, se pudo establecer que las muestras que la muestra SO70T30 no tiene diferencias apreciables a nivel sensorial con el resto de las muestras: SC, C, O70T30 ( $\alpha=0,05$ ).

## 5. CONCLUSIONES

Los resultados de las diferentes pruebas sensoriales realizadas ponen de manifiesto que la sustitución de sacarosa y jarabe de glucosa, azúcares utilizados habitualmente en la formulación de golosinas tipo goma, por oligofruktosa y tagatosa, repercutió negativamente en la aceptación global de este producto por parte de los jueces. Concretamente, la textura (gomosidad y dureza) fue el parámetro peor valorado en las gominolas con oligofruktosa y tagatosa, en la escala JAR, en comparación con el control. En contrapartida, la incorporación de extractos de stevia tanto a las gominolas con sacarosa y jarabe de glucosa, como con oligofruktosa y tagatosa aumentó el nivel de aceptabilidad global de estos productos, situándose la muestra SC (control con extracto de stevia) a la cabeza de la prueba de ordenación. Los extractos de stevia repercutieron positivamente en la percepción del nivel de dulzor y del aroma del producto por parte de los jueces evaluadores.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores a la Conselleria de Educació, Cultura i Esport la financiación del proyecto GV/2013/029.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BENEO-PALATINIT (2010a) Palatinose™. The only toothfriendly sugar for optimized energysupply. [http://www.beneopalatinit.com/en/Food\\_Ingredients/Isomaltulose/What\\_is\\_Isomaltulose/Palatinose-Brochure\\_EN\\_1.pdf](http://www.beneopalatinit.com/en/Food_Ingredients/Isomaltulose/What_is_Isomaltulose/Palatinose-Brochure_EN_1.pdf). Consultada 25 Junio 2014.
- CHATSUDTHIPONG, V., & Muanprasat, C., (2009). Stevioside and related compounds: Therapeutic benefits beyond sweetness. *Pharmacol. Therapeut.* 121, 41-54.
- EDWARDS, W.P. (2002). La ciencia de las golosinas. Editorial Acribia, S.A., Zaragoza.
- EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY (EFSA) (2011). Revised exposure assessment for steviol glycosides for the proposed uses as a food additive. *EFSA Journal* 2011; 9 (1):1972. doi:10.2903/j.efsa.2011.1972
- FSANZ - Food Standards Australia New Zealand, (2004). D-TAGATOSE: A Human Health Risk Assessment - TECHNICAL REPORT SERIES NO. 29. [en línea]. Dirección URL: <<http://www.foodstandards.gov.au/publications/Documents/D-tagatose.doc>> [Consulta: 24 Jul. 2014].

- GHANTA, S., Banerjee, A., Poddar, A., and Chattopadhyay, S. (2007). Oxidative DNA damage preventive activity and antioxidant potential of *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni, a natural sweetener. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 10962-10967.
- GIBSON, GR, Beatty ER, Wang X and Cummings, JH (1995). Selective stimulation of bifidobacteria in human colon by oligofructose and inulin. *Gastroenterology*, 108, 975-982.
- GOYAL, SK., Samsheer R and Goyal, RK. (2010). *Stevia* (*Stevia rebaudiana*) a bio-sweetener. A review. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 61, 1-10.
- GRANT, L. (2010). Chemical and Physical Stability of Powdered Tagatose as Affected by Temperature and Relative Humidity. Thesis for the Degree of Master of Science. Auburn University.
- GUERRERO, T. y Flores, G. (2014). Posibles riesgos para la salud debido al consumo de aspartame. *Enfoque UTE*, 2, 1 – 13.
- HERNÁNDEZ, S. (2012). Caracterización de espumas dulces formuladas con zumo de fresa natural y edulcorantes saludables. Trabajo Fin de máster. Universidad Politécnica de Valencia.
- LI, Z., Gao, Y., Nakanishi, H., Gao, X. & Cai, L. (2013) Biosynthesis of rare hexoses using microorganisms and related enzymes. *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, 9, 2434–2445.
- NARAYANAN, P., Chinnasamy, B., Jin, L. & Clark, S. (2014). Use of just-about-right scales and penalty analysis to determine appropriate concentrations of stevia sweeteners for vanilla yogurt. *Journal of Dairy Science*, 97 (6), 3262–3272.
- PATERNA, J., Boess, F., Stäubli, A. & Boelsterli, U. (1998). Antioxidant and Cytoprotective Properties of d-Tagatose in Cultured Murine Hepatocytes. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 1, 117–125.
- PERICHE, A., Heredia, A., Escriche, I., Andrés, A., Castelló, M.L. (2014). Optical, mechanical and sensory properties of based-isomaltulose gummy confections. *Food Bioscience*, 7, 37– 44.
- ISO 5492 (2008) Sensory Analysis. Vocabulary. International Organization for Standardization.
- UNE-ISO 8587 (2010) Análisis sensorial. Metodología. Ordenación. AENOR. Madrid, España.

## 7. TABLAS Y FIGURAS

**TABLA 1.** Resultados de la Prueba de ordenación de las formulaciones control (C), de las formulaciones control (C), control con extracto de stevia (SC), con sustitución de los azúcares convencionales por oligofructosa y tagatosa (O70T30), y con oligofructosa, tagatosa y extracto de stevia (SO70T30). Tabla de Puntuación, según el orden de Preferencia<sup>1</sup>

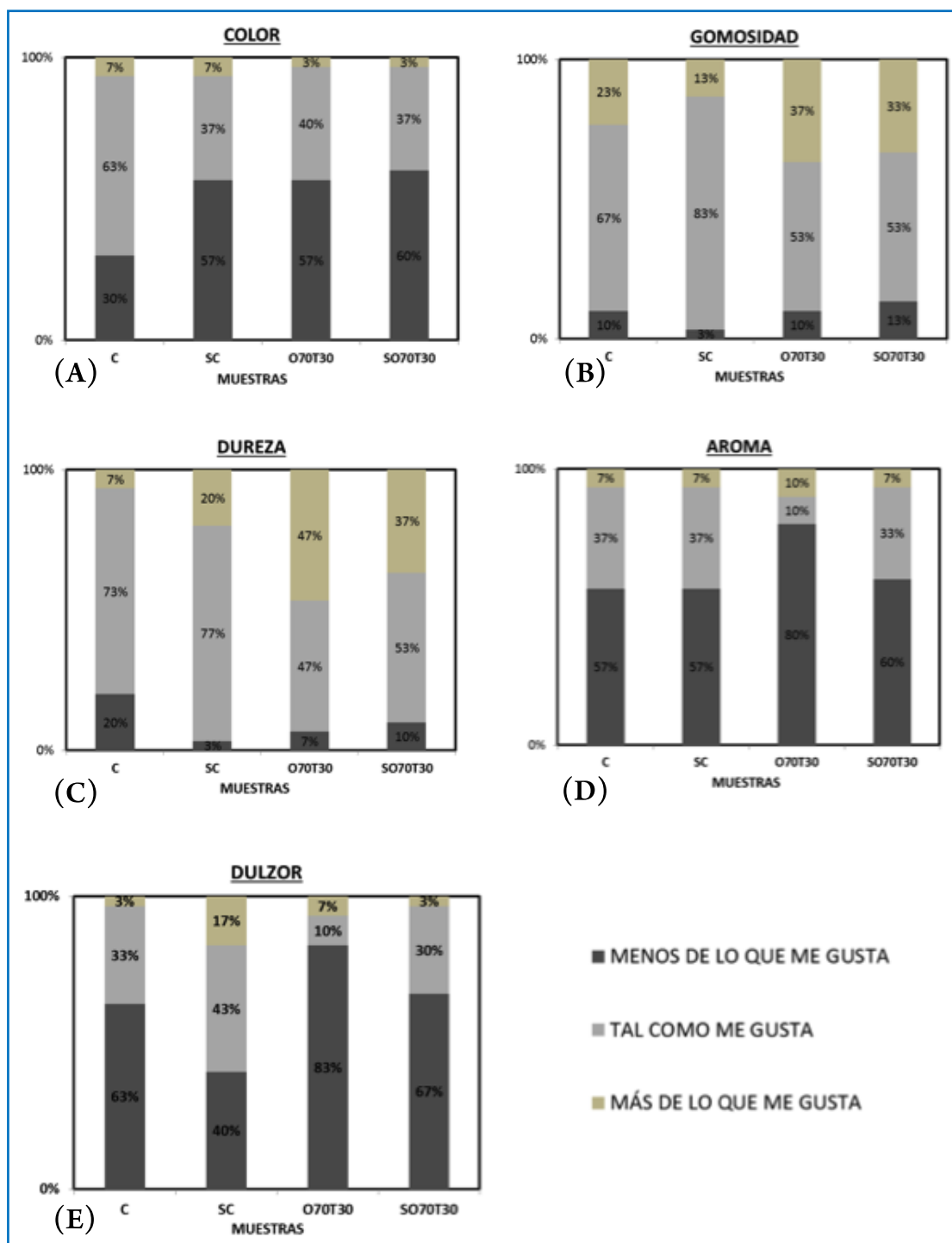
| Formulación | Ordenación | Suma de Ordenaciones |
|-------------|------------|----------------------|
| SC          | 1°         | 88                   |
| C           | 2°         | 86                   |
| SO70T30     | 3°         | 69                   |
| O70T30      | 4°         | 57                   |

<sup>1</sup> Según indica la Norma UNE-ISO 8587; “Tabla de valores críticos de F”, que relaciona el número de jueces con el número de muestras, el valor crítico es de 7,81 ( $\alpha=0,05$ ). La F de Friedman hallada es igual a 13. P or lo tanto al ser mayor que el valor crítico, podemos decir que sí existen diferencias significativas con un riesgo de error de 5 %.

**TABLA 2.** Resultados de la prueba de la Mínima diferencia significativa (MDS)<sup>2</sup> de las formulaciones control (C), control con extracto de stevia (SC), con sustitución de los azúcares convencionales por oligofructosa y tagatosa (O70T30), y con oligofructosa, tagatosa y extracto de stevia (SO70T30)

| Diferencia (en valor absoluto) entre 2 muestras<br>( $\alpha = 0,05$ ) |    |
|--|----|
| SC - C   | 2  |
| SC - SO70T30   | 19 |
| SC - O70T30  | 31 |
| C - SO70T30  | 17 |
| C - O70T30   | 29 |
| O70T30 - SO70T30   | 12 |

<sup>2</sup>MDS = 25,76. Si la diferencia entre dos muestras individuales es superior a dicho valor, hay diferencias significativas entre dichas muestras.



**FIGURA 1.** Distribución de frecuencias (%) de los atributos analizados por la escala de JAR (Color (A), Gomosidad (B), Dureza (C) Aroma (D) y Dulzor (E) en las formulaciones control (C), control con extracto de stevia (SC), con sustitución de los azúcares convencionales por oligofructosa y tagatosa (O70T30), y con oligofructosa, tagatosa y extracto de stevia (SO70T30)



# INFLUENCIA DE LA REFORMULACIÓN DE GOMINOLAS CON EDULCORANTES FUNCIONALES (ISOMALTULOSA, TAGATOSA, OLIGOFRUCTOSA Y STEVIA) EN SUS PROPIEDADES ÓPTICAS

Ángela Periche, Paloma Quintanilla, María Luisa Castelló, Ana Heredia, Isabel Escriche, Ana Andrés

## 1. RESUMEN

El aspecto de los alimentos es uno de los factores que más influye en la toma de decisiones sobre su adquisición. En el caso del sector de la confitería este parámetro es si cabe todavía más importante ya que su compra, en la mayoría de las ocasiones, se realiza por impulso. Por tanto, es crucial garantizar un color agradable en el desarrollo de nuevas golosinas o dulces. Por otra parte, la elevada proporción de azúcares presente en los caramelos o gominolas está relacionada con problemas bucodentales, de sobrepeso, así como de aumento en el índice glucémico. La sustitución de los azúcares tradicionales por otros que no tengan asociados estos problemas y que además puedan aportar propiedades beneficiosas para la salud es un desafío que se plantea la industria alimentaria para cubrir la demanda de golosinas, pero más saludables. Así, en el mercado actual se encuentran la tagatosa, la oligofructosa, la isomaltulosa y la stevia, edulcorantes catalogados como no cariogénicos. Además, algunos de ellos tienen un bajo (tagatosa y oligofructosa) o nulo poder calórico (stevia) y pueden tener efectos prebióticos (oligofructosa) e incluso terapéuticos (stevia). Por ello, el objetivo de este trabajo ha sido evaluar la reformulación de golosinas tipo goma con diferentes combinaciones de edulcorantes saludables sobre su color, analizando los cambios en la translucidez (coeficiente de Kubelka Munk,  $K/S$ ) y en las coordenadas CIEL<sup>\*</sup>a<sup>\*</sup>b<sup>\*</sup> de las muestras durante 45 días de almacenamiento. Los resultados obtenidos indican que la oligofructosa mantuvo la translucidez de las gominolas a lo largo del tiempo. En

---

CONTACTO: María Luisa Castelló [mcasgo@upvnet.upv.es](mailto:mcasgo@upvnet.upv.es)  
Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos para  
el Desarrollo. Universitat Politècnica de València. Camino  
de Vera s/n, 46022, Valencia, Spain.

contraposición, el empleo de tagatosa a elevadas concentraciones aumentó su opacidad, y redujo la pureza de color, como consecuencia de su cristalización. Además, la incorporación de extracto acuoso de stevia en las gominolas aumentó el K/S en longitudes de onda inferiores a 475 nm. El uso de isomaltulosa junto con tagatosa, generó perfiles de color y translucidez similares a los de azúcares convencionales, pero no se mantuvieron en el tiempo. Por otra parte, al final del almacenamiento aumentó el tono de las gominolas aunque en menor medida en presencia de extracto de stevia. En conclusión, se recomendaría la reformulación de las gominolas con proporciones de oligofruktosa iguales o superiores al 50 % para mantener su translucidez, mientras que no serían adecuadas concentraciones de tagatosa mayores al 50 %. Por último, el extracto de stevia podría considerarse un protector del color de las gominolas.

## 2. INTRODUCCIÓN

La elaboración de las gominolas suele contener altas concentraciones de azúcares, combinadas con un gelificante, ácidos, saborizantes y colorantes. Respecto a los azúcares convencionales, los más utilizados suelen ser la sacarosa y el jarabe de glucosa, por sus propiedades tecnológicas (Edwards, 2002) a pesar de los problemas de salud asociados a su consumo, como son la obesidad, la diabetes y caries. El consumo habitual de las golosinas está vinculado a la población infantil, por lo que son si cabe más preocupantes. Afortunadamente en el mercado es posible encontrar edulcorantes artificiales, como sustitutos sintéticos al azúcar, que pueden tener un reducido o nulo poder calórico. No obstante, algunos de estos edulcorantes podrían tener implicaciones toxicológicas (Guerrero & Flores, 2014), además de no satisfacer las necesidades tecnológicas propias de los azúcares tradicionales. En la actualidad, la industria agroalimentaria tiene a su disposición nuevas alternativas de azúcares y edulcorantes naturales, metabolizables por el organismo y que aportan además ventajas nutricionales, como son: la tagatosa, la oligofruktosa, la isomaltulosa y la stevia.

La tagatosa es un monosacárido de origen natural que se produce a partir de la lactosa en un proceso de hidrólisis enzimática. Su poder edulcorante es de 92 % respecto a la sacarosa (FSANZ, 2004). Además, tiene bajo poder calórico, es prebiótico, y también no cariogénico (Li *et al.*, 2013). Sus características sensoriales permiten su uso como potenciador de sabor de productos lácteos, de confitería y pastelería (Grant, 2010) y presenta cierta capacidad antioxidante (Paterna *et al.*, 1998).

Por otro lado, la oligofructosa es un oligosacárido derivado de la sacarosa, tiene un bajo valor calórico, y un poder edulcorante aproximadamente entre un 30 y un 50 % respecto a la sacarosa (Coussement, 1999). Entre sus propiedades, actúa como fibra dietética regulando el tránsito gastrointestinal. Además, se le atribuye un efecto prebiótico ya que favorece selectivamente el crecimiento de las bacterias lácticas (Grant, 2010), mejora la absorción del calcio, reduce el colesterol y los niveles de azúcar en sangre (Chacón-Villalobos, 2006).

En cuanto a la isomaltulosa, es un disacárido reductor compuesto de glucosa y fructosa. Se encuentra en la miel de abeja y en la caña de azúcar y se obtiene por una reacción de transglucosidación (Weidenhagen & Lorenz, 1957; Lina *et al.*, 2002). Entre sus características, la isomaltulosa posee un bajo índice glucémico y es no cariogénica. A diferencia de otros edulcorantes artificiales, como los polioles (sorbitol) y similares, no tiene efecto laxante (Weidenhagen & Lorenz, 1957), aunque su poder edulcorante, sólo es un tercio respecto a la sacarosa (Peinado, 2011).

La stevia (*Stevia rebaudiana*) se ha utilizado tradicionalmente como un edulcorante natural en Sudamérica, y desde hace más de 20 años en Japón. El extracto acuoso de las hojas, contiene glucósidos de steviol (steviósidos) (Calzada-León *et al.*, 2013), que pueden alcanzar hasta 300 veces mayor dulzor que el de la sacarosa, además de compuestos antioxidantes tales como polifenoles (Hanson & De Oliveira, 1993). Entre sus propiedades destacan un efecto hipotensor y regulador de glucosa en sangre, anticariogénico, antiinflamatorio, diurético, antimicrobiano, antitumoral y antioxidante (De *et al.*, 2013) y no contiene calorías. Por todo ello, presenta un importante potencial para la reformulación de nuevos productos (Hernández, 2012).

El objetivo de este trabajo es estudiar la potencialidad tecnológica de distintas combinaciones de azúcares saludables (tagatosa, oligofructosa e isomaltulosa), así como del extracto acuoso de stevia sobre las propiedades ópticas de gominolas tipo goma durante 45 días de almacenamiento.

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **FORMULACIÓN DE LAS GOMINOLAS**

Las gominolas se elaboraron con un 51,7 % de azúcares, un 39,8 % de fracción acuosa (agua o extracto acuoso de stevia), 8 % de gelatina, 0,5 % de ácido cítrico, 200 µL de colorante y 250 µL de aroma. Las formulaciones se nombraron de acuerdo a los

porcentajes de azúcares utilizados en su composición, como se muestra en la Tabla 1. El porcentaje de isomaltulosa utilizado no superó el 33,3 % por las limitaciones en la solubilidad de este azúcar a temperatura ambiente (Periche *et al.*, 2014a). La extracción sólido-líquido de la stevia (previamente tratadas con radiación ultravioleta para eliminar la contaminación) se realizó en agua, con una relación producto: disolvente de 1:100 (p/p) mediante una extracción a presión atmosférica a 90 °C durante 5 minutos (Periche *et al.*, 2014b). Finalmente se filtró la mezcla para su incorporación en las gominolas, que fueron elaboradas siguiendo el protocolo descrito por Periche *et al.*, 2014a.

#### **DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES ÓPTICAS**

La determinación de las propiedades ópticas se realizó en un espectrocolorímetro (Minolta, modelo CM-3600d), utilizando las coordenadas del espacio de color CIEL \*a\*b\*, considerando como sistema de referencia el iluminante D65 y el observador 10°. Las medidas se realizaron sobre fondo negro y blanco ya que las muestras eran inicialmente translúcidas para poder aplicar posteriormente la teoría de Kubelka-Munk.

#### **4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En la Figura 1 se presentan los diagramas del coeficiente de K/S en función de la longitud de onda considerada para todas las gominolas estudiadas organizadas en diferentes gráficas en función de su composición. En general, inicialmente todas las gominolas presentaron una traslucidez inferior al de las muestras control, excepto en el caso de la formulación I30T70 en la que se registraron valores de K/S similares a la control. A continuación se procederá a comentar las diferencias encontradas en cada grupo de gominolas estudiado en función de la combinación de azúcares utilizada. Concretamente, en la Figura 1A se presentan los resultados iniciales y tras 45 días de almacenamiento de las muestras control con y sin stevia. Como se puede ver, en las muestras control independientemente del porcentaje de sacarosa y jarabe de glucosa utilizado (C y CC) no presentaron diferencias a día 0, mientras que las muestras control con stevia, tuvieron una traslucidez ligeramente menor, siendo destacable los mayores niveles de K/S para longitudes de onda inferiores a 450 nm. En cuanto al efecto del tiempo de almacenamiento, resaltar que la stevia mantuvo

mejor la traslucidez de su formulación, seguida de la muestra control de mayor concentración de sacarosa. Por otra parte, en la Figura 1B, se presentan los resultados de las muestras formuladas con presencia de isomaltulosa junto con los otros edulcorantes estudiados, salvo la stevia. En este caso, las muestras con mayor proporción de tagatosa (I30T70), presentaron una traslucidez inicial similar a las control, pero descendió considerablemente con el tiempo de almacenamiento, perdiendo la apariencia típica de las gominolas, por la cristalización de los azúcares. Por ello, se detuvieron los análisis de estas muestras a los 21 días del estudio. Además, en la muestra I30O70, transcurridos 45 días de almacenamiento, hubo un aumento de K/S en el rango de 400 a 500 nm, sin apreciarse diferencias para el resto de las longitudes de onda. Respecto a la muestra IOT33, comentar que se comportó de manera similar a la I30O70, pero reduciendo en mayor medida su traslucidez en longitudes de onda mayores de 500 nm al final del análisis. En cuanto a la combinación de la tagatosa, tanto comercial como pura, con la oligofructosa (Figura 1C), resaltar que el empleo de tagatosa pura dio lugar a muestras prácticamente opacas al inicio y sobre todo al final del almacenamiento, debido probablemente a la superación del punto de solubilidad de este edulcorante. Por otra parte, tanto la tagatosa comercial como la combinación de tagatosa pura con oligofructosa dieron valores de K/S similares al inicio del estudio. Esto es debido a que la tagatosa comercial está compuesta por un porcentaje muy elevado de inulina, que también es una fibra soluble con características muy parecidas a la oligofructosa. El tiempo de almacenamiento también redujo en estos casos la traslucidez. Por último, en la Figura 1D se presentan los resultados de la combinación de oligofructosa, tagatosa y stevia. En general, las curvas de traslucidez fueron similares a las de las muestras control, tanto con stevia como sin stevia. Sin embargo, es destacable que a los 45 días, en todos los casos aumentaron los valores de K/S para longitudes de onda inferiores a 475 nm. Además, la muestra con menor traslucidez de este grupo fue la SO50T50 a los 45 días, probablemente asociado al aumento de los sólidos solubles conferido por la stevia, como se ha visto anteriormente, unido a su alta proporción de tagatosa, lo que favoreció la precipitación en mayor medida de éste azúcar. Para sintetizar los resultados de este apartado, con las pruebas realizadas, y con los resultados descritos, se observa una tendencia relacionada con la oligofructosa que se asocia con una mayor protección y mantenimiento de la traslucidez de las gomas a lo largo del tiempo, consiguiendo unas muestras estables. En contraposición, la tagatosa tiende

a cristalizar cuando se encuentra en altas concentraciones. Respecto a la stevia, resaltar su efecto en el aumento del K/S en longitudes de onda inferiores a 475 nm.

La representación en el diagrama cromático  $a^*b^*$  de los resultados obtenidos se muestra en la Figura 2, desglosados también por grupos de combinaciones de edulcorantes estudiados. Como se puede observar, al inicio del almacenamiento, la incorporación de stevia supuso un aumento muy marcado en la coordenada  $b^*$ , lo que aumentó el tono de las gominolas respecto al control independientemente de la proporción de sacarosa considerada (Figura 2A1). De esta manera, la stevia favoreció la aparición de coloraciones más amarillentas en las gominolas. Por otra parte, la incorporación de isomaltulosa (Figura 2B1) mantuvo muy similar el color de las gominolas respecto al control, como ocurrió también en la traslucidez, aunque el tono fue ligeramente superior. En cuanto a la tagatosa comercial, redujo significativamente los valores de  $a^*$  y  $b^*$  dando lugar a menores valores de tono y croma, a diferencia de lo observado con la tagatosa pura y la combinación de ésta con oligofructosa en la muestra O30T70 (Figura 4C1). Por otra parte, la combinación de oligofructosa y tagatosa en las otras proporciones (Figura 4D1), solo aumentó ligeramente el tono respecto al control. Sin embargo, la incorporación de extracto acuoso de stevia incrementó significativamente el tono de las muestras debido únicamente al aumento en la coordenada  $b^*$ , es decir hacia colores más amarillentos siguiendo la misma tendencia que en el control con stevia. Al final del almacenamiento cabe resaltar que la incorporación de stevia en el control mantuvo prácticamente igual la posición de las coordenadas  $a^*$  y  $b^*$ , por lo que el croma y el tono no se vieron modificados. Sin embargo, las muestras control sin stevia, aumentaron  $b^*$  independientemente de la combinación sacarosa-jarabe de glucosa empleada, y sólo se incrementó  $a^*$  cuando se usó más jarabe de glucosa, pero manteniendo el tono inicial tanto en C como en CC (Figura 4A2). En general, en el resto de formulaciones se observó un aumento del tono al final del almacenamiento, menos reflejado en presencia de extracto de stevia, que actuó como un buen conservador del color. Resaltar que las formulaciones con tagatosa en una proporción igual o superior al 70%, en la composición del azúcar de la gominola, (Figura 4B2 y 4C2) redujeron considerablemente la pureza debido a la evolución hacia colores menos rojizos como consecuencia de la cristalización de los azúcares. Por ello, como se ha comentado anteriormente, el seguimiento de varias de estas muestras (I30T70, O30T70 y TP) se finalizó a los 21 días de almacenamiento. No obstante, para con-

centraciones de tagatosa iguales o inferiores al 50 % (Figura 4D2) en combinación con proporciones de oligofructosa iguales o superiores al 50 %, aumentó significativamente la pureza de las muestras, alcanzado valores más anaranjados, similares a los que tenían las gominolas formuladas en estas condiciones inicialmente pero con extracto acuoso de stevia. Por tanto, si se quiere hacer uso del efecto protector sobre el color de la stevia, a pesar de que su aspecto sea más anaranjado, se recomendaría a su vez, combinarla con proporciones mayores de oligofructosa que de tagatosa.

## **5. CONCLUSIONES**

Desde el punto de las propiedades ópticas, sería posible la reformulación de las gominolas con proporciones de oligofructosa iguales o superiores al 50 % para mantener su translucidez, mientras que no serían adecuadas concentraciones de tagatosa mayores al 50 %. Asimismo, el extracto acuoso de stevia podría considerarse un protector del color de las gominolas, si bien le confiere un tono más anaranjado.

## **AGRADECIMIENTOS**

Los autores a la Conselleria de Educació, Cultura i Esport la financiación del proyecto GV/2013/029.

## **6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- CALZADA-LEÓN, R., Ruiz-Reyes, M., Altamirano-Bustamante, N., & Padrón-Martínez, M. M. (2013). Características de los edulcorantes no calóricos y su uso en niños. *Acta Pediátrica de México*; 34 (3): 141-153.
- CHACÓN-VILLALOBOS, A. (2006). Perspectivas agroindustriales actuales de los oligofructosacáridos (FOS). *Agronomía Mesoamericana*, 2, 265-286.
- COUSSEMENT, P.A. (1999). Inulin and oligofructose: safe intakes and legal status. *Journal of nutrition* 129: 1412S-1417S. Retrieved July 24, 2014 from <http://jn.nutrition.org/content/129/7/1412S.full>
- DE, S., MANDAL, S., & Banerjee, S. (2013). *Stevioside: Technology, Applications and Health*. Ed: Wiley-Blackwell. Chichester, West Sussex, U.K.
- EDWARDS, W.P. (2002). *La ciencia de las golosinas*. Ed. Acriba, S.A. Zaragoza. España.

- FSANZ - Food Standards Australia New Zealand, (2004). D-TAGATOSE: A Human Health Risk Assessment - Technical Report series no. 29. Retrieved July 24, 2014 from <http://www.foodstandards.gov.au/publications/Documents/D-tagatose.doc>
- GUERRERO, T., & Flores, G. (2014). Posibles riesgos para la salud debido al consumo de aspartame. *Enfoque UTE*, 2, 1 – 13.
- GRANT, L. (2010). Chemical and Physical Stability of Powdered Tagatose as Affected by Temperature and Relative Humidity. Thesis for the Degree of Master of Science. Auburn University.
- HANSON J.R.& De Oliveira B.H. (1993). Stevioside and related sweet diterpenoid glycosides. *Natural Product Reports*, 10, 301–309.
- HERNÁNDEZ, S. (2012). Caracterización de espumas dulces formuladas con zumo de fresa natural y edulcorantes saludables. Trabajo Fin de máster. Universidad Politécnica de Valencia.
- LI, Z., Gao, Y., Nakanishi, H., Gao, X., & Cai, L. (2013) Biosynthesis of rare hexoses using microorganisms and related enzymes. *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, 9, 2434–2445.
- LINA, B.R., Jonker, G., & Kozianowski, G. (2002). Isomaltulose (Palatinose Re review of biological and toxicological studies). *Food and Chemical Toxicology*, 40, 1375-1381.
- PATERNA, J., Boess, F., Stäubli, A., & Boelsterli, U. (1998). Antioxidant and Cytoprotective Properties of d-Tagatose in Cultured Murine Hepatocytes. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 1, 117–125.
- PEINADO, I. (2011). Estudio de la utilización de isomaltulosa en el desarrollo de productos untables de fresa de bajo índice glicémico. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia.
- PERICHE, A., Heredia, A., Escriche, I., Andrés, A., & Castelló, M.L. (2014a). Optical, mechanical and sensory properties of based-isomaltulose gummy confections. *Food Bioscience*, 7, 37– 44.
- PERICHE, A., Koutsidis, G., & Escriche, I. (2014b). Composition of Antioxidants and Amino Acids in Stevia Leaf Infusions. *Plant Foods for Human Nutrition*. 69 (1):1–7.
- WEIDENHAGEN & LORENZ (1957). Palatinose (6-alpha-Glucopyranosido fructofuranose), ein neues bakterielles Umwandlungsprodukt der Saccharose, *Zeitschrift für die Zuckerindustrie* 7, 533-534; und *Angewandte Chemie* 69, 641.

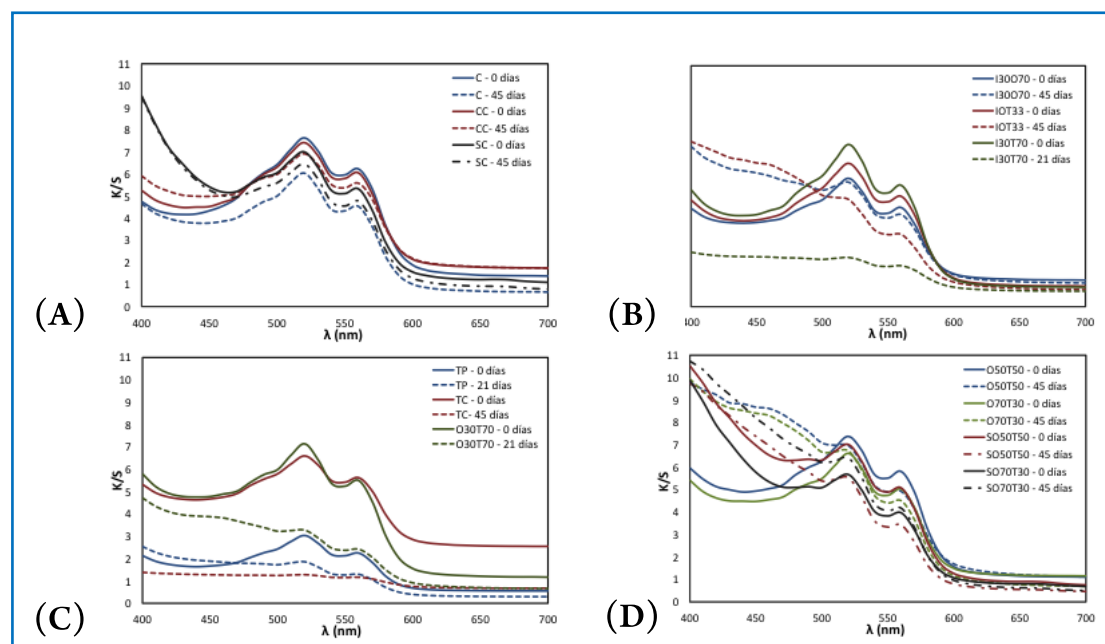


## 7. TABLAS Y FIGURAS

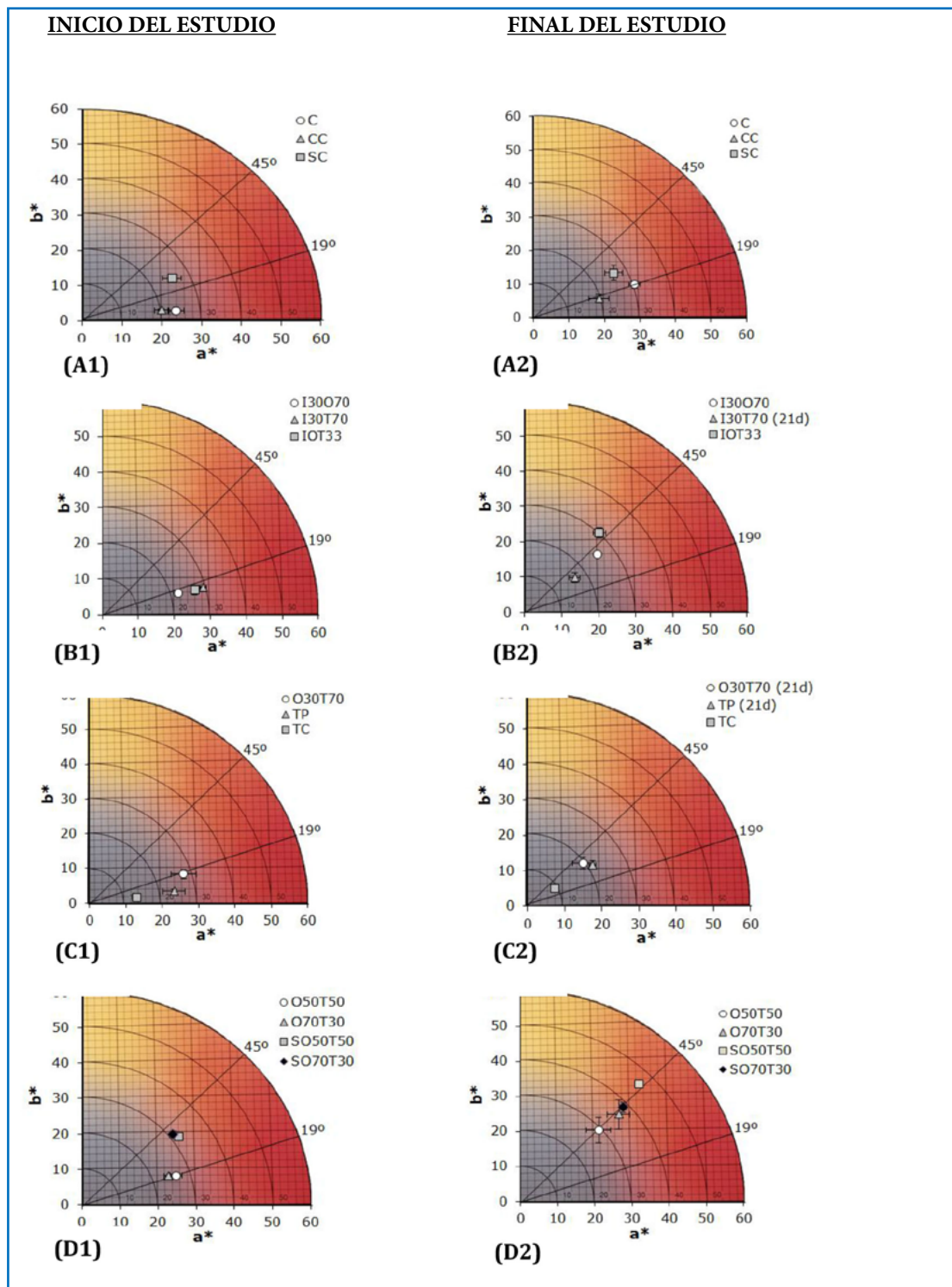
**TABLA 1.** Porcentajes (%) de azúcares respecto a los azúcares totales de las formulaciones

| Código    | Sacarosa | Jarabe de glucosa | Isomaltulosa | Oligofructosa | Tagatosa |
|-----------|----------|-------------------|--------------|---------------|----------|
| C         | 40       | 60                |              |               |          |
| CC        | 60       | 40                |              |               |          |
| I30O70    |          |                   | 30           | 70            |          |
| I30T70    |          |                   | 30           |               | 70       |
| IOT33     |          |                   | 33,3         | 33,3          | 33,3     |
| O50T50    |          |                   |              | 50            | 50       |
| O70T30    |          |                   |              | 70            | 30       |
| O30T70    |          |                   |              | 30            | 70       |
| TP        |          |                   |              |               | 100      |
| TC*       |          |                   |              |               | 100      |
| SC**      | 40       | 60                |              |               |          |
| SO50T50** |          |                   |              | 50            | 50       |
| SO70T30** |          |                   |              | 70            | 30       |

\*Tagatosa comercial: "Damhert Nutrition" [compuesta por: tagatosa (39,9%), isomalta, fibras alimentarias: inulina y oligosacáridos, sucralosa (0.02%)]. \*\*Formulaciones donde se substituyó el agua de la composición (39,8%) por extracto acuoso de stevia al 1% (p/p)



**FIGURA 1.** Curvas de coeficiente de Kubelka-Munk (K/S) para las distintas combinaciones de azúcares estudiadas en la reformulación de gominolas al inicio y al final del almacenamiento. A) Control estándar (C), control con stevia (SC) y control con más sacarosa (CC); B) Combinación de isomaltulosa, oligofructosa y tagatosa; C) Tagatosa pura (TP), comercial (TC) y combinación de tagatosa pura con oligofructosa; D) Combinación de oligofructosa y tagatosa con y sin stevia



**FIGURA 2.** Ubicación en el diagrama cromático  $a^*$  -  $b^*$  el color de las gominolas obtenidas con distintas combinaciones de azúcares al inicio (1) y al final del almacenamiento (2). A) Control estándar (C), control con stevia (SC) y control con más sacarosa (CC); B) Combinación de isomaltulosa, oligofruktosa y tagatosa; C) Tagatosa pura (TP), comercial (TC) y combinación de tagatosa pura con oligofruktosa; D) Combinación de oligofruktosa y tagatosa con y sin stevia

# EFFECTO DE LA INCORPORACIÓN DE POLICAPROLACTONA Y POLIETILENGLICOL EN LAS PROPIEDADES ÓPTICAS Y DE BARRERA AL VAPOR DE AGUA DE PELÍCULAS A BASE DE ALMIDÓN

Rodrigo Ortega-Toro, María Amparo Muñoz, Pau Talens, Amparo Chiralt

## 1. RESUMEN

El interés por el desarrollo de materiales biodegradables se ha incrementado durante las últimas décadas. El almidón cuenta con aceptación general por su disponibilidad y propiedades termoplásticas aunque presenta algunas características desfavorables que impiden su uso práctico en la industria de empaques. En el presente trabajo se estudiaron películas a base de almidón de maíz con adición de 5 y 10 % de policaprolactona (PCL) alternando el uso de polietilenglicol (PEG). Se determinaron los parámetros de rugosidad  $R_a$  y  $R_q$ , las propiedades ópticas (brillo y transmitancia interna ( $T_i$ )) y la permeabilidad a vapor de agua (PVA) de las películas almacenadas a 53 % de humedad relativa (RH) y 25 °C durante 1 semana. Se observó que la adición de PCL suavizó la superficie de las películas mientras que la adición de PEG incremento la rugosidad significativamente ( $p < 0.05$ ), correlacionándose los valores  $R_a$  y  $R_q$  con la magnitud del brillo. Por su parte  $T_i$  disminuyó significativamente al adicionar PCL mientras que tendió a aumentar cuando se adicionó PEG sugiriendo la separación de las cadenas poliméricas por su efecto plastificante. Por su parte los valores de PVA tendieron a disminuir con la adición de PCL. Cuando se adicionó PEG a la formulación a base de almidón presentó un aumento significativo de PVA mientras que su efecto en las mezclas de polímeros provocó una ligera disminución. Los resultados sugieren que tanto el PEG como

---

CONTACTO: Amparo Chiralt [dchiralt@tal.upv.es](mailto:dchiralt@tal.upv.es)

Rodrigo Ortega-Toro [rodorto@etsiamn.upv.es](mailto:rodorto@etsiamn.upv.es)

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

el PCL actúan como plastificantes de la matriz de almidón cuando se agregan por separado. Sin embargo, cuando estos polímeros se usan en la misma formulación en una matriz de almidón, se producen interacciones desfavorables que limitan la adhesión interfacial.

## 2. INTRODUCCIÓN

Los polímeros sintéticos se utilizan ampliamente en el envasado de alimentos por sus propiedades y su bajo coste de producción. Sin embargo, estos materiales no son biodegradables lo que ha promovido el uso de alternativas inocuas con el medio ambiente, como los materiales de fuentes renovables (Weber *et al.*, 2002). Entre los polímeros naturales, el almidón es considerado un buen candidato para el desarrollo de películas biodegradables porque es económico, tiene amplia disponibilidad, es renovable, biodegradable y relativamente fácil de procesar. Además, sus características permiten formar una matriz continua, (Bertuzzi *et al.*, 2007; Talja *et al.*, 2007), presentando ésta, buenas propiedades barrera al oxígeno (Dole *et al.*, 2004), al dióxido de carbono y a lípidos. Sin embargo, el almidón presenta algunos inconvenientes como retrogradación con el tiempo, fuerte carácter hidrofílico y pobres propiedades mecánicas al compararlo con los polímeros sintéticos convencionales (Teixeira *et al.*, 2009), lo que limita su uso en el envasado de alimentos. Diferentes métodos se han utilizado para mejorar las limitaciones del almidón, entre ellas, la modificación química, la plastificación y la mezcla con otros polímeros y/o aditivos. En cuanto a los plastificantes, deben ser compatibles con el polímero generando una mezcla homogénea sin separación de fases (Mali *et al.*, 2002) y al incluirse en la matriz, mejorar las propiedades mecánicas y térmicas del polímero.

En este trabajo se incorpora el polietilenglicol (PEG) en la composición del film como plastificante. El PEG es un oligómero y/o polímero con una estructura repetitiva de  $-CH_2-CH_2-O-$  y con dos grupos hidroxilo ( $-OH$ ) finales, lo que hace que sea afín al almidón por su carácter hidrofílico, además de poseer buenas propiedades lubricantes y formadoras de films (Dhawan *et al.*, 2005).

El uso de un segundo polímero, como los poliésteres alifáticos, el alcohol de polivinilo o los biopolímeros, es otra opción para mejorar las limitaciones del almidón. Entre los poliésteres, se incluye la poli ( $\epsilon$ -caprolactona) (PCL). La PCL es un polímero lineal, hidrófobo y parcialmente cristalino, que posee buenas propiedades mecánicas

como alta flexibilidad. Su deformación en el punto de fractura y la resistencia a la tracción es del 1100% y el 33 MPa respectivamente (Matzinos *et al.*, 2002). Muchos autores han estudiado las mezclas entre almidón y PCL (Avella *et al.*, 2000; Averous *et al.*, 2000; Matzinos *et al.*, 2002; Singh *et al.*, 2003; Wu, 2003; Ortega-Toro *et al.*, 2015), mostrando que algunos problemas de los films de almidón, como su baja deformación y su alta sensibilidad al agua, se ven mejoradas con la adición de PCL a la matriz de almidón incluso a baja concentración (Averous *et al.*, 2000).

Considerando las dos opciones anteriormente comentadas, para mejorar las propiedades de los films biodegradables a base de almidón y su procesamiento, el objetivo de esta investigación es analizar la influencia de PCL y PEG sobre las propiedades ópticas, propiedades de barrera al vapor de agua y propiedades estructurales de films a base de almidón elaborados mediante moldeo por compresión.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### MATERIALES

Para la elaboración de los films se utilizó almidón de maíz suministrado por Roquette S.A. (Laisa, España), glicerol suministrado por Panreac Química S.A. (Castellar del Vallés, Barcelona), polietilenglicol (PEG) y policaprolactona (PCL) suministrado por Aldrich Chemistry (Sigma-Aldrich Co. LLC Madrid, España). Los pesos moleculares del PEG y la PCL fueron 4000 y 80000 Da respectivamente. Para el acondicionamiento de los films se utilizó nitrato de magnesio 6-hidrato suministrado por Panreac Química, S.A. (Castellar del Vallés, Barcelona, España).

#### DISEÑO Y PREPARACIÓN DE LAS FORMULACIONES

Se prepararon dos formulaciones control: S (almidón y glicerol) y PCL (Policaprolactona pura), y cinco formulaciones mezcla con diferente proporción de S-PCL-PEG. La PCL se agregó a 0, 5 y 10% respecto al almidón y el PEG a 0 y 2% respecto al almidón contenido en la formulación (S-PEG<sub>2</sub>: 2% de PEG sin PCL; S-PCL<sub>5</sub>: 5 de PCL sin PEG; S-PCL<sub>5</sub>-PEG<sub>2</sub>: 5% de PCL y 2% de PEG; S-PCL<sub>10</sub>: 10% de PCL sin PEG y S-PCL<sub>10</sub>-PEG<sub>2</sub>: 10% de PCL y 2% de PEG). El glicerol se adicionó a todas las formulaciones manteniendo una proporción de almidón: glicerol de 1:0.3.

Las formulaciones se obtuvieron mezclando la cantidad necesaria de cada componente para obtener 40 g de mezcla. Las mezclas se prepararon disolviendo pri-

mero el PEG y el glicerol en agua, posteriormente se agregó el almidón a la disolución acuosa y finalmente se añadió la PCL.

### **OBTENCIÓN DE LOS FILMS**

Para la obtención de los films, se utilizó una mezcladora  $\mu$ -Scientific de doble rodillo de sobremesa (Modelo LRM-M-100, Labtech Engineering, Tailandia). La velocidad de los rodillos fue de 8 rpm, de acuerdo a la metodología planteada por Ortega-Toro *et al.*, 2014.

El proceso de mezclado se realizó durante 30 min utilizando espátulas propias del equipo para asegurar, la disrupción y fusión de los gránulos almidón de maíz. Posteriormente, se almacenaron las masas durante 72 h a 25 °C y 53 % de humedad relativa (HR). Transcurrido ese tiempo, se realizó el prensado de la masa en una prensa hidráulica  $\mu$ -Scientific de sobremesa (Modelo LP20, Labtech Engineering, Tailandia). Primero se precalentó la mezcla durante 5 min y luego se realizó el prensado en dos etapas, la primera a 50 bares de presión durante 2 min y la segunda a 150 bares durante 6 min, para finalizar con una etapa de enfriamiento durante 3 min (Ortega-Toro *et al.*, 2014). Se obtuvieron un mínimo de 10 films por cada formulación que se acondicionaron durante 1 semana a 25 °C y 53 % de HR para su posterior caracterización.

### **CARACTERIZACIÓN DE LOS FILMS**

La topografía superficial de los films se analizó por microscopía de fuerza atómica (AFM) utilizando un microscopio de fuerza atómica (Multimode 8, Bruker AXS, Santa Barbara, USA) con un controlador electrónico NanoScope® V en modo Peak-Force QNM. Se siguió la metodología planteada por Ortega-Toro *et al.*, 2014 obteniendo imágenes AFM en 3D de la superficie y los parámetros de rugosidad.

La permeabilidad al vapor de agua (PVA) de los films se determinó mediante una modificación del método gravimétrico E96-95 (ASTM, 1995). Se utilizaron copas de permeabilidad Payne (Elcometer SPRL, Hermelle/s Argenteau, Bélgica) de 3.5 cm de diámetro. Se añadieron 5 mL de agua destilada en el interior de las copas y éstas se introdujeron en un desecador equilibrado con una disolución saturada de nitrato magnésico (53 % de HR a 25 °C). El desecador, a su vez, se introdujo en una cámara a una temperatura controlada de 25 °C. El estudio de la permeabilidad se realizó mediante controles de peso de cada copa con una balanza electrónica

( $\pm 0,00001$  g) (ME36S Sartorius, Alemania) a intervalos de 2 h durante un periodo de tiempo de 24 h, siguiendo la metodología descrita por Fabra *et al.*, 2008 y realizando tres medidas por formulación.

La transparencia de los films se determinó a partir de los espectros de reflexión (400-700 nm) medidos sobre fondo blanco y fondo negro, usando un espectrocolorímetro MINOLTA, modelo CM-3600d (Minolta Co., Tokio, Japón). La teoría de Kubelka-Munk de dispersión múltiple se aplicó para obtener la transmitancia interna (Ti) de los films que se correlaciona con la transparencia de los mismos. En relación al brillo, éste se midió sobre la superficie libre de los films durante el secado considerando un ángulo de incidencia de 85° de acuerdo al método estándar D523 (ASTM, 1999) y usando un brillómetro de superficie (Multi Gloss 268, Minolta, Alemania). Las medidas se realizaron a tres films por formulación y cada uno por triplicado. Los resultados se expresan como unidades de brillo en relación a una superficie pulida de cristal negro estándar que tiene un valor de brillo cercano a 100.

#### **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

El análisis estadístico de los datos se realizó mediante el análisis de la varianza (ANOVA) utilizando el programa Statgraphics Plus para Windows 5.1 (Manugistics Corp., Rockville, MD). Para discernir entre las medias se utilizó el procedimiento de las menores diferencias significativa de Fisher con un nivel de confianza del 95 %.

#### **4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Es importante estudiar la morfología de los films debido a que muchas de sus propiedades dependen de ella. En muchos casos el menor componente del film forma la fase dispersa mientras que el mayor componente forma la fase continua. La morfología del film depende de parámetros como la naturaleza de los polímeros, la composición y también de las condiciones de proceso (Matzinos *et al.*, 2002). La Figura 1 muestra las imágenes AFM 3D para las formulaciones control (S y PCL) y las diferentes mezclas estudiadas. Se observa que las formulaciones control presentan matrices continuas y homogéneas. Cuando se adiciona PCL se puede apreciar la disminución de la rugosidad superficial, especialmente en el caso de S-PCL<sub>5</sub>. La heterogeneidad superficial es más evidente en la formulación S-PCL<sub>10</sub>, al estar el PCL en mayor proporción.

Por otra parte, cuando el PEG es incorporado a las diferentes formulaciones se aprecia la formación de estructuras que incrementan la rugosidad de la superficie. El incremento de rugosidad de las mezclas podría ser causado por la separación de fases entre el almidón y la policaprolactona. En estas muestras, el PEG, por su carácter hidrofílico (HLB: 18.5) (Cao y Aita, 2013; Kohle *et al.*, 2014) es más afín al almidón, limitando las interacciones del almidón con la PCL.

La Tabla 1 muestra los valores obtenidos de permeabilidad al vapor de agua (PVA) para los films, a 25 °C y 53 % HR. La PCL es un polímero hidrófobo, por ello su incorporación a la matriz de almidón disminuye de forma significativa ( $p < 0.05$ ) este parámetro, aunque el cambio no es significativo en S-PCL<sub>5</sub> por la baja cantidad de PCL adicionada. Por otro lado la adición de PEG a la matriz de almidón aumenta los valores de PVA de forma significativa ( $p < 0.05$ ) por su carácter hidrófilo. Sin embargo, la adición de PEG a las mezclas disminuye los valores de PVA. Al incorporar el PEG a las formulaciones mezcla, y ser éste más afín al almidón, limita las interacciones entre el almidón y la PCL, quedando ésta libre dentro de la matriz, y teniendo en cuenta su carácter hidrófobo, reduce la PVA en las formulaciones mezcla.

La Tabla 2 presenta los valores de rugosidad promedio obtenida mediante Microscopía de Fuerza Atómica (AFM), los valores de brillo, correspondientes a un ángulo de incidencia de 85°, y de transmitancia interna (Ti) a 650 nm para cada formulación estudiada. El brillo de las películas está ligado a la morfología de su superficie (Sánchez-González *et al.*, 2010) y, en general, cuanto más lisa sea la superficie, más brillante es el film. La PCL tiene el valor más alto de brillo, lo que concuerda con los valores de rugosidad superficial obtenidos. Sin embargo, su adición a la matriz de almidón no afectó significativamente ( $p > 0.05$ ) al valor del brillo debido a la poca cantidad adicionada, como tampoco hubo cambios significativos en este parámetro por la incorporación de PEG en el almidón y en las mezclas.

Los valores de Ti se redujeron al incorporar PCL a la matriz, debido a que la PCL aporta opacidad al film. Por otro lado, la adición de PEG a la matriz de almidón no afecta significativamente al valor de Ti, pero sí que se observó un aumento significativo ( $p < 0.05$ ) en las mezclas.



## 5. CONCLUSIONES

La incorporación de PCL disminuyó la rugosidad superficial de las películas mientras que la adición de PEG tuvo el efecto contrario, lo cual se observa en las imágenes AFM 3D obtenidas. Los parámetros de rugosidad están en concordancia con los valores de brillo para las muestras estudiadas. Por otro lado, la transmitancia interna se redujo al incorporar PCL a la matriz de almidón aportando opacidad y heterogeneidad al film, sin embargo el valor este parámetro aumentó al incorporar PEG. Respecto a la permeabilidad al vapor de agua, la adición de PCL al almidón provoca la disminución de este parámetro, al igual que ocurre cuando se adiciona PEG a las mezclas.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASTM. (1995). Standard test methods for water vapour transmission of materials. Standards Designations: E96-95. Annual book of ASTM standards Philadelphia, PA: American Society for Testing and Materials (pp. 406-413).
- ASTM. (1999). Standard test method for specular gloss. Designation (D523) In Annual book of ASTM standards, Philadelphia, PA: American Society for Testing and Materials. Vol. 06.01.
- AVELLA, M.; Errico, M.E.; Laurienzo, P.; Martuscelli, E., Raimo, M.; Rimedio, R. 2000. Preparation and characterisation of compatibilised polycaprolactone/starch composites. *Polymer*, 41 (10), 3875-3881.
- AVEROUS, L.; Moro, L.; Dole, P.; Fringant, C. 2000. Properties of thermoplastic blends: starch polycaprolactone. *Polymer*, 41 (11) 4157-4167.
- BERTUZZI, M.A.; Armada, M.; Gottifredi, J.C. 2007. Physicochemical characterization of starch based films. *Journal of Food Engineering*, 82 (1), 17-25.
- CAO, Shuo; Aita, Giovanna M. 2013. Enzymatic hydrolysis and ethanol yields of combined surfactant and dilute ammonia treated sugarcane bagasse. *Bioresource Technology*, 131, 357-364
- DHAWAN, S.; Dhawan, K.; Varma, M.; Sinha, V. R. 2005. Applications of poly(ethylene oxide) in drug delivery systems. Part II. *Pharmaceutical Technology*, 29(9), 82-96.
- DOLE, P.; Joly, C.; Espuche, E.; Alric, I.; Gontard, N. 2004. Gas transport properties of starch based films. *Carbohydrate Polymers*, 58 (3), 335-343.

- FABRA, María José; Talens, Pau; Chiralt, Amparo. 2008. Tensile properties and water vapour permeability of sodium caseinate films containing oleic acid-beeswax mixtures. *Journal of Food Engineering*, 85, 393-400.
- KOLHE, Smita; Chaudhari, P.D.; More, Dhananjay. 2014. Dissolution and Bioavailability Enhancement of Efavirenz by Hot Melt Extrusion Technique. *Journal of Pharmacy*, 4 (5) 47-53
- MALI, Suzana; Grossmann, María Victoria E.; García, María A.; Martino, Miriam M.; Zaritzky, Noemí E. 2002. Microstructural characterization of yam starch films. *Carbohydrate Polymers*, 50 (4), 379-386.
- MATZINOS, P.; Tserki, V.; Gianikouris, C.; Pavlidou, E.; Panayiotou, C. 2002. Processing and characterization of LDPE/starch/PCL blends. *European Polymer Journal*, 38 (9), 1713-172.
- ORTEGA-TORO, Rodrigo, Jiménez, Alberto, Talens, Pau, & Chiralt, Amparo. 2014. Properties of starch-hydroxypropyl methylcellulose based films obtained by compression molding. *Carbohydrate Polymers*, 109 (30): 155-165.
- ORTEGA-TORO, Rodrigo; Collazo-Bigliardi, Sofía; Talens, Pau.; Chiralt, Amparo. 2015. Effect of the citric acid addition on the properties and ageing time of starch-polycaprolactone based films. Under revision.
- SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, Laura; Cháfer, Maite; Chiralt, Amparo; González-Martínez, Conzuelo. 2010. Physical properties of edible chitosan films containing bergamot essential oil and their inhibitory action on *Penicillium italicum*. *Carbohydrate Polymers*, 82 (2); 277-283.
- SINGH, R.P.; Pandey, J.K.; Rutot, D.; Degée, Ph.; Dubois, Ph. 2003. Biodegradation of poly( $\epsilon$ -caprolactone)/starch blends and composites in composting and culture environments: The effect of compatibilization on the inherent biodegradability of the host polymer. *Carbohydrate Research*, 338 (17), 1759-1769.
- TALJA, RIKU A.; Helén, Harry; Roos, Yrjö H.; Jouppila, Kirsi. 2007. Effect of various polyols and polyol contents on physical and mechanical properties of potato starch-based films. *Carbohydrate Polymers*, 67 (3), 288- 295.
- TEIXEIRA, ELIANGELA M.; Pasquini, Daniel; Curvelo, Antônio A.S.; Corradini, Elisângela; Belgacem, Mohamed N.; Dufresne, Alain. 2009. Cassava bagasses cellulose nanofibrils reinforced thermoplastic cassava starch. *Carbohydrate Polymers*, 78 (3), 422-431.
- WEBER, C.J.; Haugaard, V.; Festersen, R.; Bertelsen, G. 2002. Production and application of biobased packaging materials for the food industry. *Food Additives & Contaminants*. 19 (1), 172-177.
- WU, CHIN-SAN. 2003. Physical properties and biodegradability of maleated-polycaprolactone/starch composite. *Polymer Degradation and Stability*, 80 (1) 127-134.

## 7. TABLAS Y FIGURAS

**TABLA 1.** Valores de permeabilidad al vapor de agua (WVP) de las diferentes formulaciones estudiadas. Valores medios (desviación estándar)

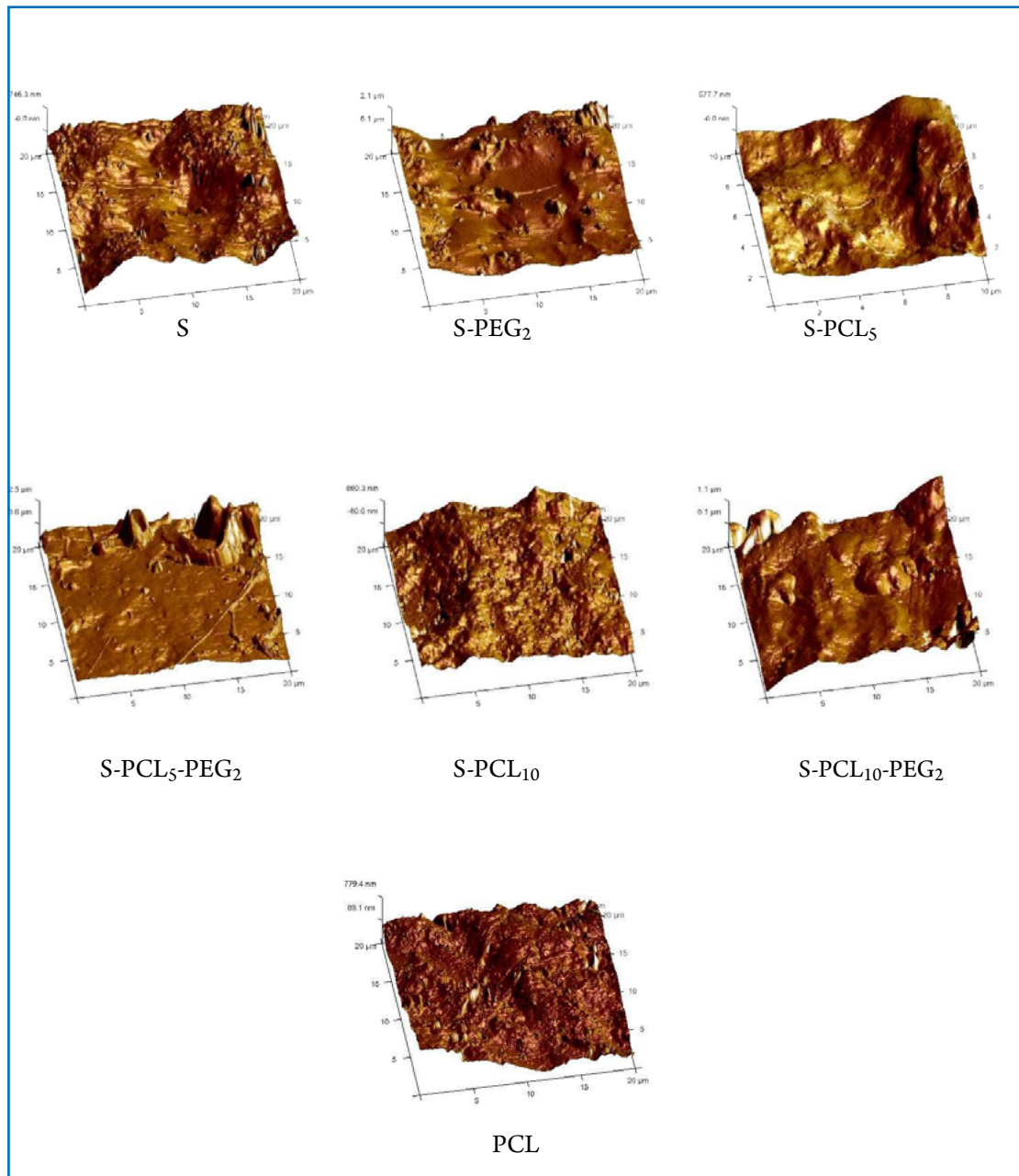
| Formulación                            | WVP (g·mm·kPa <sup>-1</sup> ·h <sup>-1</sup> ·m <sup>-2</sup> ) |
|--|---|
| S                                      | 18.1 (1.4) <sup>cd</sup>  |
| S-PEG <sub>2</sub>                     | 24 (2) <sup>e</sup>   |
| S-PCL <sub>5</sub>                     | 20.41 (0.02) <sup>d</sup>                                       |
| S- PCL <sub>5</sub> -PEG <sub>2</sub>  | 16.2 (1.2) <sup>bc</sup>  |
| S-PCL <sub>10</sub>                    | 14.5 (0.7) <sup>b</sup>   |
| S- PCL <sub>10</sub> -PEG <sub>2</sub> | 14 (2) <sup>b</sup>   |
| PCL                                    | 0.120 (0.04) <sup>a1</sup>                                      |

Diferentes letras superíndices dentro de la misma columna indican diferencias significativas entre formulaciones ( $p < 0.05$ ).

**TABLA 2.** Parámetros de rugosidad superficial obtenidos para cada una de las formulaciones estudiadas. Valores de brillo y transmitancia interna (Ti) de las formulaciones estudiadas. Valores medios (desviación estándar)

| Formulación                            | Parámetros de rugosidad |                        |                         | Brillo (85°)         | Ti (650nm)               |
|--|-------------------------|------------------------|-------------------------|----------------------|--------------------------|
|  | r (%)                   | Ra (nm)                | Rq (nm)                 |                      |                          |
| S                                      | 6.1 (0.9) <sup>ab</sup> | 215 (61) <sup>ab</sup> | 263 (63) <sup>bc</sup>  | 40 (5) <sup>ab</sup> | 85.1 (0.3) <sup>e</sup>  |
| S-PEG <sub>2</sub>                     | 14 (2) <sup>c</sup>     | 431 (62) <sup>c</sup>  | 519 (58) <sup>d</sup>   | 49 (6) <sup>bc</sup> | 83.6 (0.3) <sup>de</sup> |
| S-PCL <sub>5</sub>                     | 3.1 (0.5) <sup>a</sup>  | 132 (45) <sup>a</sup>  | 163 (53) <sup>a</sup>   | 47 (11) <sup>b</sup> | 80.1 (0.7) <sup>b</sup>  |
| S- PCL <sub>5</sub> -PEG <sub>2</sub>  | 11 (5) <sup>c</sup>     | 205 (60) <sup>ab</sup> | 292 (66) <sup>bc</sup>  | 49 (12) <sup>b</sup> | 82.5 (0.3) <sup>cd</sup> |
| S-PCL <sub>10</sub>                    | 13 (5) <sup>c</sup>     | 198 (60) <sup>a</sup>  | 247 (65) <sup>abc</sup> | 37 (9) <sup>a</sup>  | 77.3 (0.6) <sup>a</sup>  |
| S- PCL <sub>10</sub> -PEG <sub>2</sub> | 5 (2) <sup>a</sup>      | 256 (76) <sup>b</sup>  | 314 (52) <sup>c</sup>   | 49 (7) <sup>bc</sup> | 81.2 (0.6) <sup>bc</sup> |
| PCL                                    | 6.0 (0.9) <sup>ab</sup> | 154 (16) <sup>a</sup>  | 195 (25) <sup>ab</sup>  | 59 (16) <sup>c</sup> | 78 (2) <sup>a</sup>      |

Diferentes letras superíndices dentro de la misma columna indican diferencias significativas entre formulaciones ( $p < 0.05$ ).



**FIGURA 1.** Imágenes AFM de las formulaciones estudiadas a 25 % HR y 25 °C durante 1 semana de almacenamiento

# CINÉTICA DE CONCENTRACIÓN POR CONGELACIÓN ASISTIDA POR CENTRIFUGACIÓN APLICADA A JUGO DE NARANJA

Guillermo Petzold, Ingrid Andana, Erick Jara, Patricio Orellana, Jorge Moreno

## 1. RESUMEN

La concentración por congelación es una tecnología efectiva para concentrar jugos y otros alimentos líquidos, reteniendo en un grado importante las propiedades sensoriales originales y compuestos termosensibles al no utilizar altas temperaturas. El objetivo del estudio fue concentrar jugo de naranja utilizando concentración por congelación asistida por centrifugación, obteniendo las correspondientes cinéticas de crioconcentración o de agotamiento del hielo. La muestra experimental fue jugo de naranja pasteurizado comercial, estabilizado bajo refrigeración, la cual fue filtrada para eliminar los sólidos en suspensión. Posteriormente la muestra fue congelada en tubos de centrifuga a  $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 12 horas y dispuesta en una centrifuga a  $10\text{ }^{\circ}\text{C}$  y  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , utilizando dos velocidades de centrifugación (1600 y 2400 RCF), extrayendo muestras a lo largo del tiempo y separando la fase líquida (concentrado) del hielo resultante para obtener las correspondientes cinéticas. Los parámetros evaluados en la fase líquida y hielo fueron los sólidos solubles ( $^{\circ}\text{Brix}$ ) y el contenido de ácido ascórbico, mediante refractómetro digital y método de Tillmans respectivamente. Los resultados muestran cinéticas de crioconcentración muy similares, pero con un marcado efecto de la temperatura aplicada en la operación de centrifugación que significa la descongelación de la muestra acoplada a un proceso de extracción de solutos por una fuerza externa (centrifugación) desde la fase crioconcentrada. Así, a  $10\text{ }^{\circ}\text{C}$  los resultados muestran un retardo en alcanzar los mayores valores de sólidos solubles y ácido ascórbico en la fase concentrada. Se concluye que el método de concentración por congelación asistida por centrifugación es altamente eficiente para obtener un producto concentrado de alta calidad en términos de su concentración de solutos y retención de ácido ascórbico.

---

CONTACTO: Guillermo Petzold [gpetzold@ubiobio.cl](mailto:gpetzold@ubiobio.cl)

Departamento de Ingeniería en Alimentos, Universidad del Bío-Bío, Chillán, Chile.

## 2. INTRODUCCIÓN

La concentración por congelación es un método para concentrar un soluto de un alimento líquido como un jugo, técnica basada en la separación de los cristales de hielo puros desde una solución concentrada. En comparación con la evaporación y tecnología de membrana, la concentración por congelación tiene ventajas significativas para la producción de un concentrado con alta calidad, debido a que el proceso tiene lugar a bajas temperaturas, donde no existe ningún vapor o líquido en interface que pueda ocasionar la pérdida de compuestos volátiles o termosensibles, por lo tanto, el sabor y la calidad de los productos sometidos a la concentración por congelación son excepcionalmente alta, especialmente en relación con sus homólogos que se evaporan (Morison & Hartel, 2007).

Entre los distintos métodos utilizados para concentrar por congelación destacan aquellos de mayor simpleza y que utilizan una sola etapa (concentración por congelación por bloques o concentración por congelación progresiva) por sobre los métodos tradicionales (cristalización por suspensión) (Petzold & Aguilera, 2009; Petzold *et al.*, 2013; Petzold & Aguilera, 2013). En concentración por congelación progresiva, el líquido previamente congelado es descongelado y la fracción concentrada es separada de la fracción hielo por efecto gravitacional (Aider & de Halleux, 2008, 2009; Aider *et al.*, 2008). Recientemente se han estudiado algunas técnicas asistidas para estas configuraciones de una etapa, destacando el uso de fuerzas externas como el vacío (Petzold *et al.*, 2013) y el uso de la centrifugación (Petzold & Aguilera, 2013), permitiendo en ambos casos utilizar los canales de la solución crioconcentrada en torno a los cristales de hielo como una especie de sistema hidráulico, en forma similar a cuando un niño succiona una paleta de helado y absorbe con su boca todos los azúcares y colorantes, desechando posteriormente el hielo.

El objetivo del estudio fue concentrar jugo de naranja utilizando concentración por congelación asistida por centrifugación, obteniendo las correspondientes cinéticas de crioconcentración o de agotamiento del hielo.

## 3. MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizó como materia prima jugo de naranja comercial, pasteurizado y estabilizado por refrigeración, el cual fue filtrado para extraerle las celdillas, sólidos propios

del jugo de naranja exprimido que podrían interferir en la crioconcentración. Posteriormente la muestra fue congelada en tubos de centrifuga a  $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 12 horas. La congelación fue monitoreada a través de la inserción de una termocupla, tipo T (cobre-constantán), localizada en el centro geométrico de al menos tres muestras, en las cuales se registró continuamente el descenso de la temperatura. Para forzar la separación de los solutos, las muestras congeladas fueron dispuestas en una centrifuga refrigerada a  $10\text{ }^{\circ}\text{C}$  y  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , utilizando dos velocidades de centrifugación (1600 y 2400 RCF), extrayendo muestras a lo largo del tiempo y separando la fase líquida (concentrado) del hielo resultante para obtener las correspondientes cinéticas. Los parámetros evaluados en la fase líquida y hielo fueron los sólidos solubles ( $^{\circ}\text{Brix}$ ) y el contenido de ácido ascórbico, mediante refractómetro digital (pocket refractometer pal-1, Japón) y método de Tillmans respectivamente.

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados muestran cinéticas de crioconcentración muy similares, pero con un marcado efecto de la temperatura aplicada en la operación de centrifugación que significa la descongelación de la muestra acoplada a un proceso de extracción de solutos por una fuerza externa (centrifugación) desde la fase crioconcentrada (ver Figura 1). Así, a  $10\text{ }^{\circ}\text{C}$  los resultados muestran un retardo en alcanzar los mayores valores de sólidos solubles en la fase concentrada. En el caso del ácido ascórbico (Figura 2) se observa un comportamiento muy similar a los sólidos solubles, alcanzando las mayores retenciones en el concentrado en los primeros instantes de centrifugación, así se llega a valores cercanos a  $2,3\text{ mg}/100\text{ ml}$  y  $2,1\text{ mg}/100\text{ ml}$  para 2400 y 1600 RCF a  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Este comportamiento entre los dos parámetros determinados (sólidos solubles y ácido ascórbico) muestra una alta correlación aparente a lo largo de las cinéticas y demuestra que entre los solutos arrastrados por la crioconcentración se encuentra el ácido ascórbico y por cierto diversos azúcares de la muestra.

La separación de solutos desde la fase crioconcentrada es forzada mediante el uso de una fuerza externa (centrifugación), comportándose de esta forma la solución congelada como un sólido poroso a través del cual la solución concentrada percola a través de canales de drenaje entre los cristales de hielo, en forma similar al uso de vacío (Petzold *et al.*, 2013).

## 5. CONCLUSIONES

Se concluye que el método de concentración por congelación asistida por centrifugación es altamente eficiente para obtener un producto concentrado de alta calidad en términos de su concentración de solutos y retención de ácido ascórbico. Este método utiliza una fuerza externa (centrifugación) que toma ventaja de la ubicación de la solución crioconcentrada en torno a los cristales de hielo.

## AGRADECIMIENTOS

Proyecto DIUBB 142922 3/R.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AIDER, M., and de Halleux, D. (2008). Production of concentrated cherry and apricot juices by cryoconcentration technology. *LWT – Food Science and Technology*, 41(10), 1768–1775.
- AIDER, M., and de Halleux, D. (2009). Cryoconcentration technology in the bio-food industry: Principles and applications. *LWT – Food Science and Technology*, 42, 679–685.
- AIDER, M., de Halleux, D. and Melnikova, I. (2008). Gravitational and microwave-assisted thawing during milk whey cryoconcentration, *Journal of Food Engineering*, 88(3), 373–380.
- MORISON K.R., and Hartel, R.W. (2007). Evaporation and Freeze Concentration, In *Handbook of Food Engineering*, ed. by D. R. Heldman and D. B. Lund, CRC Press, New York.
- PETZOLD, G. and Aguilera, J.M. (2009). Ice morphology: fundamentals and technological applications in foods. *Food Biophysics*, 4, 378–396.
- PETZOLD, G., Aguilera, J.M. (2013). Centrifugal freeze concentration. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 20, 253-258.
- PETZOLD, G., Niranjana, K. and Aguilera, J.M. (2013). Vacuum-assisted freeze concentration of sucrose solutions. *Journal of Food Engineering*, 115, 357–361.



## 7. TABLAS Y FIGURAS

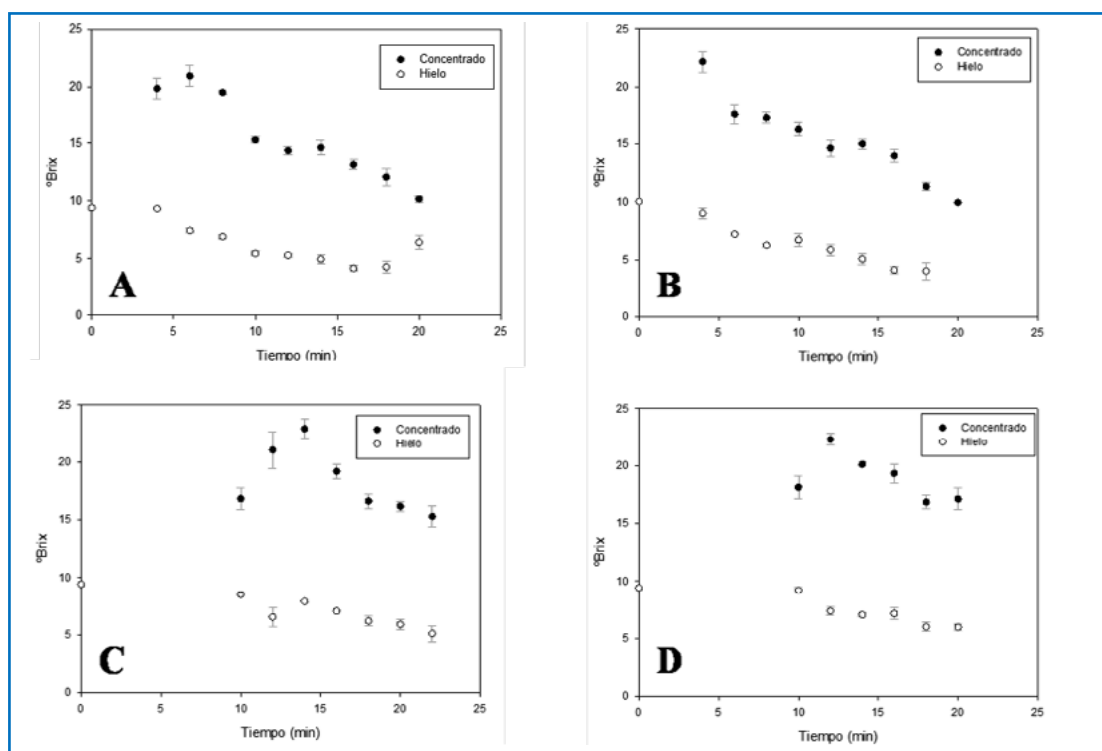


FIGURA 1. Variación de los sólidos solubles (°Brix) durante el tiempo de centrifugación. A) 2400 RCF a 20 °C; B) 1600 RCF a 20 °C; C) 2400 RCF a 10 °C; D) 1600 RCF a 10 °C

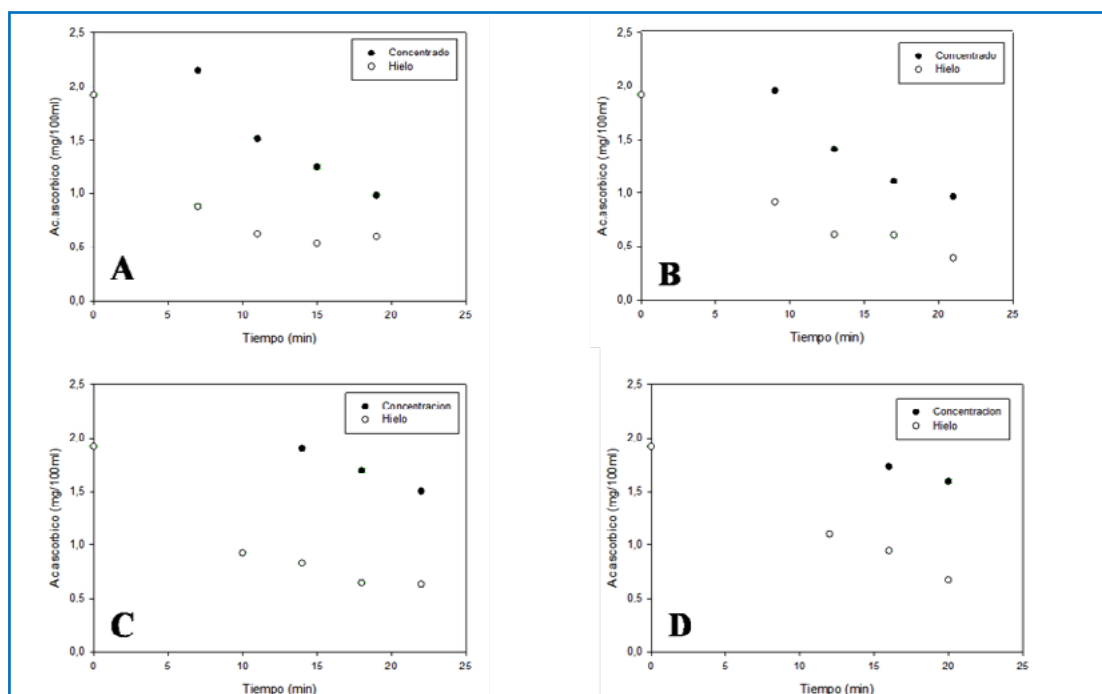


FIGURA 2. Variación de la concentración del ácido ascórbico durante el tiempo de centrifugación. A) 2400 RCF a 20 °C, B) 1600 RCF a 20 °C, C) 2400 RCF a 10 °C, D) 1600 RCF a 10 °C

# DISEÑO Y CONSTRUCCIÓN DE EQUIPAMIENTO PARA MADURAR QUESOS CAPRINOS

Denis Cura<sup>1</sup>, Federico Lescano Stoppa<sup>1</sup>, René J. Rodríguez<sup>1</sup>, Luis Aguilar<sup>1</sup>, Renée A. Rodríguez<sup>1</sup>, Luis González<sup>1</sup>, Héctor Paz<sup>1</sup>, Sandra L. Martínez<sup>2</sup>

## 1. RESUMEN

El principal destino de la leche de cabra en Argentina, como en el resto del mundo, es la producción de queso. De la producción de leche y quesos caprinos de Argentina, Santiago del Estero (SE), representa alrededor del 18 % y el 95 % proviene de explotaciones familiares campesinas. La producción lechera caprina tiene una gran importancia económica en el NOA, pues localiza el 60 % de los animales dedicados a la misma, siendo la cuenca de Río Dulce (SE), la más importante del país.

El queso es una transformación de la leche que permite imprimir valor, de acuerdo con su tipo tiene una vida útil que va desde unos pocos días a varios meses. En el proceso de obtención una importante etapa la constituye la maduración, en ella ocurren una serie de transformaciones de naturaleza microbiológica, bioquímica y física que le imprimen sus características organolépticas, signadas por las condiciones de temperatura, humedad relativa y recambios de aire a las que se desarrollan, las que dependen del tipo de queso.

Así por ejemplo, un queso tipo pasta azul 7-10 °C 95 %HR (100 días), un tipo Gouda 12-16 °C 85-90 %HR (50 - 200 días) o un tipo Cheddar 2 semanas a 12-16 °C y 75-80 %HR y 100 días a 5-7 °C. Las condiciones ambientales inciden en la veloci-

---

CONTACTO: Sandra L. Martínez [sandraluzo8@gmail.com](mailto:sandraluzo8@gmail.com)

1. Departamento de Mecánica, Facultad de Ciencias Exactas y Tecnología, Universidad Nacional de Santiago del Estero.

2. Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (ICYTA), Facultad de Agronomía y Agroindustrias, Universidad Nacional de Santiago del Estero.

Área Temática: Desarrollo de Economías.

Eje Temático: Desarrollo tecnológico y Sustentabilidad.

dad de maduración, pérdidas de peso, formación de corteza y en casos específicos el desarrollo de la flora microbiana superficial.

Sabiendo que la competitividad de la PyME quesera y la sustentabilidad del emprendimiento están fuertemente asociadas a la posibilidad de estandarizar la tecnología, en este trabajo se presenta un desarrollo tecnológico que permite estandarizar la etapa de maduración del queso, de suma importancia en nuestra región por las temperaturas reinantes sobre todo en la época de producción quesera (primavera y verano), que llega a los 47 °C.

La actividad desplegada favorece la conformación de una universidad innovadora, calificada como tal, a la que pasa de comprometerse, a resolver problemas concretos, a desarrollar tecnologías fundamentales, a promover la generación y transferencia de nuevos conocimientos y a dar soluciones tecnológicas. También aportamos a la formación de ingenieros para un mundo globalizado, donde los vertiginosos avances tecnológicos, y los problemas para su solución requieren miradas holísticas, que demandan reformas a la educación y a la investigación, hacia un enfoque interdisciplinario. Concordamos con la mirada de la organización CDIO (concebir, diseñar, implementar y operar), quien refiere, la ingeniería es el motor para la creación de valor económico y social y la interdisciplina, es el nuevo reino del descubrimiento y la innovación en Ingeniería.

La metodología contempló la creación de un ámbito de investigación interdisciplinario, conformado por docentes de ingeniería electromecánica (IEM), electrónicos (IE) y en alimentos (IA), pertenecientes a las Facultades de Ciencias Exactas y Tecnologías (FCEyT) y de Agronomía y Agroindustrias (FAyA) respectivamente, para el desarrollo de equipamientos efectuado por estudiantes de ingeniería electromecánica y electrónica, como proyecto final de graduación, requisito curricular para la titulación. El producto obtenido aporta al desarrollo de la región, aspecto que torna a la investigación interdisciplinaria, estratégica, ya que permitiría agregar valor y competitividad a la producción primara local.

La metodología estuvo orientada por el principio rector de garantizar la accesibilidad a una cámara que permita el control y monitoreo de la marcha de la maduración de quesos. Por lo que las alternativas escogidas, resultaron del cotejo de la factibilidad técnica y económica, de cada uno de los materiales y sistemas empleados. Está constituida por una serie de etapas y acciones, que deben realizar los estudiantes, a veces de manera acabada antes de pasar a la etapa siguiente, y otras, en caso de falla o

para su validación, regresar hasta etapas precedentes. Entre ellas es posible diferenciar dos tipos de actividades, unas de estricto orden mental y conceptual, que involucran estudio, investigación, conceptualización, diseños y análisis técnicos y económicos. Y otras, que podemos calificar de orden práctico, implican labores tales como la adquisición de componentes, armado de sistemas independientes, integración de sistemas, construcción del equipamiento, puesta en funcionamiento y evaluación del sistema.

El equipo obtenido es versátil, permite registrar, controlar y monitorear la maduración de diferentes tipos de quesos, variando en un amplio rango la temperatura y la humedad y permitiendo mantener las condiciones ambientales, durante el tiempo que el proceso lo demande (horas a meses).

Características técnicas de la cámara: Capacidad 290l, Alimentación monofásica 220 V, Potencia 195 W. Rango de temperatura  $-3^{\circ}\text{C}$  a  $30^{\circ}\text{C}$ . Rango de Humedad Relativa: 40 a 100 %. La cámara es controlada mediante microcontroladores, estos dispositivos electrónicos en el circuito permiten la adquisición y el tratamiento de las señales involucradas, como así también el control de las variables. Ellos reciben la señal de los distintos sensores para la medición de la humedad relativa, temperatura y caudal de aire. Son los encargados de controlar el funcionamiento de los distintos artefactos para lograr las condiciones requeridas. Y por medio de un puerto de comunicación USB interactuar con distintos tipos de pc, para lo cual se diseñó un software de adquisición y visualización de datos. Es posible también registrar los datos, usando una memoria flash tipo SD, en formato digital.

El desarrollo además de accesibilidad, contempló las condiciones de seguridad e higiene ambiental requeridas. La originalidad del trabajo entre otros aspectos reside en que no se ha encontrado en la bibliografía enseñanza de la ingeniería a través de la construcción y puesta a punto de equipos típicos de la Ingeniería en Alimentos, a escala banco o piloto, susceptibles de ser usados para investigación aplicada o de ser transferidos al pequeño productor, favoreciendo la apropiación local del conocimiento y de la tecnología, que dan respuesta a las necesidades del entorno y disminuyen la dependencia tecnológica.

## **2. INTRODUCCIÓN**

El queso es una transformación de la leche que permite incrementar su valor agregado, obtener un producto menos perecedero, lo que favorece la disponibilidad y

accesibilidad a este alimento de alto valor nutritivo, y mejorar sus características organolépticas. El queso de acuerdo con su tipo y condiciones de almacenamiento tiene una vida útil que puede variar de pocos días a varios meses (Heredia Montenegro, 2006). Durante la etapa de la maduración ocurren una serie de transformaciones de naturaleza microbiológica, bioquímica y física que le imprimen al queso sus características organolépticas. Las condiciones temperatura, humedad relativa y recambios de aire a las que se desarrolla el proceso, determinan el ciclo de maduración y dependen del tipo de queso. Las condiciones ambientales inciden en la velocidad de maduración, pérdidas de peso, formación de corteza y en casos específicos el desarrollo de la flora microbiana superficial, es decir influyen en las características y naturaleza del queso a obtener (Bylund, 2003).

De la producción de leche y quesos caprinos de Argentina, Santiago del Estero (SE), representa alrededor del 18%. La producción lechera caprina tiene una gran importancia económica en el NOA, donde se localiza el 60% de los animales dedicados a ésta producción, siendo la cuenca de Río Dulce (SE), la más importante del país (Frau, 2010).

Roberto Castañeda (2010), en su exposición acerca de cómo mejorar la calidad del queso y la competitividad de la PyME quesera, destaca como debilidad de este tipo de empresas, la baja estandarización, que impide mantener una calidad a lo largo del tiempo, y específicamente enfatiza que la sustentabilidad del emprendimiento está fuertemente asociada a la posibilidad de estandarizar la tecnología.

El trabajo que se presenta fue desarrollado en el seno de un proyecto de investigación estratégico e interdisciplinario por estudiantes de ingeniería electrónica y electromecánica, como proyecto final para optar por el título de ingeniero. Surgió de la necesidad de estandarizar una importante etapa del proceso de elaboración del queso, como lo es el de la maduración, aportando a la competitividad de la PyME quesera, que cuando es de origen caprino, la actividad es desarrollada por pequeños productores como economías de subsistencia. Este aspecto es el que torna a la investigación estratégica, pues el producto aporta al desarrollo de la región (Dias Sobrino, 2008). Ya que permite agregar valor a la producción primaria, láctea caprina, aportar a la competitividad del sector caprino, de alta vulnerabilidad en la región del Noroeste Argentino (NOA) (Plan de Competitividad del Conglomerado de Actividad Caprina de Santiago del Estero). Y es interdisciplinaria pues la integran ingenieros en Alimentos de la Facultad de Agronomía y Agroindustrias

e ingenieros Electromecánicos, Electrónicos y Viales de la Facultad de Ciencias Exactas y Tecnologías, ambas pertenecientes a la Universidad Nacional de Santiago del Estero. La actividad desarrollada por el grupo de trabajo favorece la conformación de una universidad innovadora, calificada como tal, la que pasa de comprometerse, a resolver problemas concretos, a desarrollar tecnologías fundamentales y a promover la generación y transferencia de nuevos conocimientos y soluciones tecnológicas (Dias Sobrino, 2008). También, concordamos con lo expresado por de la Llera (2013), en la conferencia “Formando ingenieros para un mundo cambiante”, brindada en ocasión de la durante la Segunda Reunión Latinoamericana de la CDIO (concebir, diseñar, implementar y operar), quien refiere, la ingeniería es el motor para la creación de valor económico y social y la interdisciplina, es el nuevo reino del descubrimiento y la innovación en Ingeniería.

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

La metodología implementada la desarrolló el equipo de investigación estratégico y transdisciplinario, que presenta este trabajo, mediante el cual, la ensaya y valida. Está constituida por una serie de etapas y acciones, que deben realizar los estudiantes, a veces de manera acabada antes de pasar a la etapa siguiente, y otras veces, en caso de falla o para su validación, regresar hasta etapas precedentes. La sucesión de etapas se muestran en el Esquema 1. El esquema permite observar que además de una serie de etapas, es posible diferenciar dos tipos de actividades. Las primeras, de estricto orden mental y conceptual, que involucran: estudio, investigación, conceptualización, diseños y análisis técnicos y económicos. Y las segundas que podemos calificar de orden práctico, que implican labores tales como: adquisición de componentes, armado de sistemas independientes, integración de sistemas, construcción del equipamiento, puesta en funcionamiento y evaluación del sistema. El diseño y desarrollo de la cámara de maduración para quesos caprinos a escala piloto, se realizó en la Planta Piloto de Procesamiento de Alimentos, instalaciones que la Facultad de Agronomía y Agroindustrias de la UNSE posee en el Parque Industrial de la provincia. El principio rector de la labor es garantizar la accesibilidad a un módulo que permita el control y monitoreo de la maduración de quesos (tecnología apropiable). Por lo que se desprende que el criterio técnico económico, limita las alternativas de solución, los materiales y los métodos, que se apliquen en la construc-

ción del equipamiento. En este trabajo los estudiantes escogieron como habitáculo para transformar en la cámara de maduración de quesos, la carcasa de una heladera comercial en desuso (cuyo arreglo implica un costo mayor que el requerido para adquirir una nueva).

#### **4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

##### ***El diseño del sistema contempló:***

- Desarrollar sistemas electromecánicos y electrónicos dotados del instrumental necesario, para el control de los parámetros y monitoreo de las variables, durante el proceso de la maduración del queso.
- Desarrollar el sistema de intercambio de aire, entre el exterior y el interior de la cámara.
- Desarrollar un sistema para la homogenizar la temperatura y la humedad en el interior de la cámara.
- Acondicionar las señales provenientes de sensores.
- Implementar una interface gráfica que permita visualizar el valor de las variables a controlar, en tiempo real.
- Establecer un sistema de adquisición y almacenamiento de datos, mediante una PC.

##### ***La materialización del diseño, dio como resultado el modelo que se puede observar en el esquema 2, y contempló:***

- Implementar y operar los sistemas electromecánicos y electrónicos y monitorearlos mediante el sistema de control diseñado.
- Dotar al habitáculo del sistema de frío, compresor y evaporador, este último construido totalmente a mano.
- Construir para el recambio de aire entre el interior de la cámara y el exterior, un dispositivo compuesto por dos forzadores de aire, uno para el ingreso del mismo y el otro para su extracción.
- Homogenizar las condiciones ambientales internas, para lo cual se emplearon también dos forzadores de aire.
- Incorporar microcontroladores en el circuito para la adquisición y tratamiento de las señales involucradas, como así también para el control de las variables. Estos reciben la señal de los distintos sensores para la medición de humedad relativa,

temperatura y caudal de aire. Son los encargados de controlar el funcionamiento de los distintos artefactos para lograr las condiciones requeridas.

- Enviar y receptar los datos desde la cámara al ordenador. Para lo cual se empleó un puerto de comunicación USB y se diseñó un software de adquisición y visualización de datos.
- Registrar los datos, usando una memoria flash tipo SD, en formato digital.

## **5. CONCLUSIONES**

Se ha desarrollado tecnología apropiable y versátil, ya que el sistema de control y adquisición de datos para la cámara es capaz de generar y mantener las condiciones requeridas por el proceso de maduración de quesos caprinos, en un amplio rango las condiciones de temperatura y humedad, lo que permite madurar todo tipo de queso. Esta investigación es aplicada y estratégica puesto que permite imprimir valor a las producciones locales, bajo principios de desarrollos éticos, conservación de la energía y el ambiente. También es una herramienta para la comunicación de la ciencia y la tecnología a la sociedad.

Es importante destacar además, que al final de la carrera de ingeniería y próximos a su graduación, pierde importancia los métodos que hayan implementado los diversos docentes para impartir sus enseñanzas, más bien interesa poner al estudiante frente a un problema real, del tipo que se le presentará en el ejercicio de su profesión, donde deba apelar a todos los conocimientos recibidos, resignificarlos, integrarlos, que lo obligue a realizar análisis, ensayar posibles soluciones para obtener la solución final. Este es otro caso de enseñanza basado en proyectos que tiende a que el estudiante de ingeniería internalice un método para aprenda a aprender, en un ámbito interdisciplinario, como lo será su futuro ambiente laboral.

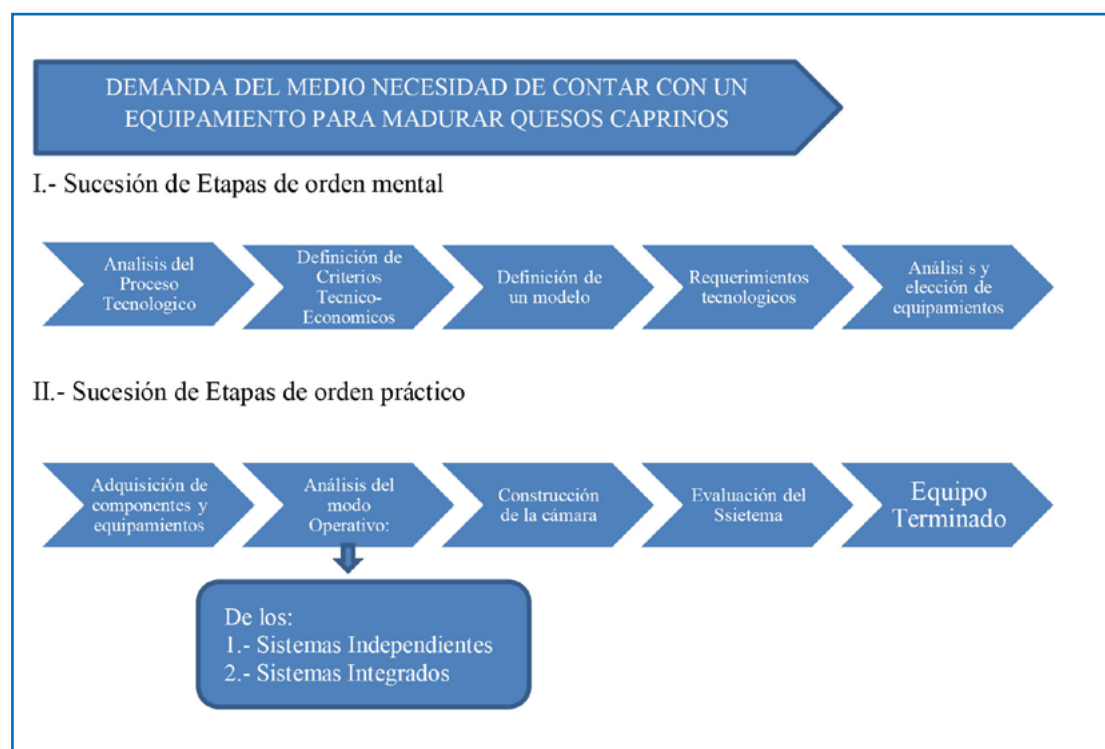
## **6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- BYLUND, G. Manual de Industrias Lácteas, A. Madrid Vicente, Madrid, España, 2003.
- CASTAÑEDA Roberto, Como mejorar la calidad del queso y la competitividad de la PYME quesera.” 1er Encuentro Provincial de la Cadena de Valor de las Pymes Lácteas. Rafaela, Santa Fe, 19 de noviembre de 2010.

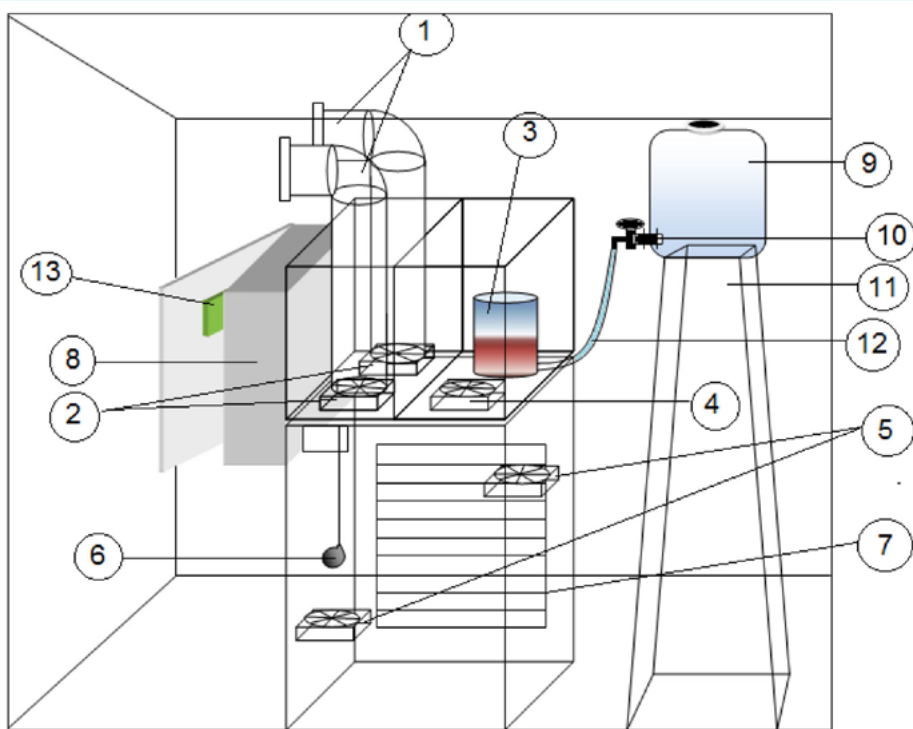


- DE LA LLERA, Juan C. (2013). Formando ingenieros para un mundo cambiante. Segunda Reunión Latinoamericana CDIO, Abril 2013. Pontificia Universidad Católica de Chile.
- DIAS SOBRINHO, José (2008). Calidad, Pertinencia y Responsabilidad Social de la Universidad Latinoamericana y Caribeña. Tendencias de la Educación Superior en América Latina y el Caribe. IESALC – UNSECO.
- FRAU, S., Togo, J., Pece, N., Paz, R. & G. Font, Estudio comparativo de la producción y composición de leche de cabra de dos razas diferentes en la provincia de Santiago del Estero. Revista de la Facultad de Agronomía, La Plata (2010) Vol 109 (1): 9-15.
- HEREDIA MONTENEGRO, M.I. Aplicación de antibut para eliminar bacterias del grupo coli aerógenos en la elaboración de queso andino. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/874/1/27T091.pdf>. 26 de junio de 2013.
- PLAN DE COMPETITIVIDAD DEL CONGLOMERADO CAPRINA DE SANTIAGO DEL ESTERO (2010). Programa de Competitividad del Norte Grande. Ministerio de Economía y Finanzas Públicas. Secretaría de Política Económica. Noviembre de 2010. [http://www.mecon.gov.ar/programanortegrande/documentos/sgo\\_caprino\\_pc\\_resumen.pdf](http://www.mecon.gov.ar/programanortegrande/documentos/sgo_caprino_pc_resumen.pdf)

## 7. TABLAS Y FIGURAS



**ESQUEMA 1.** Sucesión de actividades que se despliegan a partir



**REFERENCIAS**

- |   |   |
|---|---|
| 1. Tubería para intercambiar el aire con el medio exterior.                                     | 7. Placa evaporadora del refrigerador.  |
| 2. Forzadores para intercambiar el aire con el medio exterior.                                  | 8. Gabinete contenedor de los circuitos electrónicos de control.                                |
| 3. Cuba generadora de vapor de agua.  | 9. Tanque para almacenar agua destilada.  |
| 4. Forzador que permite redirigir el vapor de agua hacia el interior del Recinto de maduración. | 10. Válvula que permite el paso del agua.   |
| 5. Forzadores para homogenizar la temperatura y la humedad relativa.                            | 11. Soporte del tanque.   |
| 6. Sensor DHT22 de temperatura y humedad relativa.  | 12. Manguera para el transporte de agua que comunica al tanque con la cuba generadora de vapor. |
|   | 13. Pantalla LCD para la visualización de las variables de control.                             |

**ESQUEMA 2.** Modelo de la cámara de maduración de quesos construido de una demanda Tecnológica del Medio

# MICROENCAPSULATION OF *L. ACIDOPHILUS* USING SOY EXTRACT POWDER AS ENCAPSULATING MATERIALS

Leidiane Andreia Acordi Menezes<sup>1</sup>, Deisy Alessandra Drunkler<sup>1</sup>,  
Mariana Manfroi Fuzinato<sup>2</sup>

## 1. ABSTRACT

Microencapsulation can be used in order to increase survival of probiotics in food, however, effectiveness of the technique depends on the material chosen as the encapsulating agent. This study assessed the effects of microencapsulation process on the viability of *L. acidophilus* using soy extract powder and maltodextrin as encapsulating. Soy extract powder and maltodextrin were dispersed in sterile water at a ratio of 2: 1, up to obtain a solution with concentration of 15 % (w/v). The culture of *L. acidophilus* was added to 1 % (w/v). The solution was subjected to drying in a laboratory-scale spray dryer (MSD 1.0, Labmaq do Brasil), operated with inlet temperature of 85 ° C, feed flow rate of 0.54 L/h and drying air flow rate of 0.40 L/min. The effects of the process on the viability of the culture were evaluated by enumeration of viable cells of *L. acidophilus* in the feed solution and powder of microcapsules, in duplicate. The reduction of viability was expressed in log cycles as the logarithmic value of the fraction relative survival, considering the number of viable cells before and after drying. Samples of the powder were observed by optical microscopy. The viable cell count was  $11.64 \pm 0.29 \log \text{CFU.g}^{-1}$  in the feed solution and  $9.91 \pm 0.25 \log \text{CFU.g}^{-1}$  in the powder obtained after drying. The reduction of viability was 1.72 log cycles, indicating a high survival of the culture. The process yield was 85.36%. Microcapsules showed spherical shape, varied size and slightly irregular surface. After 30 days of storage at  $-18^\circ \text{C}$ , the viable cell count was  $8.99 \pm 0.09 \log \text{CFU.g}^{-1}$  thus remained above the minimum recommended by FAO / WHO ( $> 10^6 \text{CFU.g}^{-1}$ ). The reduction in viability

---

CONTACTO: Leidiane A. Acordi M. [leidianeacordi@gmail.com](mailto:leidianeacordi@gmail.com)

1. Post Graduate Program in Food Technology, Department of Post Graduate Program in Food Technology (PPGTA), Federal Technological University of Parana, Medianeira, Parana, Brazil.

2. State University of Maringá, Maringá, Parana, Brazil.

during this period was 2.69 log cycles. These results suggest that encapsulating materials evaluated are suitable for the encapsulation of *L. acidophilus*.

## 2. INTRODUCTION

A few of the most known lactic acid bacteria that are used as probiotics are *Lactobacillus*, mainly *L. acidophilus*. The Food and Agriculture Organization (FAO) and the World Health Organization (WHO) define probiotics as “live microorganisms, which when ingested in sufficient numbers confer one or more specified demonstrated health benefits for the host” (FAO/WHO, 2001). However, for probiotics to be therapeutically effective, it is required that they are provided with suitable conditions for growth and metabolism and at the same time protected from harsh environmental conditions that they are exposed to (Rathore *et al.*, 2013).

Due to the fastidious nature of probiotic bacteria, survival in sufficiently high numbers during the processing and storage of functional food products and during passage through the human digestory tract remains a major challenge for effective application of these bacteria in food industry (Anal and Singh, 2007).

Microencapsulation can be defined as a process in which small particles are enveloped by a coating, or incorporated in a homogeneous or heterogeneous matrix, in order to obtain small capsules, thus permitting delayed release of the core or release in particular condition, such as, for example, upon a change in pH, enzymatic activity, osmotic force, mechanical stress, etc (Gharsallaoui *et al.*, 2007; Venkatesan *et al.*, 2009; Gaggia *et al.*, 2011).

The encapsulation technique can be used in the food industry for many applications, including stabilizing and protecting the core material, controlling the oxidative reaction, providing sustained or controlled release, extending the shelf life, protecting components against nutritional loss, etc (Anal and Singh, 2007). For probiotics, microencapsulation is a promising alternative to preserve the viability of these micro-organisms incorporated into food, protecting it in hostile environments and conditions (Semyonov *et al.* 2010).

The wall materials occupy an important role in the efficiency of microencapsulation. In recent years, one of the great challenges of microencapsulation consists of finding a wall material safe and compatible that protects and maintains the encapsulated material asset until the time of consumption, and allows for release in appropriate loca-

tions of the digestive tract (Chen *et al.*, 2006; Pereira *et al.*, 2009; Nazzaro *et al.*, 2012).

The vegetable proteins, particularly soy, have recently gained prominence in the microencapsulation of active compounds by being renewable materials, low-cost, and due to various interesting functional properties, such as gelation, emulsifying capacity, and film formation (Nesterenko *et al.*, 2013). This study assessed the effects of microencapsulation process by spray drying on the viability of *L. acidophilus* using soy extract powder and maltodextrin as encapsulating agents.

### 3. MATERIALS AND METHODS

Initially, soy extract powder and maltodextrin were dispersed in sterile water at a ratio of 2: 1, up to obtain a solution with concentration of 15 % (w/v). The culture of *L. acidophilus* was added to 1 % (w/v). The solution was stirred and subjected to drying in a laboratory-scale spray dryer (MSD 1.0, Labmaq do Brasil), operated at constant air inlet temperature of 85 ° C, feed flow rate of 0.54 L/h and drying air flow rate of 0.40 L/min. The feed solution was kept under magnetic agitation at room temperature during drying process. The dried powder was collected from the base of the cyclone placed in sterile bottle and stored at – 18 °C.

The effects of the process on the viability of the culture were evaluated by enumeration of viable cells of *L. acidophilus* in the feed solution and powder of microcapsules, in duplicate according to Ananta, Volkert and Knorr (2005). One gram of the microcapsules was re-suspended in 9 mL of phosphate buffer (0.1 M, pH 7.0) followed by homogenization in a magnetic stirrer for 10 min and plated on MRS agar. The plates were incubated in anaerobic jars at  $37 \pm 1$  °C for 48 h. After the incubation period, the count of viable probiotic cells was carried out and expressed as log colony-forming units per gram ( $\log \text{CFU g}^{-1}$ ).

The encapsulation yield (EY), which is a combined measurement of the efficacy of entrapment and survival of viable cells during the microencapsulation procedure, was calculated as shown in Eq. (1) (Annan, Borza and Hansen, 2008):

$$EY = (N/N_0) \times 100$$

where EY is the encapsulation yield, expressed in percentage; N is the number of viable cells in the microcapsules ( $\log \text{CFU/g}$ ) and  $N_0$  is the number of viable cells in the feed solution before drying ( $\log \text{CFU/g}$ ).

Samples of the powder were observed by optical microscopy at magnification of at a magnification of 40× and 100× for visual characterization of microstructure.

The microcapsules were subjected to the survival test of *L. acidophilus* at low temperature storage (−18° C) by enumeration of viable cells held on the first day of storage, the 15<sup>th</sup> and 30<sup>th</sup> day. The reduction of viability was expressed in log cycles as logarithmic value of relative survival fraction ( $\log N/N_0$ ). N refers to the bacterial count at a particular storage period, whereas  $N_0$  represents the bacterial count at the beginning of the storage (Ananta, Volkert and Knorr, 2005).

#### 4. RESULTS AND DISCUSSION

The results obtained in relation to the survival of probiotic culture to the drying process and during 30 days of storage are demonstrated in Table 1.

The viable cell count was  $11.64 \pm 0.29$  log CFU. g<sup>-1</sup> before drying, to  $9.91 \pm 0.25$  log CFU.g<sup>-1</sup> after the process. Microencapsulation by spray drying resulted in a reduction of 1.72 log cycles on the viability of the microorganism. The encapsulation yield was 85.36%, superior result to that found by Chávez and Ledebøer (2007), to study the encapsulation of *Bifidobacterium lactis* Bb-12 by spray drying using soy protein and maltodextrin, whose efficiency was approximately 44 %. On the other hand, Dianawati *et al.* (2013) obtained 87 % efficiency, approximately, using freeze drying to encapsulate probiotics with soy protein and maltodextrin, similar results to this study.

Was evaluated microencapsulated culture viability during storage for 30 days at −18 °C. The count showed a reduction of 0.54 log cycles in the cell viability after 15 days storage. From 15<sup>th</sup> to 30<sup>th</sup> day, this reduction was 0.41 log cycles. Throughout the study period, the reduction of viable cell in the microcapsules was 0.96 log cycles. This result is excellent, demonstrating that the wall material was very efficient in protecting the probiotic. Zhao *et al.* (2008) also reported a reduction of approximately 1 log cycle during freezing storage.

Considering the initial number of bacteria before drying and the final number after 30 days of storage of the microcapsules there was a reduction of 2.69 log cycles.

These results are similar to those found by Chávez and Ledebøer (2007), that evaluated soy and skimmed milk powder proteins associated to carbohydrates (gum Arabic, maltodextrin, lactose, trehalose, and sucrose) as wall materials for the probiotic microorganism *Bifidobacterium lactis* Bb-12 encapsulation. Tests have shown

that encapsulation with SPI increased culture viability, and combined with maltodextrin, resulted in best survival rates during storage, displaying similar behavior to the combination of skimmed milk powder proteins and gum arabic.

Dianawati *et al.* (2013) employed the SPI along with glycerol, mannitol, or maltodextrin compared to sodium caseinate, and whey protein concentrate and skim milk to the *Bifidobacterium longum* 1941 microencapsulation by freeze drying, and found that associated with mannitol, soy protein was more effective in protecting *Bifidobacterium* compared to other encapsulating agents, which corroborates the findings from this study.

Characterization of the microcapsules by microscopy can be seen in Figure 1.

The microscopic observation allowed the visualization of the effective formation of microcapsules, that presented spherical shape, varied size, slightly irregular surface and some concavities, characteristics of atomized products, according to Favaro-trindade *et al.* (2010).

## 5. CONCLUSIONS

The encapsulating agents used were effective in protecting cells of probiotics during the process of microencapsulation and after the drying. The number of viable probiotics that will reach the consumer is at the end most important. After 1 month at  $-18^{\circ}\text{C}$ , the soy protein - maltodextrin capsules contained the high number of viable bacteria, demonstrates that these materials are appropriate to microencapsulation of *L. acidophilus*.

These observations provided new perspective for probiotic manufacturers to consider the use of soy proteins combined with maltodextrin as relatively cheap and efficient encapsulating agents to generate dried micro-capsules containing probiotic bacteria that retain high viability during the drying and freezing storage stages.

## 6. REFERENCES

- ANAL, A.K., Singh, H. (2007). Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. *Trends in Food Science and Technology*, 18 (5), 240–251.
- ANANTA, E., Volkert, M., Knorr, D. (2005). Cellular injuries and storage stability of spray-dried *Lactobacillus rhamnosus* G. G. *International Dairy Journal*, 15 (4), 399–409.

- ANNAN, N.T., Borza, A.D., Hansen, L.T. (2008). Encapsulation in alginate-coated gelatin microspheres improves survival of the probiotic *Bifidobacterium adolescentis* 15703T during exposure to simulated gastro-intestinal conditions. *Food Research International*, 41 (2), 184–193.
- CHÁVEZ, B. E., Ledebøer, A. M. (2007). Drying of Probiotics: optimization of formulation and process to enhance storage survival. *Drying Technology: An International Journal*, 25 (7-8), 1193–1201.
- CHEN, L.Y., Remondetto, G. E., Subirade, M. (2006). Food protein-based materials as nutraceutical delivery systems. *Trends in Food Science & Technology*, 17 (5), 272–283.
- DIANAWATI, D., Mishra, V., Shah, N. P. (2013). Survival of *Bifidobacterium longum* 1941 microencapsulated with proteins and sugars after freezing and freeze drying. *Food Research International*, 51 (2), 503–509.
- FAO/WHO Experts' Report. (2001). Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria.
- FAVARO-TRINDADE, C.S. Santana, A. S., Monterrey-Quintero, E.S., Trindade, M.A., Netto, F.M. (2010). The use of spray drying technology to reduce bitter taste of casein hydrolysate. *Food Hydrocolloids*, 24, 336–340.
- GAGGIA, F., Gioia, D. D., Baffoni, L., Biavati, B. (2011). The role of protective and probiotic cultures in food and feed and their impact in food safety. *Trends in Food Science & Technology*, 22 (1), S58–S66.
- GHARSALLAOUI, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A., Saurel, R. (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International*, 40 (9), 1107–1121.
- NAZZARO, F., Orlando, P., Fratianni, F., Coppola, R. (2012). Microencapsulation in food science and biotechnology. *Current Opinion in Biotechnology*, 23 (2), 182–186.
- NESTERENKO, A., Alic, I., Silvestre, F., Durrieu, V. (2013). Vegetable proteins in microencapsulation: A review of recent interventions and their effectiveness. *Industrial Crops and Products*, 42 (2013), 469–479.
- PEREIRA, H. V. R., Saraiva, K. P., Carvalho, L. M. J., Andrade, L. R., Pedrosa, C., Pierucci, A. P. T. R. (2009). Legumes seeds protein isolates in the production of ascorbic acid microparticles. *Food Research International*, 42 (1), 115–121.
- RATHORE, S., Desai, P. M., Liew, C. V., Chan, L. W. and Heng, P. W. S. (2013). Microencapsulation of microbial cells. *Journal of Food Engineering*, 116 (2), 369–381.
- SEMYONOV, D., Ramon, O., Kaplun, Z., Levin-Brener, L., Gurevich, N., Shimoni, E. (2010). Microencapsulation of *Lactobacillus paracasei* by spray freeze drying. *Food Research International*, 43 (1), 193–202.



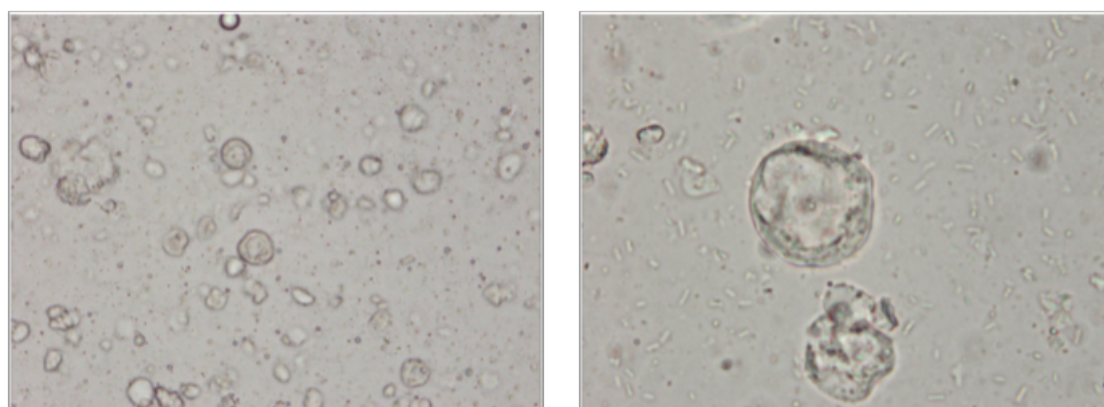
VENKATESAN, P., Manavalan, R., Valliappan, K. (2009). Microencapsulation: A vital technique in novel drug delivery system. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 1 (4), 26-35.

ZHAO, R., Sun, J., Torley, P., Wang, D., Niu, S. (2008). Measurement of particle diameter of *Lactobacillus acidophilus* microcapsule by spray drying and analysis on its microstructure. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24, 1349–1354.

## 7. TABLES AND FIGURES

**TABLE 1.** Encapsulation Yield, survival of *L. acidophilus* and reduction of viability during the spray drying process and storage for 30 days at 18 °C

| <i>Drying Process</i>   |   |   |              |
|---|---|---|--------------|
| Count before drying<br>(feed solution - log<br>CFU g <sup>-1</sup> )                                | Count after drying<br>(microcapsules<br>- log CFU g <sup>-1</sup> ) | Reduction<br>of viability<br>(log cycles<br>CFU g <sup>-1</sup> )                                       | EY (%)       |
| 11.64 ± 0.29  | 9.91 ± 0.25   | 1.72 ± 0.54   | 85.36 ± 4.46 |
| <i>Storage at -18 °C</i>  |   |   |              |
| Count 1 <sup>st</sup> day<br>(log CFU g <sup>-1</sup> )   | Count 15 <sup>th</sup><br>(log CFU g <sup>-1</sup> )                | Count 30 <sup>th</sup> day<br>(log CFU g <sup>-1</sup> )  |              |
| 9.91 ± 0.25   | 9.39 ± 0.12   | 8.99 ± 0.09   |              |
| Reduction of viability 1 <sup>st</sup> to 15 <sup>th</sup> day<br>(log cycles CFU g <sup>-1</sup> ) |   | Reduction of viability 15 <sup>th</sup> to<br>30 <sup>th</sup> day<br>(log cycles CFU g <sup>-1</sup> ) |              |
| 0.54 ± 0.15   |   | 0.41 ± 0.09   |              |



**FIGURE 1.** Optical micrographs of microcapsules at a magnification of 40× and 100×, respectively

# Food Processing and Control Innovation

A decorative graphic consisting of two thick, black, wavy lines that curve across the page, positioned below the main title.

[Volver al índice](#)

# DESPLIEGUE FUNCIONAL DE CALIDAD EN EL DESARROLLO DE PRODUCTO A BASE DE NUECES DE MACADAMIA Y MIEL DE EUCALIPTO

Guillermo Salamanca Grosso<sup>1,2</sup>, Leidy Marcela Montoya Devia<sup>1</sup>,  
Mónica Patricia Osorio Tangarife<sup>1</sup>, Nelson Rodríguez Arias<sup>1,3</sup>

## 1. RESUMEN

La aparición de mieles cremosas ha posibilitado su uso como matriz para el desarrollo de nuevos productos. El análisis del modelo de despliegue de la función de calidad (QFD), es un método para el diseño de productos y servicios que permite convertir las necesidades del cliente en requerimientos técnicos, permitiendo reflejar los gustos de los clientes más que las características tecnológicas o ingenieriles del diseño. En este trabajo se ha implementado y optimizado el desarrollo de un producto untable de consumo humano, mediante incorporación de nueces de macadamia molturada usando miel cristalizada bajo proceso Dice, con homogenización a 26 °C y 76 % HR, logrando la nucleación a 12 °C en 14 días. En la preparación de las mezclas se utilizó el paquete estadístico Minitab16™, considerando un diseño de dos componentes (Simplex Lattice), con rangos establecidos en fracción: 0.15-0.30 (Macadamia) y 0.70-0.85 (Miel), para un total de 5 formulaciones: 1(15:30); 2(30:70); 3(22.5: 77.5); 4(18.7:81.3); 5(26.3:73.7). Estas mezclas se envasaron y dispusieron en frascos de vidrio de 250 g en borosilicato y tapa Twist off. Análisis fisicoquímicos, microbiológicos y sensoriales, fueron realizados en el proceso de caracterización. El producto optimizado se evaluó siguiendo criterios de la función de calidad, indicando que es competitivo en el mercado de alimentos untables por sus componentes innovadores en los ingredientes y por la gran aceptación de sus características organolépticas. Los valores óptimos de la

---

CONTACTO: Guillermo Salamanca G. [salamancagrosso@gmail.com](mailto:salamancagrosso@gmail.com)

1. Grupo de Investigaciones Mellitopalinológicas y Propiedades Físicoquímicas de Alimentos.

2. Departamento de Química.

3. Departamento de Matemáticas y Estadística. -Facultad de Ciencias. Universidad del Tolima A 546 Ibagué-Tolima-Colombia.

mezcla fueron 24.8 en nuez y 75.2 % de miel. El producto es estable almacenado a 10 °C durante 22 semanas, requiriendo de refrigeración para evitar su enranciamiento.

## 2. INTRODUCCIÓN

La miel es un alimento producido por las abejas (*Apis mellifera L.*), a partir del néctar de las flores y otras materias azucaradas que recogen de las plantas, transforman, enriquecen y las depositan en paneles de cera, corresponde a una mezcla de distintos azúcares (FAO, 2000; Salamanca, 2001). Miel con alto contenido de glucosa (30 % o más) presentan una mayor tendencia a la cristalización, ya que este monosacárido pierde agua y se convierte en glucosa monohidratada, formando una red de cristales y creando un estado semisólido en la miel sobresaturada (Bogdanov, Jurendic, Sieber y Gallmann, 2008). La cristalización de la miel es usualmente indeseada, a causa de la producción de núcleos grandes de consistencia áspera. Cuando se induce la cristalización ésta permite la generación de cremas cuyos componentes granulares son finos y de consistencia suave. Se han estudiado distintas técnicas de cristalización inducida: por agitación o por mezcla de dos mieles (Fernández, 2001; Piana, 2002). Usualmente una miel líquida se mezcla con una fracción porcentual de miel cristalizada, bajo condiciones térmicas específicas. Este tipo de productos permite la incorporación de nuevos componentes para la generación de alimentos energéticos y funcionales. El desarrollo de nuevos productos alimenticios, conlleva a la necesidad de implementar estrategias para el mejoramiento de la calidad de los productos antes de su ingreso al mercado. El modelo de despliegue de la función de calidad (QFD) brinda atención especial a los elementos cualitativos que permiten conocer mejor al consumidor y contribuir al mejoramiento continuo de productos y servicios (Sohn, So Young & Hyoung Ki So (2002), Vanegas, L. V. y A. W. Labib (2001), Martins, Aliksiei, & Elaine M. Aspinwall (2001), Tan, K. C. & X. X. Shen (2000) La tecnología de procesos y la implementación del método Dyce en relación a las mieles cristalizadas y cremosas, se han establecido nuevas posibilidades para la incorporación de productos funcionales y el aporte de factores nutricionales. El objetivo de este trabajo ha sido el aprovechamiento de miel y nueces de *Macadamia (Macadamia integrifolia)*, en el desarrollo de nuevos productos alimentarios, donde coexisten factores intrínsecos propios de los componentes miel y nuez a través del diseño de mezclas y su análisis a través del núcleo central del QFD (Casa de la calidad).

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **MATERIA PRIMA**

En el estudio fueron consideradas nueces de Macadamia (*Macadamia integrifolia*) proveniente de cultivos comerciales del corredor Palmira-Pradera (Valle) y comercializado en mercados de abasto en Pereira (Colombia). La miel usada en el trabajo se benefició en apiarios del sector de Villanueva (Casanare).

#### **ELABORACIÓN MIEL CREMADA**

Muestras de miel fueron inducidas a cristalización a 12 °C. La homogenización y generación de la base cremada se realizó siguiendo la metodología descrita en el modelo Dice citada por Piana (2002). En el proceso se usó una batidora Oster™ de 10 velocidades, dispuesta con dos motores (80-245 wattios). La temperatura de homogenización fue de 26 °C y humedad relativa de 76%. La mezcla se dispuso en recipiente de 1 kg, posteriormente se mantuvo en baño térmico a 14 °C por 12 días.

#### **TRITURACIÓN NUECES**

Las nueces se extrajeron a través de técnicas mecánicas, procediendo a la reducción del tamaño de partícula mediante molturación. El producto se empacó usando una empacadora y selladora al vacío marca Oster TM; se mantuvo en congelador a 4 °C hasta el momento de su incorporación en cada una de las mezclas evaluadas.

#### **DISEÑO MEZCLAS**

La incorporación de las nueces molturadas se hizo sobre las muestras de miel cremada, retiradas del baño frigorífico, este material se incorporó a la mezcladora. En la preparación de las mezclas se utilizó el paquete estadístico Minitab 15™. El diseño considerado se hizo sobre dos componentes (Simplex Lattice), los rangos establecidos en fracción fueron: 0.15-0.30 (Macadamia) y 0.70-0.85 (Miel), para un total de 5 formulaciones: 1 (15/30); 2 (30/70); 3 (22.5/77.5); 4 (18.7/81.3); 5 (26.3/73.7). Estas mezclas se envasaron y dispusieron en frascos de vidrio de 250g en borosilicato y tapa Twist off.

#### **ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO**

Las determinaciones analíticas para el pH, °Brix, conductividad y sólidos iónicos solubles totales de cada una de las mezclas de miel crema y Macadamia se realiza-

ron usando agua destilada y deionizada; 5 g de cada una de las mezclas se diluyeron en 20 ml de agua destilada y se procedió a la evaluación de cada una de las determinaciones; se realizaron correcciones para la conductividad y sólidos iónicos. Se abordaron las metodologías AOAC (2003). Las caracterizaciones para el color se evaluaron conforme al sistema CIELab (León, Pedrechi y León, 2006).

### **EVALUACIÓN SENSORIAL**

Las muestras fueron sometidas a evaluaciones sensoriales por parte de 16 jueces entrenados, utilizando una escala hedónica de 0 a 9, determinando en cada caso los parámetros de aspecto visual (homogeneidad y dispersión de la mezcla), sabor a macadamia, aroma a miel, textura bucal (criterio de homogeneidad), dulzor, untabilidad (facilidad con que el panelista puede untar el producto con la ayuda de una paleta) y sensación global. El estudio se realizó a través de análisis descriptivo cuantitativo QDATM.

### **FUNCIÓN DE DESPLIEGUE DE LA CALIDAD**

Esta herramienta representa gráficamente la relación entre los requerimientos del consumidor (RC) y las características técnicas del proceso (CT) necesarias para satisfacerlas. La metodología utilizada para realizar la casa de la calidad corresponde a la descrita por Akao y Yoji (1988) e implementada por autores como Park, Hee y Seung (2002), Selen, Willem y Jos (2001) y Yacuzzi, Enrique y Martín (2002). Previamente se entrevistó a los consumidores para obtener la voz del consumidor (necesidades del cliente) y agrupar estas necesidades mediante un diagrama de afinidad, obteniendo de esta manera los RC. Se utilizó el software QFD capture profesional Edition. Los RC se encuentran en la parte vertical de la matriz, mientras que los CT en la parte horizontal superior. En la parte derecha de los RC se ubica la prioridad asignada a cada RC, que se obtuvo por consenso entre el personal técnico del laboratorio y un grupo de consumidores. Los cruces entre las filas y columnas de la matriz representan la intensidad del vínculo entre cada RC con los CT correspondientes. Además de ello, dentro de la matriz existe una columna con la prioridad que los clientes asignan a cada RC, varias columnas que comparan los RC del producto desarrollado con los de la competencia y un panel triangular que indica la correlación existente entre las distintas CT.

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

##### MATERIA PRIMA

La miel proviene de la flor de Eucalipto (monofloral), presenta 17 % de humedad, fructosa (38.7 %), glucosa (31.4 %), sacarosa aparente (1.50 %), la acidez total es de 26.4 (meq/kg) y pH de 3.82 (Salamanca, 2005). El sabor hostigante se atribuye al elevado contenido de miel en el producto, debido a la presencia de altas concentraciones de azúcares. Ahora bien, el origen biogeográfico de la miel influye intensamente en la presencia del sabor hostigante y el sabor residual desagradable. La miel de Eucalipto brinda buenas características al producto, sin embargo, el uso de mieles con sabores más suaves y notas florales, podría generar cambios favorables en el producto final. El análisis proximal sobre la nuez de macadamia revela una fracción lipídica total de 71 %; la proporción de proteína 7.62 %, carbohidratos 7.20 % y cenizas 1.52 %. La nuez aporta calcio (670 mg/kg); magnesio (1020 mg/kg) y potasio (3490 mg/kg). El valor nutricional en términos de aporte energético alcanza las 613 calorías/100g. La composición media de ácidos grasos es como sigue: mirístico (1.20 %), palmítico (15,5 %), palmitoléico (22,5 %), esteárico (3,50 %), oléico (53.1 %), linoléico (2,95 %) y araquídico (2,85 %). Esta relación se define en términos de 19.8 % de ácidos grasos saturados y 80.0 % de insaturados a favor del ácido palmitoleico y oleico respectivamente (Garg *et al.*, 2007; Monaghan, 2008; Siwaporn, Juthamas y Kanitha, 2008). Es evidente que el valor funcional del producto está siendo aportado no solo por los componentes naturales de la miel (azúcares), sino también por la composición nutricional de la macadamia. El uso de grandes concentraciones de este componente puede generar aparición de sabores residuales desagradables debido al alto contenido de ácidos grasos.

##### ANÁLISIS DE MEZCLAS

Dado que la miel es un producto de carácter ácido, en las mezclas esta característica se mantiene, pero se ve influenciada por la incorporación de la nuez de una parte y de la residualidad de aire ocluido durante el proceso de homogenización de otra; estas condiciones permiten la disminución de la acidez con aumento de pH desde 5.60 a 5.90; este comportamiento se ajusta a un modelo cuadrático ( $P_v < 0.0397$ ;  $r^2 = 96.6$ ), con una pequeña contribución de la interacción macadamia/miel; el pH óptimo se logra con una mezcla 25.1 % macadamia y 74.9 % miel, alcanzando el valor 5.90. Las

muestras a su vez presentan un contenido de humedad entre 12.7 y 14.9%. La actividad de agua es del orden de 0.56, condición que restringe la proliferación de mohos y levaduras. Los valores de conductividad presentan rangos estrechos que van de 0.95 a 1.02 ms. En la Tabla 1 se relacionan los parámetros fisicoquímicos en 5 formulaciones. Los sólidos solubles de la miel corresponden a un modelo lineal ( $P_v=0.0049$ ;  $r^2=88.9$ ), aportan principalmente fructosa y glucosa, componentes energéticos de fácil asimilación. La formulación con mayor aporte es la de 75 °Brix, con 273 calorías/100g.

El parámetro luminancia (L) no presenta diferencias importantes en las formulaciones evaluadas; la cromaticidad ( $b^*$ ) amarillo-azul, presenta un comportamiento cuadrático ( $P_v=0.05$ ;  $r^2=88.9$ ), está en función de las proporciones de los componentes, alcanzándose un valor óptimo de 36.3 cuando las proporciones son 15-85 (macadamia-miel), por otra parte los parámetros sensoriales que se ajustan a modelos lineales, corresponden a la textura bucal ( $P_v=0.0194$ ;  $r^2=87.5$ ), y la precepción del sabor a macadamia ( $P_v=0.0006$ ;  $r^2=98.7$ ), alcanzando óptimos sensoriales superiores a 8.3 y 8.7 respectivamente, para una mezcla de componentes en la proporción 30-70; en la textura bucal el comportamiento de estos componentes y sus características palatables dependen en mayor medida de la dispersión de la macadamia en miel; asimismo, el sabor a nuez generado a partir del producto molturado, es percibido por los jueces en la medida en que se incrementa este componente, vale indicar que la miel contribuye de manera importante potencializando los matices propios de esta nuez.

### **VALORACIONES SENSORIALES**

La sensación global del producto se encuentra en función de la forma de preparación de las muestras, de la mezcla íntima de los componentes y de la ausencia de defectos. Las percepciones por parte de los jueces se ajustan a un modelo cuadrático ( $P_v 0.05$ ;  $r^2=91.9$ ); los óptimos se perciben cuando la mezcla es de 24-76% macadamia-miel, relación puntuada con valores medios de 8,7. Una optimización similar de los componentes y el mismo modelo se aplican al aspecto visual ( $P_v=0.0457$ ;  $r^2=94,5$ ), con valor óptimo mayor a 6.62, dependiente de las proporciones de nuez, de miel cremada y de la mezcla final.

### **FUNCIÓN DE DESPLIEGUE DE LA CALIDAD**

Refleja las características (necesidades del consumidor) más importantes que debe tener el producto y los componentes técnicos con mayor peso, sobre los que se



debe ejercer control, logrando el mejoramiento de la calidad. En la miel cremosa con macadamia, el porcentaje de importancia de las características de calidad varía entre 7.7 y 18.5 %. Las características (RC) de mayor peso corresponden al sabor residual agradable, ausencia de sabor hostigante, presencia de componentes funcionales y ausencia de colorantes, saborizantes y conservantes en el producto (Figura 1). El porcentaje de importancia de los CT se encuentra entre 3.5 y 21.9, siendo mayores la concentración de miel, origen biogeográfico de la miel, grados brix del producto, acidez del producto y concentración de macadamia. Se observó que la materia prima utilizada en la elaboración del producto, influyó de manera significativa sobre los parámetros de calidad de la miel cremosa con macadamia.

## **5. CONCLUSIONES**

El producto desarrollado a base de miel de abejas cremada y macadamia permite diversificar el consumo de miel y aprovechar el alto contenido de grasa monoinsaturada de la nuez. De acuerdo a la respuesta sensorial optimizada la relación de los componentes en la mezcla corresponden a 24.8 % (macadamia) y 75.2 % (miel). La característica de calidad de mayor importancia corresponde al sabor residual agradable (18.5 %), mientras que la característica técnica del proceso de mayor relevancia es la concentración de miel (21.9 %).

## **6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- AKAO, Yoji (Ed.) (1988). *Quality Function Deployment: Integrating Customer Requirements into Product Design*. Productivity Press, Portland, OR.
- AOAC. (2003). *Official Methods of Analysis*, 17th edition. Association of official Analytical Chemists, Washington, D.C.
- BOGDANOV, S.; Jurendic, T.; Sieber, R.; Gallmann, P. (2008). Honey for nutrition and health: a review. *J. Am. Coll. Nutr.* 27 (6) 677-689.
- FERNÁNDEZ, T. (2001). *Elaboración de miel crema mediante dos métodos alternativos*. Tesis para optar al título de Ingeniero en Alimentos. Valdivia. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias agrarias. 128p.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS / Health World Organization (FAO/WHO). (2000). *Codex Alimentarius*. Roma, Italia. 459p.

- GARG, M.L., Blake, R.J., Wills, R.B. y Clayton, E.H. (2007). Macadamia nut consumption modulates favourably risk factors for coronary artery disease in hypercholesterolemic subjects. *Lipids*, 42:583-587.
- LEÓN, K. Mery, D.; Pedrechi, F.; León, J. (2006). Color measurement in La\*b\* units from RGB digital images. *Food Research Internaciotal*. 39(10) 1084-1091.
- MARTINS, Alieksiei, & Elaine M. Aspinwall (2001). "Quality function deployment: an empirical study in the UK", *Total Quality Management*, Vol. 12, No. 5, pp. 575-588.
- MONAGHAN, E.K. (2008). Chemical composition and protein antigenicity almond (*Prunus dulcis*) and macadamia nut (*Macadamia integrifolia*) seeds. A Department of Nutrition, Food. Doctoral Tesis doctoral. Florida State University.180Pp.
- PARK, Hee-Sok & Seung J. Noh (2002). "Enhancement of web design quality through the QFD approach", *Total Quality Management*, Vol. 13, No. 3, pp. 393-401.
- PIANA L. (2002). Cristalización dirigida de mieles: Ventajas y modos de realización. Memorias XVI seminario americano de Apicultura Tuxtla Gutiérrez. Chiapas. México. Pp 52-56.
- PIANA, L. (2002). La correcta conservación de las mieles. Control de la fermentación y el envejecimiento. Control de Calidad. XVI Seminario Americano de Apicultura, Memorias. Tuxtla Gutiérrez. México. Pp 52- 60.
- SALAMANCA, G.G. (2001). Estudio analítico de las propiedades fisicoquímicas de mieles de Boyacá. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Valencia.
- SALAMANCA G.G. (2005). Características y propiedades de las mieles de Villanueva (Casana-re). Documento técnico. Facultad de Ciencias Universidad del Tolima. Colombia.
- SELEN, Willem J. & Jos Schepeers (2001). "Design of quality service systems in the public sector: use of quality function deployment in police services", *Total Quality Management*, Vol. 12, No. 5, pp. 677-687.
- SIWAPORN Jitngarmkusol, Juthamas Hongsuwankul y Kanitha Tananuwong. (2008). Chemical compositions, functional properties, and microstructure of defatted macadamia flours. *Food Chemistry*. 30(1).Pp.23-30
- SOHN, So Young & Hyoung Ki So (2002). "Quality improvement of barrack life in the Republic of Korea army", *Total Quality Management*, Vol. 13, No. 3, pp. 323-334.
- TAN, K. C. & X. X. Shen (2000). "Integrating Kano's model in the planning matrix of quality function deployment", *Total Quality Management*, Vol. 11, No. 8, pp. 1141-1151.
- VANEGAS, L. V. y A. W. Labib (2001). "A Fuzzy Quality Function Deployment (FQFD) model for deriving optimum targets", *International Journal of Production Research*, Vol. 39, No. 1, pp. 99-120.

YACUZZI, Enrique y Fernando Martín (2002). “Aplicación del método de Kano en el diseño de un producto farmacéutico”, *Serie Documento de Trabajo* No. 224, Universidad del CEMA, septiembre.

## 7. TABLAS Y FIGURAS

**TABLA 1.** Parámetros fisicoquímicos asociados a mezclas de miel cremosa con macadamia

| Parámetros            | Formulaciones |      |       |      |       |
|-----------------------|---------------|------|-------|------|-------|
|                       | 1             | 2    | 3     | 4    | 5     |
| °Brix                 | 75.0          | 62.0 | 68.0  | 69.0 | 65.0  |
| Grasa (g por 100 g)   | 1.14          | 2.29 | 1.71  | 1.40 | 2.00  |
| Humedad (g por 100 g) | 14.9          | 12.7 | 13.8  | 14.4 | 13.3  |
| Cenizas (g por 100 g) | 0.65          | 0.81 | 0.73  | 0.70 | 0.77  |
| C. E (mS cm-1)        | 0.98          | 1.02 | 0.98  | 0.95 | 0.98  |
| pH (25 oC)            | 5.60          | 5.84 | 5.86  | 5.80 | 5.90  |
| L                     | 62.4          | 63.7 | 63.9  | 62.  | 61.8  |
| <i>a</i> *            | -1.62         | 0.10 | -0.46 | 1.57 | -1.84 |
| <i>b</i> *            | 37.0          | 32.9 | 28.7  | 27.8 | 27.9  |
| C                     | 37.0          | 32.9 | 28.8  | 28.0 | 27.9  |
| h                     | 87.5          | 89.8 | 89.1  | 86.8 | 86.2  |
| Glucosa               | 26.7          | 22.0 | 24.3  | 25.5 | 23.2  |
| Fructosa              | 32.9          | 27.1 | 30.0  | 31.4 | 28.5  |
| Sacarosa              | 1.28          | 1.05 | 1.16  | 1.22 | 1.11  |
| Calorías (Cal/100g)   | 273           | 238  | 253   | 255  | 246   |

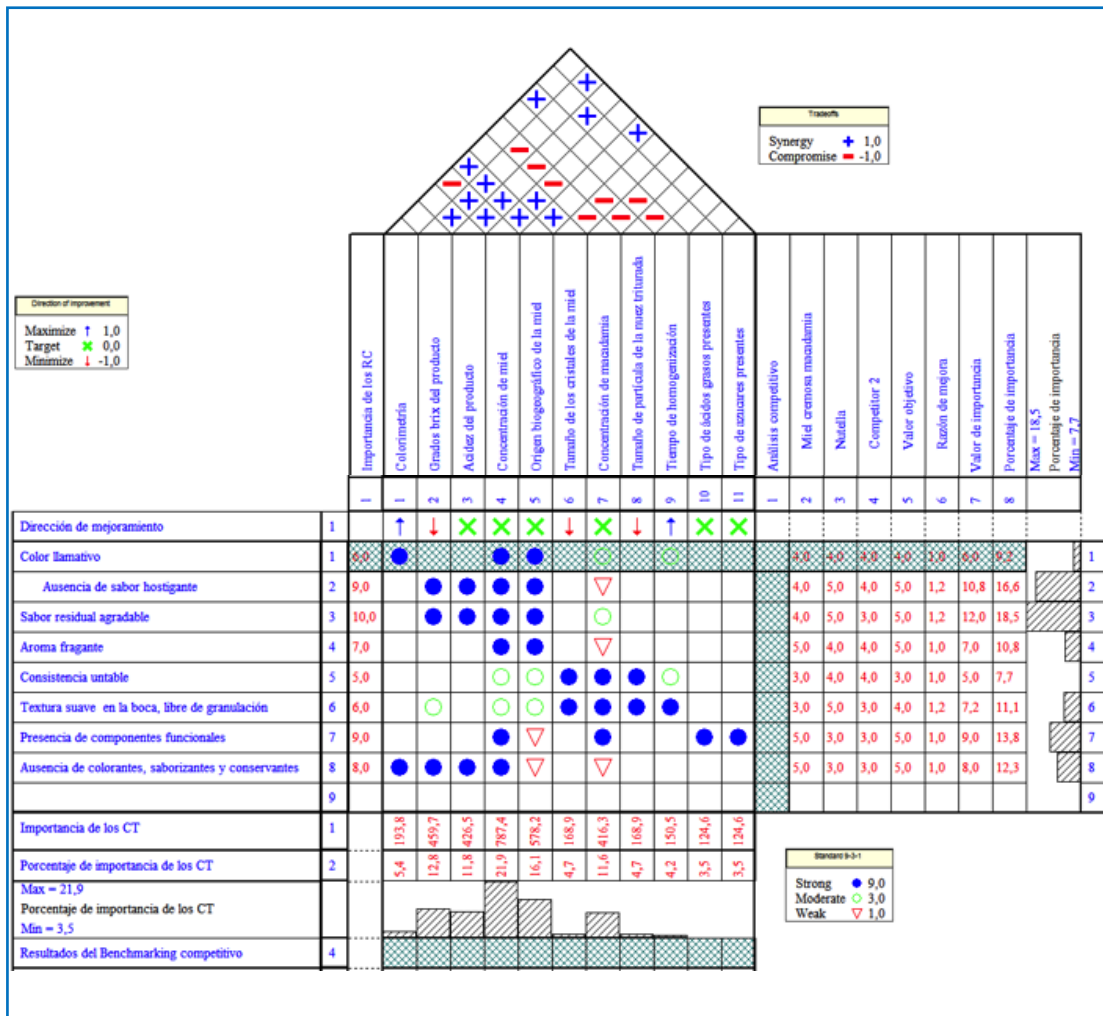


FIGURA 1. Representación de la función de despliegue de la Calidad en el desarrollo de una miel cremosa a base de Macadamia

# INCIDENCIA DE LAS CONDICIONES DE ENTORNO SOBRE LA ESTABILIDAD CROMÁTICA EN PURE DE AGUACATE

Guillermo Salamanca Grosso, Mónica Patricia Osorio, Pedro Martínez Gutiérrez

## 1. RESUMEN

Uno de los principales problemas asociados al procesado de puré de aguacate reside en la alteración que tiene lugar durante el almacenamiento, que usualmente requieren congelación o refrigeración. Las reacciones enzimáticas generadas en la actividad de Polifenoloxidasa (PPO) y Lipoxigenasas (LIOX's), causan cambios importantes en la calidad de los purés elaborados. El pardeamiento enzimático genera pérdidas importantes en la calidad del producto transformado. En este trabajo se ha estudiado la cinética y estabilidad del color de puré de la variedad Choquette a 4.0; 14; y  $24 \pm 2$  °C, sobre los parámetros de Luminancia (L), cromaticidad rojo/verde ( $a^*$ ), amarillo/ azul ( $b^*$ ), Croma (C) y ángulo de Tono (h), durante 5 h. con intervalos de 30 min. Muestras de aguacate previamente homogenizadas se sometieron a los tratamientos térmicos indicados y procedió a la evaluación de la cinética de la degradación de las propiedades cromáticas. Se realizaron conversiones fraccionales para la estimación de los parámetros cinéticos. La degradación del color se ajusta a una cinética de primer orden sobre  $a^*$ , las combinaciones  $a^* \times b^*$ ;  $L \times a^* \times b^*$ ; y  $(\Delta L^2 + Da^{*2} + Db^{*2})^{1/2}$  sobre los cambios de color. Las constantes de velocidad se ajustan a una relación de Arrhenius. Las energías de activación observadas son consistentes con la secuencia  $4.0 > 14 > 24$  °C. cuanto mayor es la energía de activación menor es la velocidad de la reacción. El trabajo contribuye a la valoración de la estabilidad de frutas procesadas y sus cambios de color por efectos de pardeamiento y puede ser usado para monitorear el efecto de antioxidantes.

---

CONTACTO: Guillermo Salamanca G. [salamancagrosso@gmail.com](mailto:salamancagrosso@gmail.com)  
Grupo de Investigaciones Mellitopalínológicas y Propiedades  
Físicoquímicas de Alimentos. Facultad de Ciencias Universidad del  
Tolima. Ibagué Tolima, Colombia.

## 2. INTRODUCCIÓN

El aguacate (*Persea americana*), es una fruta apreciada en el mercado mundial por su consistencia suave similar a la de la mantequilla, su exquisito sabor, su alto valor nutritivo y por sus amplias posibilidades de uso no solo en la culinaria sino en procesos agroindustriales, (Olaeta, 1987). El aguacate es botánicamente clasificado en tres razas: 1) West Indian (WI), *Persea americana* Mill. var. *americana* (*P. gratissima* Gaertn.) tropicales con grandes variedades en la forma de las frutas y menor contenido de aceite, 2) México (MX), *P. americana* Mill. var. *drymifolia* Blake (*P. drymifolia* Schlecht. & Cham.), semi-tropical con frutos menos alargados de cáscara delgada y de mayor contenido de aceite, y 3) Guatemala (G), *P. nubigena* var. *L. guatemalensis* Wms. subtropicales frutas de piel gruesa y contenido medio de aceite, (Bergh y Lahav, 1996; Agudelo, C.A. 1993; Darvas *et al.*, 1980).

Los principales criterios de calidad utilizados en la clasificación son el tamaño, el color de la piel, manchas, daños por insectos (sobre todo los debidos a la oruga y las cicatrices causadas por el thrip), residuos de spray (cobre) y otros contaminantes en la piel. Los aguacates son una de las pocas frutas que contienen cantidades significativas de aceite, a veces mayor al 30 % del peso fresco la cual está en función de los cultivos y madurez. El contenido en aceite es una parte fundamental de la calidad sensorial. La calidad del aceite es muy similar a la del aceite de oliva siendo aproximadamente el 75 % monoinsaturados, el 15 % saturado y el 10 % ácidos grasos poliinsaturados ( $\Omega$  -6). Sin embargo, esto varía de acuerdo a la variedad, el cultivo, la región de siembra y la temporada. La extracción de aceites en aguacates rechazados se lleva a cabo en algunos países para su utilización en productos cosméticos y para fines culinarios, (Arpaia y Hofshi, 1998).

El aguacate, presenta una variada posibilidad de usos como productos industrializados entre otros: pulpas como base para productos untables, tanto frescas como refrigeradas o congeladas, mitades congeladas, y obtención de aceite, tradicionalmente para fines cosméticos, pero este último tiempo se ha incrementado la producción de aceite extra virgen para fines culinarios, teniendo un gran potencial futuro por sus propiedades. Dentro de las alternativas nombradas, el puré de aguacate congelado ha sido el que ha tenido un mayor volumen de producción al ser utilizado como base para productos untables constituyendo la base del Guacamole, muy popular en México, país con mayor consumo en el mundo, y ahora también en

Estados Unidos y Europa como base de las comidas denominadas “Tex-Mex”. En el proceso de industrialización de la palta como puré, uno de los principales problemas es el pardeamiento de tipo enzimático, el cual altera la apariencia del producto e induce cambios en el aroma y en el sabor de la pulpa. Se le denomina pardeamiento enzimático a la transformación de compuestos fenólicos en polímeros coloreados, denominándosele melaninas a los pigmentos que se forman frecuentemente de colores pardos o negros, (Woolf, 1997; Woolf *et al.*, 1995; Agudelo, 1993; Chaplin *et al.*, 1983; Chaplin y Scott, 1980; Kiger *et al.*, 1980; AUDA, 1980; Zauberman *et al.*, 1977; Peralta, 1977).

El pardeamiento enzimático en los frutos de aguacate es causado por las enzimas olifenoloxidas y peroxidasa principalmente. La enzima polifenoloxidasa (PPO o PFO), es una proteína cúprica que cataliza la oxidación de compuestos fenólicos a quinonas, éstas prosiguen su oxidación con el oxígeno del aire sobre el tejido hasta formar compuestos oscuros de tipo melanoide, por polimerización. La peroxidasa es una enzima capaz de oxidar los substratos fenólicos a quinonas, pudiéndose encontrar en paltas con síntomas severos de pardeamiento de pulpa una mayor actividad enzimática, (Van Lelyveld *et al.*, 1984).

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **MATERIA PRIMA**

Se utilizaron frutos de aguacate de la variedad Choquette comprados en un plaza local de la ciudad de Ibagué en un estado de madurez optimo para el consumo, el cual se proceso para extraer su pulpa y realizar un proceso de homogenización a esta con el fin de obtener un producto de consistencia uniforme.

#### **CARACTERIZACIONES FISICOQUÍMICAS**

Las determinaciones analíticas efectuadas fueron: Humedad, pH, conductividad (mS) y sólidos iónicos solubles (ppt) tomadas en la pasta de puré. Para efectuar dichas determinaciones se empleo 20 g de puré y se diluyó en 90 ml de agua destilada, tomando en cuenta el manual de métodos analíticos para alimentos de la AOAC.

#### **TRATAMIENTO TÉRMICO**

Para esta investigación, el puré de aguacate fue dosificado en cajas de petri para evaluarlas a tres diferentes temperaturas (T1=4.0; T2=14; y T3=24±2 °C) durante 5 horas con intervalos de 30 minutos.

### ESTABILIDAD DEL COLOR

El estudio de las propiedades cromáticas y sus cambios se realizó a través del análisis de imágenes tomadas en cámara digital. Se evaluaron los datos obtenidos mediante el método de CIE-La\*b\*. El sistema de L, a\* y b\* es la escala usada más frecuente para medir el cambio de los productos alimenticios. El valor de L es la medida de la luminancia, el valor de b\* indica el cambio de color de azul a amarillo, y el valor de a\* el cambio de verde a rojo. Se utilizó también una combinación de estos tres valores como lo es a\* x b\*, L x a\* x b\* y TCD:

$$TCD = (DL + Da^{*2} + Db^{*2})^{1/2} \quad (1)$$

TCD expresa el cambio total del color en el producto alimenticio. Se utilizaron también las coordenadas psicométricas tono y croma [20].

$$Tono = \arctg [b^*/a^*] \quad (2)$$

$$Croma = [a^{*2} + b^{*2}]^{1/2} \quad (3)$$

Modelos Cinéticos: Modelos cinéticos de orden cero y primer orden han sido usados para evaluar degradación del color en los productos alimenticios, (Ahmed *et al.*, 2002; Shin y Bhowmik, 1995). Estos modelos se expresan mediante las siguientes ecuaciones:

$$\text{Orden cero: } C = C^0 + k^0t \quad (4)$$

$$\text{Primer orden: } C = C^0 \exp(k^1t) \quad (5)$$

Donde C es el valor de la escala medida del color, o la combinación de valores de la escala del color, C<sup>0</sup> es el C inicial, t el tiempo expuesto al tratamiento térmico y k es la constante de la velocidad de reacción. La sensibilidad de las constantes de



velocidad fueron analizadas usando la ecuación de Arrhenius

$$k = k^0 \exp(-E/RT) \quad (6)$$

donde,  $k^0$  es el factor de frecuencia ( $\text{min}^{-1}$ ),  $E$  es la energía de activación ( $\text{Kj/mol}$ ),  $R$  es la constante universal de gases ( $8,314 \text{ J/mol/K}$ ) y  $T$  es la temperatura absoluta ( $^{\circ}\text{K}$ ). La evaluación de los resultados se analizó con el paquete de software Origin 7SR VR 8.

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Propiedades fisicoquímicas: los frutos analizados presentaron una humedad del 86 %, pH de 6.76, conductividad ( $\text{mS cm}^{-1}$ ) 3.29, sólidos iónicos solubles (partes por mil) 1.63, peso de 898 gr, ancho medio de 10.31 cm y una longitud medio de 17.97 cm de forma ovalado y chato en las puntas, de textura firme y exocarpo rugoso de color verde, el mesocarpo presento una forma consistente de coloración amarilla y textura suave, el porcentaje de pulpa extraída de este fruto fue de 78,76 %, siendo este un producto con un alto rendimiento lo que lo hace primordial como materia prima para diferentes procesos de la industria alimentaria.

Estabilidad del color: Durante el proceso térmico aplicado al puré se observo que los valores de  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , tono (h) y croma (C) presentaron cambios significativos para los diferentes tratamientos percibiendo un cambio de color de verde oliva a verde marrón. Debido a que el color predominante en el puré es el color verde se utilizo el valor de  $a^*$  (Cromaticidad rojo/verde) como parámetro fundamental para la descripción de la alteración en la estabilidad cromática del puré. La Figura 1a ilustra la evolución del parámetro  $a^*$  durante el proceso térmico, se puede observar una tendencia a aumentar el valor de  $a^*$  (-80 para verde y 100 para rojo) para los tres tratamientos, siendo más significativo el aumento en el T3, este aumento podría deberse a la degradación de la clorofila a feofitina, con la subsecuente degradación a feoforbidos y clorinas, manifestando un cambio de color de verde oliva a verde pardo, debido a la formación de feofitinas de color marrón-oliva. Para el T1 no se observa un aumento significativo del valor de  $a^*$  debido a que la degradación de la clorofila es afectada por la temperatura.

El cambio presentado por los tratamientos térmicos en el parámetro ( $L$ ) Lu-

miniosidad el cual denota el cambio del brillo del puré (100 para blanco y 0 para negro) dando la característica de colores claros o oscuros (Figura 1b), donde se manifiesta una disminución de este valor para los tres tratamientos aplicados, siendo más significativo el cambio de ( $L$ ) para el T3 debido a que la clorofila por el efecto de la temperatura sufre modificaciones, perdiendo esta el color verde brillante, dando paso a un color verde oliva, perdiendo luminosidad o brillo. El uso de diferentes combinaciones de los parámetros  $L$ ,  $a^*$  y  $b^*$  son utilizados para describir el cambio total del color del puré, estas combinaciones se recogen en la Tabla 1. Una de las principales combinaciones utilizadas es el TCD ya que expresa el cambio total del color de un producto alimenticio. La Figura 2a, muestra la evolución para la combinación TCD con respecto al tiempo. Se observa un cambio de color significativo para el T3, estos cambios se pueden explicar debido a la degradación de la clorofila afectada por la temperatura, la clorofila se degrada primero en feofitina y luego a otros compuestos incoloros, quedando expuestos otros pigmentos presentes en las frutas como los carotenoides, antocianinas y flavonoides, que dan a las frutas colores amarillos, anaranjados y rojizos. Cuando el tejido vegetal es cortado, golpeado o aplastado existe una disrupción a nivel celular y una exposición de los sustratos de tipo fenolico al oxígeno del aire, siendo convertidos por vía enzimática (PFO y PPO) en melaninas, que son compuestos oscuros de color marrón y caracterizan a este tipo de oscurecimiento.

El parámetro Cromo ( $C^*$ ) se define como la pureza o saturación del color, este parámetro expresa colores vivos o colores apagados, por lo tanto, que la pulpa tenga una tendencia del croma hacia un valor 0 indica que ha ocurrido un cambio en el color. La Figura 2b, muestra la evolución del parámetro  $C^*$  durante el tratamiento térmico aplicado al puré, se observa un cambio significativo en el valor de  $C^*$  para los tres tratamientos, siendo el T3 el de mayor disminución de valor y el T1 el valor con menor variación de este parámetro. Este cambio en el parámetro  $C^*$  es debido a la degradación de la clorofila presente en el puré, perdiendo la coloración verde en las muestras.

Los valores cinéticos para los parámetros de evaluación del color y sus debidas combinaciones, se recogen en la Tabla 1. Los cambios de color producidos en el puré se ajustan a una cinética de orden cero y primer orden.  $k_0$  expresa la velocidad de la reacción enzimática, a medida que la temperatura disminuye, la velocidad de reacción también lo hace, siendo nula únicamente cuando se alcanza el cero absolu-

to. Se puede observar diferentes valores para  $k_0$  en los cuales el T3 revela los valores más altos para los parámetros de color analizados y sus respectivas combinaciones, esto se traduce en un cambio significativo para las condiciones cromáticas del puré sometido a este tratamiento, para los tratamientos T1 y T2 se observan valores de  $k_0$  relativamente bajos, presentándose un menor cambio en T1, este cambio en el T1 se debe a que las enzimas tienen una temperatura óptima para su acción (en la mayoría de los casos entre 30 y 40 °C), por consiguiente, el enfriamiento, al colocar el nivel de temperatura fuera del óptimo, necesariamente reduce la actividad enzimática, (López-Malo *et al.*, 1998). En T1 y T2 los valores de la  $Ea$  son mayores comparándolos con los valores presentados para el T3, siendo mayores los valores de T1 en relación a T2 y T3. Conforme la magnitud de  $Ea$  aumenta,  $k$  disminuye por que la fracción de moléculas con la energía necesaria es más pequeña. Por tanto, la velocidad de reacción disminuye conforme  $Ea$  aumenta. El modelo de Arrhenius representa la dependencia de la constante de velocidad en relación a la temperatura. La Figura 3 muestra esta relación mediante una reacción de orden cero para el parámetro TCD, observando que para el T3 la constante de velocidad en la reacción es mayor comparándola con T1 y T2. El T1 es el tratamiento que presenta un menor valor lo que manifiesta una constante de velocidad de reacción menor. El modelo de Arrhenius se ajusta a la forma  $\ln k = -5846,93t + 21,19$  para el cambio de color global del puré.

## 5. CONCLUSIONES

La degradación de color para el puré de aguacate (*Persea americana*) var. choquette sometidos a un tratamiento térmico se ajusta a una reacción cinética de orden cero. La dependencia de la constante de velocidad en relación a la temperatura esta expresada mediante el modelo de Arrhenius. Los valores de la energía de activación para el color verde ( $a^*$ ) fueron 20.67 Kj/mol, 16.73 Kj/mol y 36.79 Kj/mol para 4, 14, 24 °C respectivamente. Los valores de la energía de activación para el cambio total del color (TCD) fueron 28.23 Kj/mol, 12.95 Kj/mol, 8.10 Kj/mol para 4, 14, 24 °C respectivamente. El cambio de color total (TCD) puede ser usado para la evaluación de la estabilidad cromática de puré de aguacate.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUDELO, C.A. 1993. Conservación de pulpa de palta (*Persea americana* Mill.). Alimentos 18(4):11-14.
- AHMED J. Shivhare U. Kaur M. 2002 Thermal colour degradation kinetics of mango puree. International journal of food properties. Circulation. 359-366.
- ARPAIA, M.L. and R. Hofshi. 1998. Preliminary report on the feasibility of 'snap' harvesting 'Hass' avocados. Subtrop. Fruit News 6(2): 7-9.
- AOAC. Official Methods of Analysis, 17<sup>th</sup> edition. Association
- AUDA, C. 1980. Acondicionamiento y refrigeración de frutas. Seminario de postcosecha de frutas. Santiago: Departamento de Producción Agrícola, Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. ICIRA. 128 p.
- BERGH, B.O. and E. Lahav. 1996. Avocados. In: J. Janick and J.N. Moore (eds) Fruit Breeding. Vol. I. Tree and Tropical Fruits. Wiley and Sons, NY, Pp.113-166.
- CHAPLIN, G.R., R.B.H. Wills, and D. Graham. 1983. Induction of chilling injury in stored avocados with exogenous ethylene. HortScience 18:952-953.
- CHAPLIN, G. R. and Scott, K. J. 1980. Association of calcium in chilling injury susceptibility of stored avocados, HortScience 15(4): 514-515
- DARVAS, J.M., Kiger, F., S. Ceballos, G. Basaez y P. Galeb. 1980. Preservación de palta (*Persea americana* Mill.) variedad Fuerte, mediante el uso de aditivos químicos y bajas temperaturas. Investigación Agrícola 6(1): 33-38.
- FRANCIS, F. J., & Clydesdale, F. H. 1975. *Food colorimetry: theory and applications* (pp. 130-142). Westport, CT: Avi Publishing.
- LÓPEZ-MALO, A.; Palou, E.; Barbosa-Cánovas, G. V.; Welti-Chanes, J.; Swanson, B. G. 1998. Polyphenoloxidase activity and color changes during storage of high hydrostatic pressure treated avocado puree. Food Research International, (31):8: 549-556.
- OLAETA, J. Q.; Rojas, M., Effect of Cultivar and Maturity on the Quality Frozen Avocado Pulp. 10: 163-164. 1987.
- PERALTA, L. E. 1977. Ensayos preliminares en el almacenaje de palta Fuerte (*Persea americana* Mill.). Tesis Ing. Agr., Universidad de Chile, Facultad de Agronomía. Santiago, Chile. 83p.
- SHIN, S., & Bhowmik, S. R. 1995. Thermal kinetics of colour changes in a pea puree. *Journal of food engineering*, 24, 77 – 86.
- VAN LELYVELD, L.J., C. Gerrish and R.A Dixon. 1984. Enzyme activities and polyphenols related to mesocarp discoloration of avocado fruit. *Phytochemistry* 23:1531 -1534.

WOOLF, A.B. 1997. Reduction of chilling injury in stored 'Hass' avocado fruit by 38 °C water treatments. HortScience. 32:1247-1251.

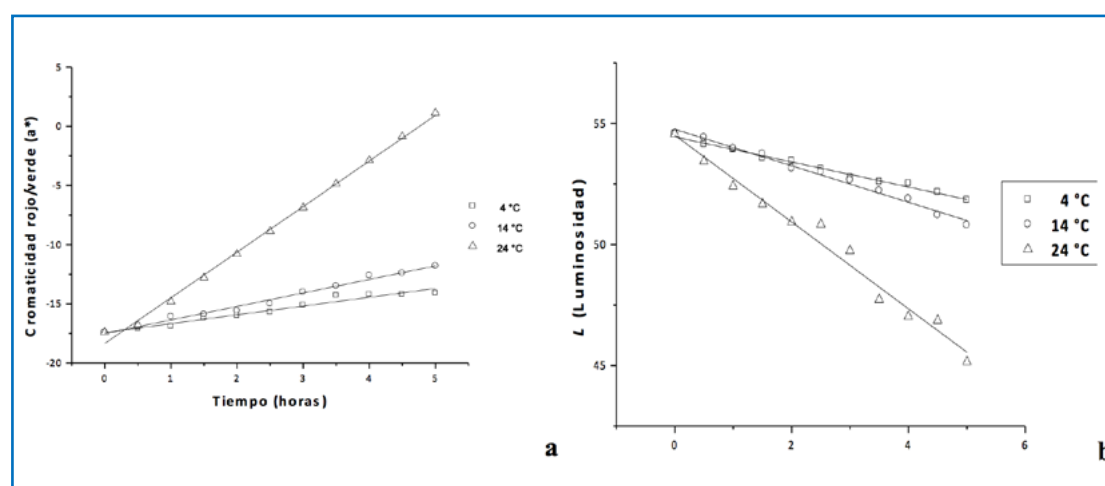
WOOLF, A.B., C.B. Watkins, J.H. Bowen, M. Lay-Yee, J.H. Maindonald, I.B. Ferguson. 1995. Reducing external chilling injury in stored 'Hass' avocados with dry heat treatments. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 120:1050-1056.

ZAUBERMAN, G., Schiffmann-Nadel, M. and Yanko, U. 1977. The response of avocado fruits to different storage temperatures. HortScience 12(4): 353-354.

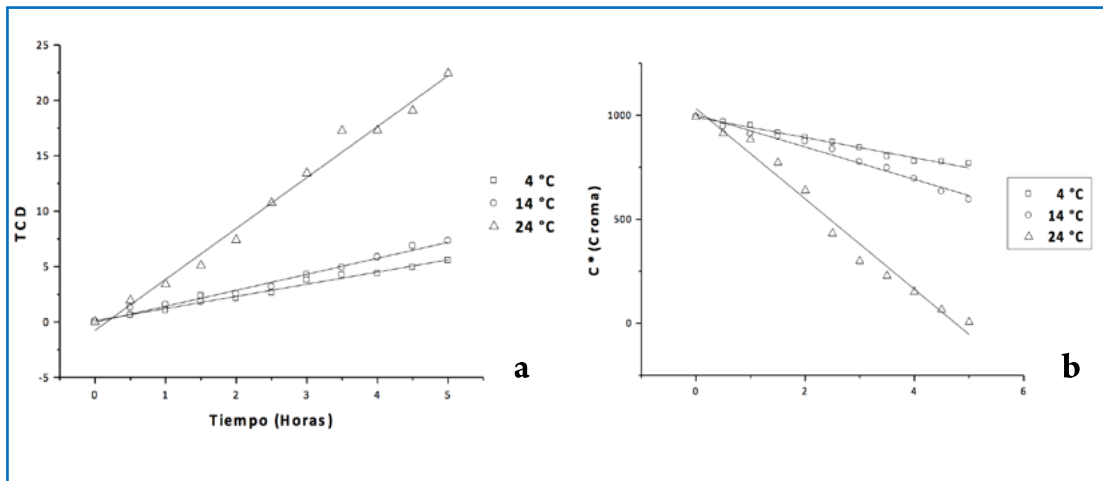
## 7. TABLAS Y FIGURAS

**TABLA 1.** Parámetros cinéticos para la evolución del color en puré de aguacate (*Persea americana*) Var. Choquette sometido a diferentes tratamientos térmicos

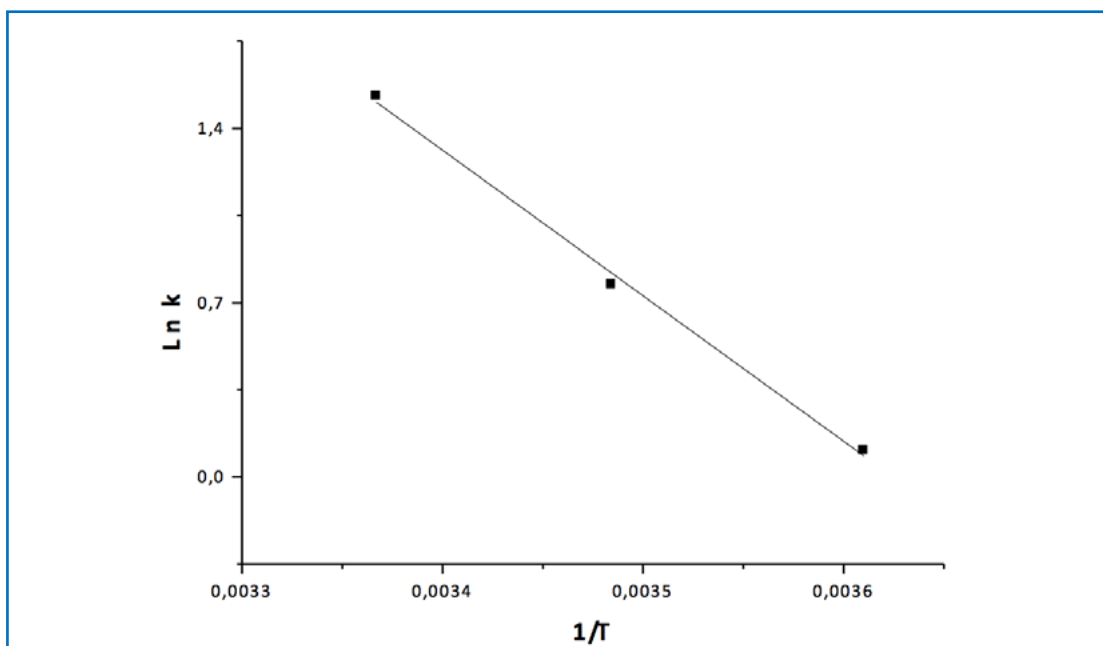
| Combinación | Temperatura °K | $k_0$ (min <sup>-1</sup> ) | R <sup>2</sup> | Ea    |
|-------------|----------------|----------------------------|----------------|-------|
| $a^*$       | 277            | 0,74067                    | 0,95713        | 20,67 |
|             | 287            | 1,15258                    | 0,98494        | 16,73 |
|             | 297            | 3,86866                    | 0,99623        | 5,48  |
| TCD         | 277            | 1,0983                     | 0,97637        | 28,23 |
|             | 287            | 1,4436                     | 0,98223        | 12,95 |
|             | 297            | 4,5950                     | 0,98525        | 8,10  |



**FIGURA 1A.** Relaciones para la evolución de la cromaticidad rojo/verde en puré de aguacate (*Persea americana*) var. choquette. 1b. Relaciones para la evolución de la Luminosidad (L)



**FIGURA 2A.** Relaciones para la evolución para la combinación TCD (cambio de color total) en puré 2b. Relaciones para la evolución para el parámetro C\* (Croma) en puré de aguacate (*Persea americana*) var. choquette



**FIGURA 3.** Relación de Arrhenius para la degradación de color en puré de aguacate (*Persea americana*) var. choquette

# MÉTODO DE CONTROL INTERNO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE GLUTEN EN ALIMENTOS

Paola Soledad Chigal<sup>2</sup>, Ignacio Daniel Ángel Álvarez<sup>1</sup>, Laura Beatriz Milde<sup>1</sup>, Domingo Javier Liotta<sup>1</sup>

## 1. RESUMEN

La enfermedad celiaca (EC) es una enteropatía crónica de origen autoinmune desencadenada por una intolerancia permanente a determinados péptidos del gluten (prolaminas) de ciertos cereales, que se expresa en personas genéticamente predispuestas, y desaparece al suspender el contacto con el gluten. Por muchos años, la EC fue subdiagnosticada, sin embargo, hoy se sabe que es una patología relativamente frecuente. Los alimentos destinados al consumo para celíacos deben ser analizados con ensayos de alta sensibilidad, de manera tal de detectar y cuantificar las prolaminas que resultan ser tóxicas para ellos. En este contexto, en el presente trabajo, se cuantificaron las prolaminas del trigo (gliadinas) en muestras naturales mediante un método inmunológico, ELISA directo. Teniendo en cuenta que la primera etapa en el análisis de prolaminas en alimentos para celíacos consiste en su extracción para su posterior cuantificación, se evaluó el porcentaje de recuperación de las mismas. Como control negativo se utilizó arroz molido (estado natural) y se analizó la misma muestra contaminada con concentraciones conocidas de gliadina, utilizándose Etanol 60 % v/v como solución extractante. El método testado tiene una sensibilidad superior al 90 %, con un límite de detección de gliadina de 0,12 ppm y de cuantificación 0,27 ppm (menores a los 5 ppm establecidos por el Código Alimentario Argentino), con una precisión inter e intraensayo de 4,7 % y 4,9 % respectivamente. El porcentaje de recuperación obtenido a partir de valores

---

CONTACTO: Paola Soledad Chigal [paolachigal@gmail.com](mailto:paolachigal@gmail.com)

1. Módulo de Farmacia y Bioquímica, Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones (UNaM), Argentina.

2. Comité Ejecutivo de Desarrollo e Innovación Tecnológica. Misiones. Argentina.

medios de 12 repeticiones fue 64%, que demuestra la aplicabilidad del método en alimentos que contienen gluten. Por lo tanto, esta técnica se podría presentar como un método de screening para el control interno en la detección de prolaminas, en la etapa de recepción de materia prima en la industria alimentaria, para proporcionar máxima garantía de calidad y seguridad en el producto final.

## 2. INTRODUCCIÓN

La enfermedad celiaca (EC) es una enteropatía crónica de origen autoinmune desencadenada por una intolerancia permanente a determinados péptidos del gluten (prolaminas) de los cereales: trigo, avena, cebada y centeno (T.A.C.C) (Marsh, 1992). Se expresa en personas genéticamente predispuestas y causa una lesión severa de la mucosa intestinal con graves consecuencias para la salud y desarrollo del individuo; se presenta con síntomas y manifestaciones múltiples y variadas, que desaparecen cuando se recupera la mucosa al suspender el contacto con el gluten. Por ello, las personas celíacas deben llevar una dieta libre de gluten, de por vida.

Por muchos años, la EC fue subdiagnosticada, sin embargo, hoy se sabe que es una patología relativamente frecuente. Los alimentos destinados al consumo para celíacos deben ser analizados con ensayos de alta sensibilidad, de manera tal de detectar y descartar aquellas prolaminas que resultan ser tóxicas para ellos.

El CODEX STAN 118-1979, revisado en 2008, establece como método de análisis un método inmunológico u otro que ofrezca como mínimo la misma sensibilidad y especificidad. El Código Alimentario Argentino (CAA) en el capítulo XVII, Artículo 1383, define a un alimento libre de gluten como aquel que está preparado únicamente con ingredientes que por su origen natural y por la aplicación de buenas prácticas de fabricación que impidan la contaminación cruzada, no contengan prolaminas procedentes del trigo, centeno, cebada, avena, ni de sus variedades cruzadas. Establece que el contenido de gluten no podrá superar el máximo de 10 ppm (5 ppm de gliadina), y que se debe utilizar el método de ensayo con sustancias inmunoabsorbentes unidas a enzimas (ELISA) R5 Méndez y toda aquella que la autoridad sanitaria nacional evalúe y acepte. La optimización de un método analítico es fundamental para asegurar que los resultados sean confiables; para ello, es esencial determinar parámetros que dependen fundamentalmente del tipo de método en estudio (normalizado o no, nuevo o modificado). Lo que se debe buscar es poder



determinar con fundamento estadístico, que el método es adecuado para los fines previstos. La primera etapa en el protocolo rutinario de análisis de gluten en alimentos para celíacos, consiste en la extracción de prolaminas con una solución de Etanol 60 % v/v, seguido de su cuantificación (López Villar; Llorente Gómez y Méndez Corman, 2011). En este contexto, se trabajó en la optimización de un ELISA directo para la cuantificación de prolaminas de trigo (gliadinas) en muestras naturales.

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

El desarrollo del trabajo, se basó en la metodología de ELISA directo (Milde y col., 1999), cuya fundamentación consiste en la adsorción de las prolaminas presentes en el alimento a un soporte sólido para posteriormente detectar su presencia con un anticuerpo policlonal marcado con peroxidasa. Cada etapa del método se describe a continuación.

#### **PREPARACIÓN DE MUESTRAS Y EXTRACCIÓN DE GLIADINAS**

Se trabajó con muestras naturales, es decir, aquellas que no pasaron por ningún procesamiento térmico:

- Arroz triturado en forma natural (Mantulak 0000, Argentina) sin y con agregado de gliadina en concentraciones conocidas: 10 y 100 ppm.

- Harinas de trigo, avena, cebada y centeno (marcas comerciales, Argentina)

A tubos con 0,25 g de cada muestra (peso de muestra de la cual se obtiene un porcentaje de recuperación estable de gliadina según Reichelt y col., 2014), previamente lavadas con solución fisiológica para eliminar albúminas y globulinas, se les agregó etanol acuoso 60 %, y se incubó durante 2 hs en agitador (Vicking modelo Dubnoff) a temperatura ambiente. Posteriormente, las muestras fueron centrifugadas en eppendorf a 14000 rpm durante 15 minutos en microcentrífuga (marca Labnet, modelo 2012), el sobrenadante fue separado y su contenido proteico fue determinado mediante Kjendahl. Los extractos de las harinas fueron diluidos desde 40 hasta 2,5 ppm y se cuantificaron por ELISA directo.

#### **PREPARACIÓN DEL ESTÁNDAR DE GLIADINA**

Se trabajó con una solución etanólica 60 % de gliadina comercial (Sigma G3375, Gliadin for wheat) de concentración 200 ppm, a partir de la cual se realizaron las

diluciones en tubos eppendorf en buffer carbonato-bicarbonato (pH 9,6) hasta concentraciones de 5 ppm a 0,156 ppm.

### **ELISA DIRECTO**

Los extractos etanólicos de las muestras mencionadas y del estándar de gliadina, fueron sembrados en microplacas de poliestireno de 96 pocillos fondo plano y se incubaron en cámara húmeda fría. Se procedió previamente al lavado con solución buffer de Fosfato con Tween 20 (PBS-T pH 7,4) repetidas veces. Se sembró el agente bloqueante, albúmina sérica (WeinerLab) al 1 % (Acuña y col. 2013) y se incubó nuevamente en cámara húmeda fría durante 24h. Luego de repetidos lavados con PBS-T pH 7,4, se sembró el anticuerpo Rabbit anti-gliadin (wheat) conjugado con peroxidasa (A1052-1ML Sigma-Aldrich), diluido en buffer fosfato (PBS, pH 7,4), y se incubó a 37 °C durante 2 hs en baño termostático (Vicking modelo Dubnoff). Luego de repetidos lavados con PBS-T pH 7,4, se procedió al revelado con Sigma Fast OPD P-9187 en cámara oscura 30 minutos y se midió la absorbancia a 450 nm con un lector de microElisa (RaytoRt 2100C).

### **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

La curva estándar para cuantificación de gliadina se obtuvo al graficar porcentaje de máxima respuesta de absorbancia (%) versus concentración de gliadina (ppm) (Moron y col. 2008), a partir de 10 repeticiones; se utilizó el software EXCEL. Con el mismo, se calcularon los parámetros: Sensibilidad, límites de detección (LOD) y de cuantificación (LOQ) y precisión (repetitividad y reproducibilidad). De 10 mediciones independientes se calculó LOD como la media de los blancos + 3 SDs de los blancos de reactivos y LOQ como la media de los blancos + 10 SDs. La repetitividad (variabilidad interplaca) fue evaluada por mediciones de curvas estándar de gliadina en 3 placas diferentes bajo las mismas condiciones de análisis. La reproducibilidad (variabilidad intraplaca) se calculó midiendo las curvas estándar de la misma muestra de gliadina en 10 repeticiones en una misma placa de ELISA. El coeficiente de variación (CV) fue calculado usando la ecuación:

$$CV = SD/mediana \times 100 \quad (\%)$$

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos de la optimización del ELISA directo, se observan en la Figura 1 a través de la curva estándar. A partir de un análisis de regresión se aproximó a un modelo logarítmico, cuya ecuación se observa en la misma figura, con un  $R^2 = 0,982$ ; cada punto de la curva representa la media  $\pm$ SD de 10 repeticiones.

Se observó que el método de análisis presenta una elevada sensibilidad; los límites de detección y de cuantificación obtenidos fueron 0,12 ppm y 0,27 ppm de gliadina, respectivamente.

Los resultados anteriores determinan los límites inferiores del método, es decir, para cualquier valor menor al LOD se informará como no detectado, ya que la concentración del analito es menor al límite de detección del método, mientras que para valores superiores al LOQ, se informará detectado (menor o mayor a 10 ppm de gluten, según corresponda).

En cuanto a la precisión del método, se evaluó la repetitividad y reproducibilidad del mismo, calculando el CV para cada punto de la curva estándar de gliadina. El CV interensayo varía desde 1 hasta 8 % mientras que el CV intraensayo desde 2 hasta 7 %. En la Tabla 1 se observan los intervalos de confianza calculados para un nivel de confianza de 95 %, expresados como máxima respuesta del equipo en función de la mayor concentración de la curva (5 ppm) y sus respectivos CV.

Se demostró la aplicabilidad del método y su elevada sensibilidad (superior al 90 %) utilizando muestras de harinas que contienen gluten (Trigo, Cebada, Centeno y Avena), y muestras que no lo contienen (Arroz), como se aprecia en la Figura 2. Se observa que la sensibilidad del método utilizado es semejante para los cuatro tipos de harinas que contienen gluten pudiendo discernir correctamente de una muestra que no lo contiene como lo es el caso del arroz; una situación similar fue descrita por Valdés y col (2003) utilizando como técnica de cuantificación, un ELISA del tipo sandwich. Para determinar la exactitud del método se trabajó con muestras de arroz (que no contienen gluten) contaminadas con gliadina, de manera tal de obtener concentraciones finales de 10 y 100 ppm. Se obtuvieron los siguientes resultados: en ambos casos, la extracción resultó muy eficiente, recuperándose en promedio 66 % y 62 % para el arroz con concentraciones del 10 y 100 ppm respectivamente. En las figuras 3 y 4 se observan los valores de cada una de las repeticiones de las muestras; estos resultados resultan ser superiores a los obtenidos por

Gessendorfer, Wieser y Koehler (2010) (47,2 % de recuperación) trabajando con un enzoinmunoensayo tipo sándwich y anticuerpo R5. Otros autores (Nicolas y col. 2000) obtuvieron resultados aún menores trabajando con un ELISA del tipo competitivo con anticuerpo policlonal.

Al comparar el ELISA directo puesto a punto, con kits comerciales, se observó que “Gluten kit ELISA” de Astori Técnica (Italia), presenta un límite de detección aproximado de 1 ppm de gliadina, utilizando anticuerpo policlonal y un método competitivo indirecto. “Transia Plate Prolamis” (España) utiliza el anticuerpo R5 con un método clasificado como tipo I según el Códex Alimentarius (según protocolo) con un límite de detección de 1,5 ppm; “Ingezim gluten” (España) es un enzoinmunoensayo del tipo sándwich, utiliza anticuerpo monoclonal y tiene un límite de detección de gliadina 1,5 ppm. Morinaga “Wheat Protein ELISA kit” (Japón) utiliza en método sándwich con anticuerpo policlonal y un límite de detección de 0,3 ppm. RIDASCREEN, de R-Biopharm (Alemania) utiliza en enzoinmunoensayo sándwich con un límite de detección de 1,5 ppm de gliadina.

## **5. CONCLUSIONES**

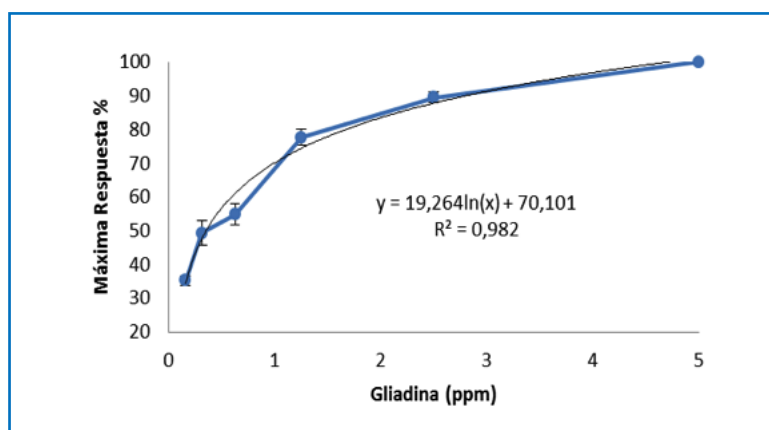
El método desarrollado brinda una alternativa para la detección y cuantificación de prolaminas tóxicas para los celíacos en alimentos en estado natural, es decir que, la disponibilidad de las proteínas en su matriz no ha sido alterada, con óptimos valores de repetitividad y reproducibilidad, límite de detección bajo y elevada sensibilidad. Por lo tanto, se podría utilizar como método de screening para el control interno en la detección de prolaminas, en la etapa de recepción de materia prima en la industria alimentaria, para proporcionar máxima garantía de calidad y seguridad en el producto final.

## **6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- ACUÑA M.C.; González K.G.; Musiol M; Argüello B.; Milde L.B. Optimización del bloqueo en un ELISA directo para detección de gliadinas en alimentos para celíacos. Jornadas Científico-Tecnológicas 40 Aniversario. Posadas, Misiones. 2013, 15-17. ISBN 978-950-579.
- CÓDIGO ALIMENTARIO ARGENTINO (CAA). Capítulo XII: Alimentos de régimen o dietéticos. Artículos 1383 y 1383 bis.

- COMISIÓN DEL CODEX ALIMENTARIUS. Norma del codex relativa a los alimentos para regímenes especiales destinados a personas intolerantes al gluten. Codex Stan 118 - 1979. Última revisión: 2008, pp 1-3.
- GESSENDORFER, B.; Wieser, H.; Koehler, P. Optimisation of a solvent for the complete extraction of prolamins from heated foods. *Journal of Cereal Science*, 52(2): 331-332. 2010.
- LÓPEZ VILLAR, E.; Llorente Gómez, M.; Méndez Corman, E. Procedimiento para la extracción de gluten contenido en alimentos, procesados y no procesados por calor, compatible con un ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas, composición y kits que comprenden dicha composición. Patente N° ES 2 353 862 T3. España. 2011.
- MARSH; MN. Gluten, major histocompatibility complex, and the small intestine. A molecular and immunobiologic approach to the spectrum of gluten sensitive ('celiac sprue'). *Gastroenterology*; 102 (1): 330 – 354. 1992.
- MILDE, L.; Zapata, P.; Valdez, R.; Vedoya, C; Medina, G.; Franco H. "Diseño de un enzimo-inmunoensayo para control de alimentos destinados a celíacos". *Revista La Alimentación Latinoamericana* 32 (228): 80 - 86. ISSN 0325-3384. 1999.
- MORÓN, B.; Cebolla, A.; Manyani, H.; Álvarez-Maqueda, M.; Megías, M. Thomas, MC.; López MC.; Sousa, C. Sensitive detection of cereal fractions that are toxic to celiac disease patients by using monoclonal antibodies to a main immunogenic wheat peptide. *American Journal of Clinical Nutrition*; 87 (2): 405 – 414. 2008.
- NICOLAS Y, Denery-Papini S, Martinant JP; Popineau Y. Suitability of a competitive ELISA using anti-peptide antibodies for determination of the gliadin content of wheat flour: Comparison with biochemical methods. *Food and Agricultural Immunology* 12 (1): 53 - 65. 2000.
- REICHELTL N.; Salcedo L.; Acuña M.C.; Argüello B.; Milde L.B. Estudio de la fracción de muestra de alimentos no procesados para cuantificación de gliadina por un ELISA directo. 7<sup>mo</sup> Expo Congreso bioquímico Rosario 2014. Rosario, Santa Fe. 2014, pp. 29.
- VALDÉS I., García E., Llorente M.; Méndez E. Innovative approach to low-level gluten determination in foods using a novel sandwich enzyme-linked immunosorbent assay protocol. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology* 15 (5): 465 - 474. 2003.

## 7. TABLAS Y FIGURAS



**FIGURA 1.** Curva estándar para la cuantificación de gliadina para ELISA directo. Cada punto de la curva representa la media  $\pm$  SD de 10 repeticiones

**TABLA 1.** Coeficientes de variación (CV) Inter e Intraensayo para cada punto de la curva de estándar de gliadina

|                | INTRAENSAYO       |      | INTERENSAYO       |      |
|----------------|-------------------|------|-------------------|------|
|                | MÁXIMA RESPUESTA  | CV   | MÁXIMA RESPUESTA  | CV   |
| Gliadina (ppm) | %                 | %    | %                 | %    |
| 5              | 100,00 $\pm$ 5,09 | 5,09 | 100,00 $\pm$ 0,07 | 6,31 |
| 2,5            | 96,50 $\pm$ 4,04  | 4,19 | 89,48 $\pm$ 1,63  | 1,82 |
| 1,25           | 87,67 $\pm$ 5,16  | 5,89 | 77,62 $\pm$ 2,45  | 3,15 |
| 0,625          | 74,62 $\pm$ 3,51  | 4,70 | 54,76 $\pm$ 3,09  | 5,65 |
| 0,312          | 62,47 $\pm$ 1,75  | 2,81 | 49,20 $\pm$ 3,58  | 7,28 |
| 0,156          | 49,32 $\pm$ 3,21  | 6,51 | 35,22 $\pm$ 1,47  | 4,17 |

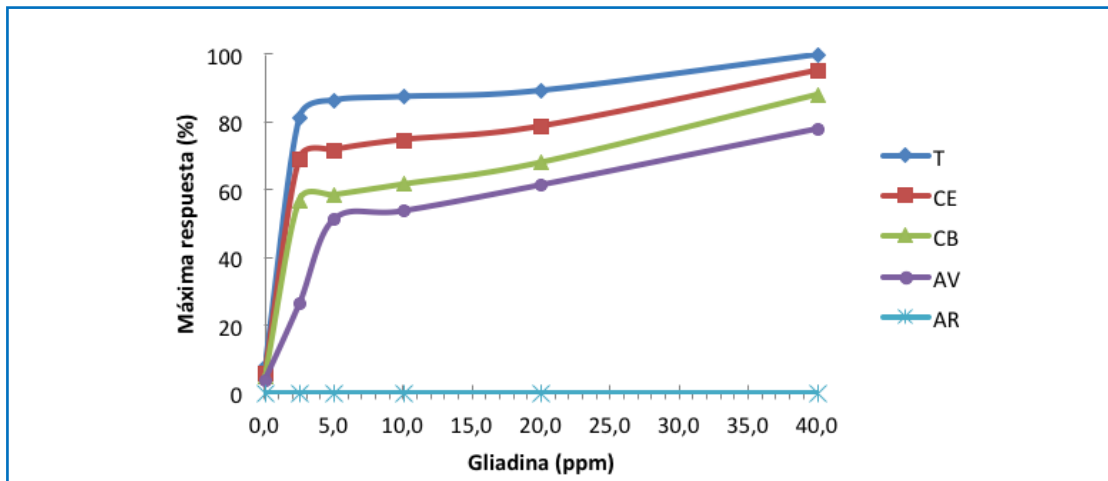


FIGURA 2. Extracciones de las diluciones de Trigo, Avena, Cebada, Centeno y Arroz

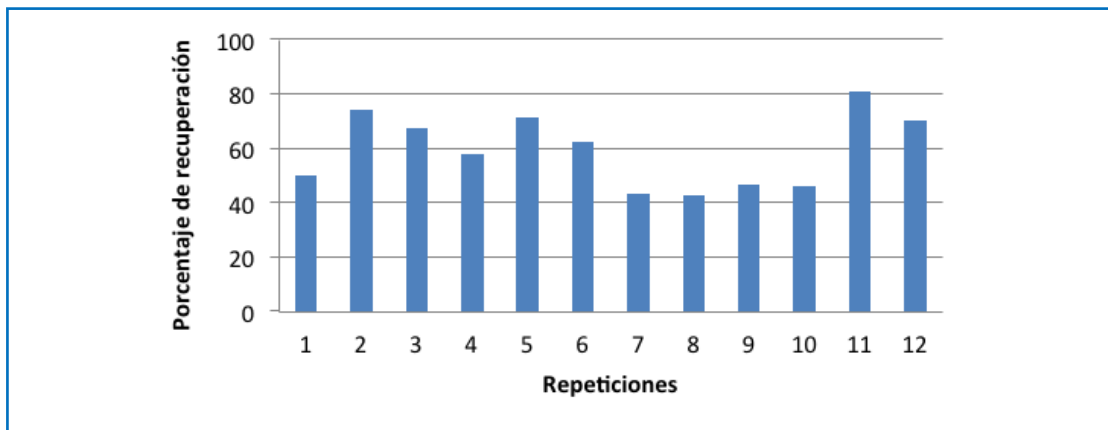


FIGURA 3. Porcentajes de recuperación de las muestras de arroz contaminado con gliadina en concentración de 10 ppm

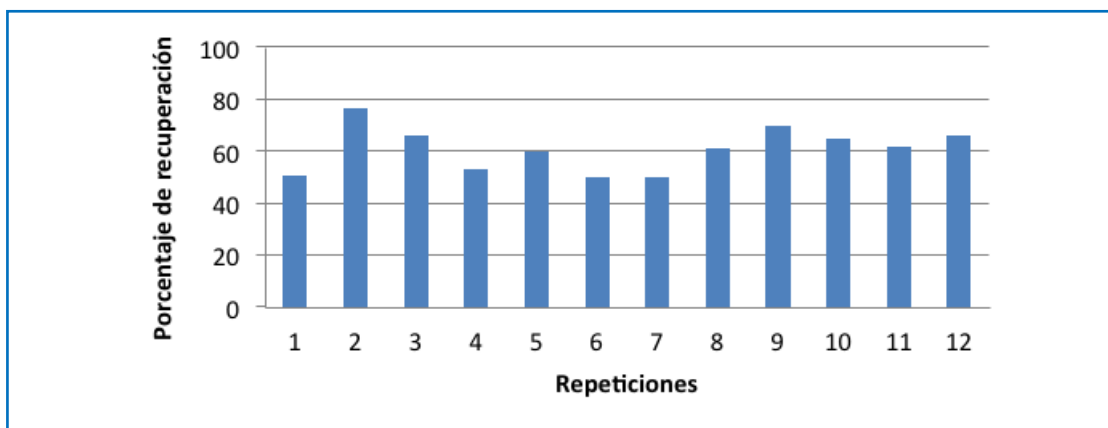


FIGURA 4. Porcentajes de recuperación de las muestras de arroz contaminado con gliadina en concentración de 100 ppm

# TRATAMIENTO DE IMÁGENES EN DIMENSIÓN FRACTAL DEL EFECTO DE PROPÓLEOS EN HALOS DE INHIBICIÓN DE *ASPERGILLUS NIGER* Y EVALUACIÓN EN NÉCTAR DE MEMBRILLO

Víctor Vásquez-Villalobos<sup>1</sup>, Carla Samaniego<sup>1</sup>, Daphne García<sup>1</sup>, Blanca Aguilar<sup>1</sup>, Félix Zurita<sup>2</sup>

## 1. RESUMEN

Se evaluó a través de Tratamiento Digital de Imágenes (TDI) en Dimensión Fractal (DF), el efecto de tres concentraciones de Extracto Etanólico de Propóleos EEP (1 %, 8 % y 15 %) en la formación de halos de inhibición de *Aspergillus niger*; lo que determinó su aplicación y valoración antifúngica en néctar de membrillo en comparación con sorbato de potasio (SP) al 0.05 %, tomado en cuenta por sus antecedentes genotóxicos *in vitro* de linfocitos humanos. Se utilizaron propóleos del Valle de Jequetepeque y membrillo (*Cydonia oblonga*) del Distrito de Sinsicap, ambos localizados en la Región la Libertad-Perú. Para el TDI se utilizó un ambiente para captura de imágenes de color negro, con lámparas con temperatura de color de 6500°K y una cámara fotográfica Sony Cybershot de 14 megapixels, sin flash y sin zoom. Las fotografías capturadas de las placas Petri con *A. niger* y los halos de inhibición, se procesaron y analizaron utilizando en el software *ImageJ*, eliminando los colores y estableciendo el patrón de medida para delimitar los bordes de la imagen y determinar el área correspondiente de cada halo usando DF. Los tratamientos del néctar de membrillo con EEP y SP fueron evaluados en cuanto a su grado de aceptabilidad a través de un análisis sensorial con 30 panelistas mediante una Prueba Afectiva de Aceptación General con escala hedónica. Se determinó por TDI en DF un aumento del efecto inhibitorio de *A. niger* en halos de inhibición en placa ( $p=0.000<0.05$ )

---

CONTACTO: Víctor Vásquez-Villalobos [vvasquez@unitru.edu.pe](mailto:vvasquez@unitru.edu.pe)

1. Escuela de Ingeniería en Industrias Alimentarias, Universidad Privada Antenor Orrego, Trujillo, Perú.

2. Escuela de Ingeniería Agroindustrial, Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo, Perú.



de  $20.6 \pm 0.7 \text{ mm}^2$  a  $220.5 \pm 63.8 \text{ mm}^2$ , al incrementarse la concentración de EEP del 1 % al 15 % respectivamente. Por otro lado se observó un efecto antifúngico marcado al 8 % de EEP en *A. Niger* en néctar de membrillo ( $p=0.011 < 0.05$ ), en comparación con SP, EEP al 1 % y 15 %, produciendo un menor tiempo de reducción decimal por ciclo logarítmico de 13.83 días en comparación con los demás tratamientos incluido el SP. El mejor grado de aceptación sensorial en néctar de membrillo, se dio con la aplicación de EEP al 8 % en comparación con el néctar con EEP al 1 %, 15 % y SP. Las características fisicoquímicas del néctar con EEP al 8 % mostraron valores dentro de la Norma Técnica Peruana (NTP) en cuanto al valor de °Brix y pH, más no para la acidez cuyo valor mínimo exigido por la NTP es de 0.4 % expresada en ácido cítrico. Pero la relación entre °Brix y acidez fue de 67.3 y 65.0 % para néctares con EEP al 8 % y 15 %, valor que cumple con la NTP, que exige como máximo 70 %.

## 2. INTRODUCCIÓN

El Tratamiento Digital de Imágenes (TDI) es un procedimiento en el que una imagen capturada digitalmente puede ser optimizada, mejorada, permitiendo cuantificarlos parámetros de interés (Gonzales y Woods, 2008). Debido a que muchos cuerpos no son simétricos es factible caracterizarlos mediante descriptores morfométricos, como dimensión, forma, regularidad y textura. Mandelbrot en 1977 en su libro “*The Fractal Geometry of Nature*” acuñó el término “*fractal*” (del latín *fractus*, que significa fragmentado) orientado a objetos con dimensión fraccionaria. Denominando Geometría Fractal al estudio de objetos fractales, la cual describe como con algoritmos matemáticos y computacionales se reemplazan puntos, rectas, circunferencias y se definen estructuras irregulares y complejas (Chanona *et al.*, 2001). Los fractales no tienen longitud, área y volumen definidos, ya que sus medidas toman valores diferentes de acuerdo a la escala de observación; no se pueden estimar con el cálculo diferencial o integral, no tienen una dimensión como los objetos euclidianos y se evalúan a través de una Dimensión Fractal (DF) relacionada con la morfología y el grado de irregularidad (Jiménez, 2005). Una aplicación se da en la formación de halos de inhibición por antibiosis durante el desarrollo de ciertos microorganismos (Arango *et al.*, 2010) que producen variaciones en su forma, sin embargo, es difícil cuantificarlos mediante elementos de geometría clásica, pudiendo describirse usando DF (Boddy *et al.*, 1999).

Las levaduras y hongos desempeñan un rol importante en los procesos de alteración de los alimentos a bajo pH, con o sin adición de preservantes. Bebidas envasadas a bajas temperaturas por un elevado valor de la actividad de agua, posibilitan el crecimiento microbiano. El pH y la adición de preservantes previenen el crecimiento de microorganismos en las bebidas, pero algunas especies como *Aspergillus niger*, *Penicillium spinulosum* son resistentes a preservantes químicos, y pueden tolerar medios ácidos e inclusive valores bajos de la actividad de agua. Varias especies de *Aspergillus* son capaces de producir una amplia gama de micotoxinas dañinas para los seres humanos. Sharma y Sumbali (1999) demostraron la producción elevada de aflatoxinas por *Aspergillus flavus* en rebanadas de fruta seca de membrillos. Los frutos de membrillo (*Cydonia oblonga*) son considerados una fuente importante de compuestos con propiedades promotoras de salud. Son considerados fuente de sustancias antioxidantes naturales como los polifenoles (Carvalho *et al.*, 2010; Magalhães *et al.*, 2009), los cuales incluyen a los flavonoides (flavan-3-ols y flavonoles) y ácidos hidroxicinámicos. De estos compuestos son de interés las proantocianidinas por su fuerte actividad antioxidante (Wojdylo *et al.*, 2013). Hojas y frutos de *C. oblonga* constituyen una prometedora fuente natural de compuestos bioactivos, como ácidos cafeoilquínicos, quercetina y kaempferol heterósidos. Las propiedades antioxidantes y antiproliferativas de estos productos son indicativos de aplicación en el campo nutricional/farmacéutico, en la prevención y tratamiento de patologías crónicas humanas mediadas por radicales libres, tales como enfermedades cardiovasculares y cancerígenas (Oliveira *et al.*, 2012). En la región La Libertad al Norte de Perú, las plantaciones de membrillo son considerados cultivos permanentes con 472.6 has (1.1 % de este tipo de cultivos) al mismo nivel que el café, plátano y naranjo (INEI, 2013) y en el Distrito de Sinsicap se promueve por su importancia económica como membrillo ecológico. La preservación de productos vegetales considera la adición de sustancias químicas, con el fin de inhibir, detener o retrasar el crecimiento de microorganismos. Se ha reportado que concentraciones de 0.15 g/L el sorbato de potasio (SP) al igual que benzoato de sodio, tienen efecto inhibitorio sobre de gérmenes totales, coliformes, hongos y levaduras (Glevitzky *et al.*, 2009). Según reporta Türcoğlu, (2008) los aditivos alimentarios continúan hasta ahora causando preocupación, por su potencial genotóxico y mutagénicos. Mamur *et al.* (2010) determinaron en experimentos in vitro con linfocitos sanguíneos humanos, aberraciones cromosómicas en concentraciones de 500 a 1000 µg/mL de SP e intercambio de cromátidas hermanas (*sister-chromatid exchanges*) a

concentraciones de 250 a 1000 µg/mL en 24 horas y entre 125 a 1000 µg/mL en 48 h. Las tendencias actuales buscan productos alimenticios, sin aditivos, pero seguros desde el punto de vista microbiológico. Los preservantes naturales o biopreservantes constituyen una alternativa y uno de estas son los propóleos, un producto elaborado por las abejas, reconocidos por su actividad antifúngica y antibacteriana y considerado GRAS (*Generally Recognized as Safe*) (Gutiérrez, 2012). Koc *et al.* (2007) han reportado que los Extractos Etanólicos de Propóleos (EEP) exhiben propiedades antifúngicas tan igual que el benzoato de sodio en jugos de manzana, naranja, uva blanca y mandarina sin pasteurizar. Krell (1996) y Farre *et al.* (2004) encontraron que los propóleos inhiben el crecimiento de patógenos como *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Ascosphaera apis* y *Plasmopara viticola*. Gutiérrez (2012) evaluó el efecto como biopreservante en chorizo, comparando su acción con nitrito de sodio y eritorbato de sodio, utilizando como control etanol al 96%, concluyendo que los propóleos presentan actividad similar a los nitritos, controlando el desarrollo de bacterias mesófilas, psicrófilas, coliformes totales y fecales; no habiendo encontrado diferencias en su percepción sensorial. La presente investigación tuvo como objetivos evaluar a través de la DF el efecto de tres concentraciones de EEP (1%, 8% y 15%) en la formación de halos de inhibición de *Aspergillus niger* y comprobar su efectividad en néctar de membrillo.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### MATERIALES Y EQUIPOS

Propóleos procedente del Valle de Jequetepeque y membrillo (*Cydonia oblonga*) del Distrito de Sinsicap, ambas de la Región La Libertad-Perú; cepas de *Aspergillus niger*. Agar OGY, sorbato de potasio (SP). Ambiente para captura de imágenes de color negro (ACI), con 4 lámparas con una temperatura de color de 6500°K, con cámara fotográfica Sony Cybershot de 14 megapíxeles, sin flash y sin zoom, ubicada a 32 cm de altura de la muestra. Computadora PC genérica, Corei7. Software: Excel 2007, ImageJ, SPSS 20.0.

#### MÉTODOS

Los propóleos se caracterizaron de acuerdo a una escala de atributos sensoriales (Bracho, 2003). Al membrillo se determinó sólidos solubles, pH, acidez titulable

expresada en % de ácido málico. Los frutos de membrillo se lavaron con hipoclorito de sodio (100ppm) por 5min, pequeños trozos se sumergieron en solución con ácido cítrico (1 g/L) y se hirvieron 7min hasta una textura semiblanda. Se pulpeo y luego se refinó con tamiz de 0.5 mm, se estandarizó a dilución 1:4.6, °Brix 14.0, pH 3.5, se aplicó carboximetilcelulosa CMC 0.07 % del peso del néctar. Se preparó néctar testigo con 0.5 g/L de SP y a tres grupos de néctar a los que se le adicionó 0.5 g/l de EEP al 1 %, 8 % y 15 %. Las muestras de néctar fueron homogenizadas en molino coloidal, pasteurizadas a 85 °C por 10 minutos. La composición del néctar de membrillo fue: pulpa 15.9 %, azúcar 11.0 %, agua 73.10 %, CMC mezclado con azúcar blanca refinada (0.07 %) y preservante 0.05 % (SP ó EEP).

#### **TRATAMIENTO DE IMÁGENES EN DIMENSIÓN FRACTAL**

100 µL caldo sacarosado con *A. niger* fueron vertidas a las placas con agar OGY, a los que colocó los discos con EEP (1 %, 8 %, 15 %); se incubó a 30 °C por 24 horas. Se tomaron fotografías a las placas con los halos en el ACI a las 20 horas. Las imágenes se procesaron y analizaron utilizando el software *ImageJ*, eliminando los colores y estableciendo como patrón de medida un vernier en escala de milímetros, durante el proceso se delimitó los bordes de los halos y se determinó su área correspondiente. Se realizó un ANVA y una prueba de Tukey para diferencias el área formada por los halos de inhibición con respecto a la presencia del EEP.

#### **EVALUACIÓN ANTIFÚNGICA DEL EEP EN NÉCTAR DE MEMBRILLO Y GRADO DE ACEPTACIÓN**

Al néctar de membrillo con EEP y al testigo con SP, se le inoculó *A. niger* en proporción de 1:9 (v/v) ( $10^6$  células/mL), se incubó a 25 °C, realizándose recuento en placa a los 0, 7 y 15 días. A los 42 días al néctar de membrillo con EEP al 8 % se realizó análisis microbiológico (DIGESA, 2003). Los tratamientos del néctar de membrillo con EEP y SP fueron evaluados en cuanto a su grado de aceptación a través de un análisis sensorial con 30 panelistas mediante una Prueba Afectiva de Aceptación General con escala hedónica de 7 puntos desde: “Me disgusta mucho” (1) hasta “Me gusta mucho” (7). Para su evaluación se aplicó una prueba de normalidad de Shapiro-Wilk con un nivel de significancia de 0.05. Para determinar la diferencia entre los tratamientos se aplicó una prueba de Kruskal-Wallis y Mann-Whitney para la comparación de los pares de tratamientos. Se determinó el pH, °Brix y

acidez al néctar que presento mayor grado de aceptación y mejor efecto inhibitorio por aplicación del EEP.

#### **4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Los propóleos mostraron características de estructura heterogénea, aspecto de pequeños trozos irregulares con brillo, consistencia maleable o poco blanda, color pardo oscuro, olor resinoso aromático y sabor amargo, características concordantes con la norma Rusa y Argentina (López y Ubillus, 2004). Estas características están determinadas por la vegetación predominante en la zona del Valle de Jequetepique: algarrobo (*Ceratonia siliqua* L.), sauce (*Salix* sp.) y molle (*Schinus* sp.). El membrillo de procedencia de Sinsicapde piel amarilla con tonos verdes y pulpa blanca amarillenta, se caracterizó por un °Brix de  $12.6 \pm 0.1$ , pH de  $2.63 \pm 0.01$  y acidez (% en ácido málico) de  $1.74 \pm 0.13$ .

##### **ANÁLISIS DE IMÁGENES EN DIMENSIÓN FRACTAL**

La formación de halos de inhibición en el cultivo con *A. niger* por efecto de EEP al 1 %, 8 % y 15 % determinados por procesamiento de imágenes en dimensión fractal se observan en la Figura 1 (a, b, c). Las áreas de los halos de inhibición en los cultivos fueron de  $20.6 \pm 0.7 \text{mm}^2$ ,  $123.2 \pm 76.7 \text{mm}^2$  y  $220.5 \pm 63.8 \text{mm}^2$  respectivamente ( $p=0.000 < 0.05$ ). Kröner y Doménech (2013) mencionan que para obtener resultados significativos de precisión con el software *ImageJ*, se debe usar mínimo 200 píxeles. En la presente investigación se utilizó 20 megapíxeles.

##### **EVALUACIÓN ANTIFÚNGICA DEL EEP EN NÉCTAR DE MEMBRILLO Y GRADO DE ACEPTACIÓN**

Los resultados promedios del efecto antifúngico del SP y EEP sobre el *A. niger* en néctar de membrillo se observan en la Figura 2a, notándose una acción marcada de la disminución de *A. niger* con el EEP al 8 %. Al respecto, Chaillou y Nazareno (2009) evaluaron la actividad antimicótica de propóleos, encontrando que la actividad contra *Fusarium* sp., *Macropomina* sp., *Phomosis* sp., *Aspergillus niger* y *Thichoderma* sp.; estuvo relacionada con la presencia de los flavonoides galangina y pinocembrina. Por otro lado, Martínez (2009) reportó inhibición de 25 y 19 % de *Aspergillus* sp. y *Penicillium* sp., respectivamente. El tiempo de reducción decimal (D)

del *A. niger* en néctar de membrillo con EEP al 8 % fue 13.83 días ( $p=0.011<0.05$ ) siendo el menor valor en comparación con los tratamientos EEP al 1 % y 15 %; incluyendo al SP, cuyos valores fueron de 19.954, 21.698, 29.695 días respectivamente, lo que significa que se requiere de menor tiempo para inactivar una población de *A. niger* en un ciclo logarítmico. Ozcan (2008) determinó la actividad mínima inhibitoria de 2.5 % (25 mg/mL) del extracto de propóleos en *A. niger*, *A. oryzae* y *Rhizopus*. López y Ubillus (2004) determinaron la concentración mínima inhibitoria de 0.625 mg/mL en *A. niger* con propóleos del Valle de Oxapampa. Farré *et al.* (2004) sostienen que los propóleos muestran, en distinto grado efectos fungicidas frente a numerosas especies de *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea*; habiendo observado inhibición hasta de 50 %, con una concentración de propóleos de 4 %. Análisis microbiológico de néctar de membrillo con EEP al 8 %, a los 42 días de almacenamiento mostraron valores que cumplen con la Norma Sanitaria (DIGESA, 2003): aerobios mesófilos viables < 10 UFC/mL, coliformes totales < 3 NMP/mL, levaduras < 1 UFC/mL, mohos < 1 UFC/mL corroborando el efecto del EEP al 8 %. Con respecto al grado de aceptación del néctar de membrillo, se observa en la Figura 2b la existencia de variación entre el tratamiento con SP y el EEP al 1 % frente al EEP al 8 % y al 15 %. El rango de aceptación que presenta el néctar con SP refleja una asimetría amplia, en cambio, los néctares con propóleos muestran un rango menos disperso en cuanto a la aceptación, a pesar de la existencia de valores atípicos en el néctar con extracto EEP al 1 % (33, 41 y 42 conferidos a tres panelistas) lo que no refleja la aceptación mayoritaria para dicha muestra. La mediana más alta (valor 6) la obtuvo el néctar con EEP al 8 %. Paralelamente la prueba de Kruskal-Wallis mostró diferencias significativas entre los tratamientos y mediante Mann-Whitney se determinó que el EEP al 8 % tuvo mejor aceptación que las otras muestras. Las características fisicoquímicas del néctar con EEP al 8 % mostraron valores que cumplen con la Norma Técnica Peruana (NTP, 2009) en cuanto al valor de °Brix y pH, pero no así para el porcentaje de acidez cuyo valor mínimo exigido es de 0.4 % expresada en ácido cítrico. Para los néctares con EEP al 8 % y 15 %, la relación °Brix y acidez fue de 67.3 y 65.0 % cumpliendo con lo especificado por la NTP que exige como máximo 70 %.

## 5. CONCLUSIONES

- Existe aumento del efecto inhibitorio de *Aspergillus niger* en halos de inhibición en placa ( $p=0.000<0.05$ ) determinados por TDI en DF de  $20.6\pm 0.7$  mm<sup>2</sup> a  $220.5\pm 63.8$  mm<sup>2</sup>, al incrementarse la concentración de EEP del 1 % al 15 % respectivamente.

- Existe efecto antifúngico marcado al 8 % de EEP en *A. niger* en néctar de membrillo ( $p=0.011<0.05$ ), en comparación con SP, EEP al 1 % y 15 %, produciendo un menor tiempo de reducción decimal por ciclo logarítmico de 13.83 días en comparación con los demás tratamientos incluido el SP al 0.05 %.

- El mejor grado de aceptación sensorial en néctar de membrillo determinado a través de las pruebas de Kruskal-Wallis y Mann-Whitney que indicaron diferencias significativas, se dio con la aplicación de EEP al 8 % en comparación con el néctar con EEP al 1 %, 15 % y SP al 0.05 %.

- Las características fisicoquímicas del néctar con EEP al 8 % mostraron valores que cumplen con la NTP en cuanto al valor de °Brix y pH, pero no así para el porcentaje de acidez cuyo valor mínimo exigido es de 0.4 % expresada en ácido cítrico. Para los néctares con EEP al 8 % y 15 %, la relación °Brix y acidez fue de 67.3 y 65.0 % cumpliendo con lo especificado por la NTP que exige como máximo 70 %.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARANGO, J.; Muñoz, L.; Pérez, J. 2010. Más allá de los halos de inhibición: cuantificación de variaciones morfológicas por análisis de imágenes en pruebas de antibiosis. *Agron.* 18(2): 17-16.
- BODDY, L.; Wells, J. M. 1999. Fractal analysis in studies of mycelium in soil. In: *Geoderma* 88(3-4): 301-328.
- BRACHO, J. 2003. Calidad de Propóleos de origen Argentino: I Propiedades Organolépticas. Artículo publicado de Técnica/Producto. *Revista electrónica Vida Apícola*. España.
- CARVALHO, M.; Silva, B. M.; Silva, R.; Valentao, P.; Andrade, P. B.; Bastos, M. L. 2010. First report on *Cydonia oblonga* Miller anticancer potential: Differential antiproliferative effect against human kidney and colon cancer cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 58: 3366-3370.
- CHAILLOU, L.; Nazareno, M. 2009. Bioactivity of Propolis from Santiago del Estero, Argentina, related to their Chemical composition. *LWT - Food Science and Technology*. 42: 1422-1427.

- CHANONA, J.; Alamilla, L.; Gutiérrez, G. 2001. Caos y geometría de fractales, herramientas auxiliares para evaluar la complejidad del entorno biológico. *Biotecnología*. 5: 117-126. México D.F.
- DIGESA - Dirección General de Salud Ambiental. 2003. Norma Sanitaria que establece los Criterios Microbiológicos de Calidad Sanitaria e Inocuidad para los Alimentos y Bebidas de Consumo Humano. Proyecto de Actualización de la RM N° 615-2003 SA/DM.
- FARRE, R.; Frasset, I.; Sánchez, A. 2004. El propolis y la salud. *Ars Pharmaceutica*. Vol. 45:1, 21-43.
- GLEVITZKY, M.; Dumitre, G.A.; Perju, D.; Popa, M. 2009. Studies Regarding the Use of Preservatives on Soft Drinks Stability. *Chem. Bull. "POLITEHNICA" Univ. (Timisoara)*. 54(68): 31-36.
- GONZALES, R.; Woods, R. 2008. *Digital image processing*. Pearson Prentice Hall. Tercera Edición. USA.
- GUTIÉRREZ, C. 2012. Evaluación del efecto de propóleos como biopreservante en chorizo. Tesis Magister en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias. Posgrado en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Bogotá, Colombia.
- INEI – Instituto Nacional de Estadística e Informática. 2013. IV Censo Nacional Agropecuario. Resultados Definitivos - La Libertad. Perú.
- JIMÉNEZ, A. 2005. Aplicación de la geometría Fractal a agregados celulares de *Beta vulgaris* L. crecidos en suspensión (Matraces y Biorreactor tipo tanque agitado). Tesis de Maestría en Ciencias en Desarrollo de Productos Bióticos. CEPROBI-IPN.
- KOC, A. N.; Silici, S; Mutlu-Sariguzel, F. 2007. Antifungal Activity of Propolis in Four Different Fruit Juices. *Food Technol. Biotechnol.* 45(1): 57-61.
- KRÖNER, S.; Doménech, M. T. 2013. Determination of minimum pixel resolution for shape analysis: Proposal of a new data validation method for computerized images. *Powder Technology*. 245: 297-313.
- LÓPEZ, J.; Ubillús, M. 2004. Estandarización del propóleos de la provincia de Oxapampa, departamento de Pasco (Perú) como materia prima para su utilización a nivel industrial. Tesis título profesional de Químico Farmacéutico. Escuela Académico Profesional de Farmacia y Bioquímica. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.
- MAGALHÃES, A. S.; Silva, B. M., Pereira, J. A., Andrade, P. B., Valentão, P.; Carvalho, M. 2009. Protective effect of quince (*Cydonia oblonga* Miller) fruit against oxidative hemolysis of human erythrocytes. *Food Chemistry and Toxicology*. 47: 1372-1377.



- MAMUR, S.; Yüzbaşıoğlu, D.; Ünal, Yılmaz, S. 2010. Does potassium sorbate induce genotoxic or mutagenic effects in lymphocytes? *Toxicology in Vitro*. 24: 790-794.
- MARTÍNEZ, J. 2009. Caracterización físico-química y evaluación de la actividad antifúngica de propóleos recolectados en el suroeste antioqueño. Tesis de Maestría en ciencia y tecnología de alimentos. Universidad Nacional de Colombia sede Medellín.
- NTP 203.110:2009: Norma Técnica Peruana. 2009: Jugos, néctares y bebidas de fruta. Requisitos. 1ª Edición.
- Oliveira, A.; Costa, R.; Magalhães, A.; Pereira, J.; Carvalho, M.; Valentão, P.; Andrade, P.; Silva, B. 2012. Targeted metabolites and biological activities of *Cydoniaoblonga* Miller leaves. *Food Research International*. 46: 496–504.
- OZCAN, E. 2008. Antimicrobial effects of Turkish propolis, pollen, and laurel on spoilage and pathogenic food-related microorganisms. Department of Food Engineering, Faculty of Engineering, University of Gaziantep, Gaziantep. U.S. Extraído de PUB MED. National Library of Medicine. National Institutes of Health. Turkey.
- SHARMA, Y.P.; Sumbali, G. 1999. Incidence of aflatoxin producing strains and aflatoxin contamination in dry fruit slices of quinces (*Cydoniaoblonga* Mill.) from the Indian State of Jammu and Kashmir. *Mycopathologia*. 148(2): 103-107.
- TÜRKOĞLU, S. 2008. Evaluation of genotoxic effects of sodium propionate, calcium propionate and potassium propionate on the root meristem cells of *Allium cepa*. *Food and Chemical Toxicology* 46, 2035–2041.
- WOJDYŁO, A.; Oszmianski, J.; Bielicki, P. 2013. Polyphenolic composition, antioxidant activity, and polyphenol oxidase (PPO) activity of quince (*Cydoniaoblonga* Miller) varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 61: 2762-2772.

## 7. TABLAS Y FIGURAS

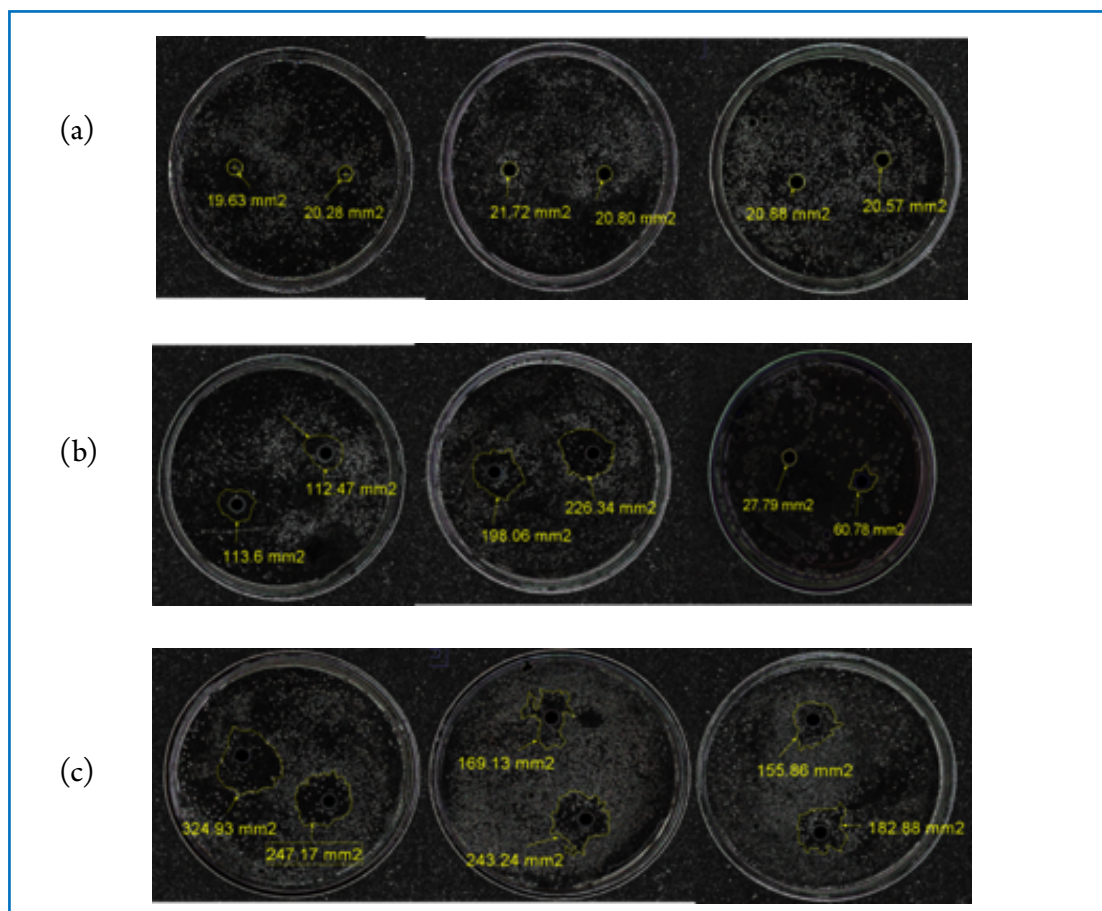


FIGURA 1. Halos de inhibición ( $\text{mm}^2$ ) de EEP (a) 1 %, (b) 8 % (c) 15 %, en cultivos de *A. niger* empleando procesamiento de imágenes con dimensión fractal

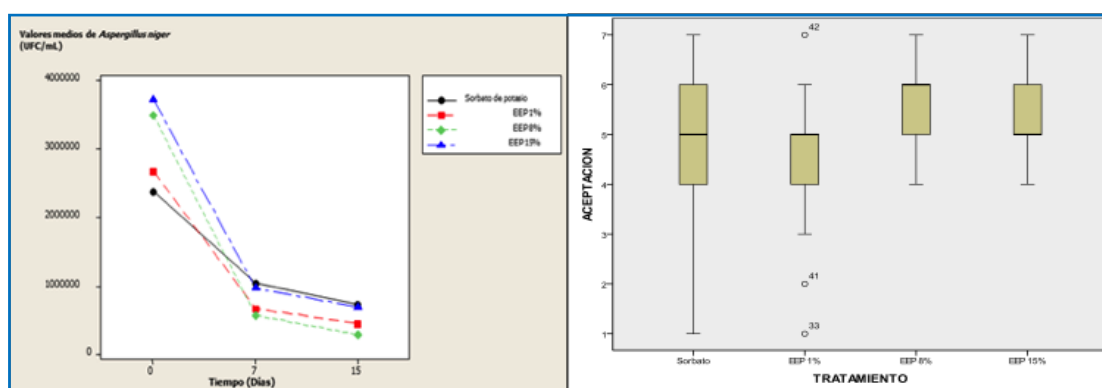


FIGURA 2. (a) Inhibición del *A. niger* en néctar de membrillo por acción de SP y EEP en concentraciones de 1 %, 8 % y 15 %. (b) Grado de aceptación en néctar de membrillo con SP y EEP al 1 %, 8 % y 15 %

# EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE *PLEUROTUS OSTREATUS* CONGELADOS, DURANTE EL SECADO CONVECTIVO

Liliana Valiente<sup>1</sup>, Elizabeth Ohaco<sup>1</sup>, Antonio De Michelis<sup>2</sup>

## 1. RESUMEN

En este trabajo se estudió la influencia de las condiciones de deshidratación sobre el poder antirradicalario, fenoles totales, flavonoides, y color superficial en *Pleurotus ostreatus* congelados. El secado se efectuó en un equipo experimental, con una velocidad de aire de 2 m/s, 5 % de humedad relativa, y a distintas temperaturas: 50, 60 y 70 °C. La determinación del contenido de fenoles totales se realizó según el método de Folin-Ciocalteu, flavonoides por el método de formación de complejo con AlCl<sub>3</sub> y poder antirradicalario con 1,1-difenil-2-picrilhidracilo (DPPH). Se midió color superficial con un colorímetro Minolta CR 400. Se pudo observar que hay un marcado descenso en el contenido de flavonoides en los primeros 15 minutos de secado, para todas las temperaturas ensayadas. Por otro lado, se observa un aumento del contenido de fenoles totales y posterior estabilización a medida que transcurre el secado. A mayor temperatura del aire de secado más se preserva el poder antirradicalario. Se recomienda una temperatura del aire de secado de 60 °C bajo las condiciones de este estudio. Se puede concluir que el *Pleurotus ostreatus* presenta una estabilidad adecuada durante el proceso de secado con aire caliente, ya que la mayor parte de los compuestos fitoquímicos, el poder antirradicalario y el color no son fuertemente afectados. Esto permite aumentar el uso del producto fuera de estación.

---

CONTACTO: Elizabeth Ohaco [ohacoelizabeth@hotmail.com](mailto:ohacoelizabeth@hotmail.com)

1. Universidad Nacional del Comahue - FATA- 25 de Mayo y Reconquista- (8336) Villa Regina, Río Negro, Argentina.

2. CONICET-INTA AER El Bolsón.

Autores: Ohaco y De Michelis son miembros del CONICET.

## 2. INTRODUCCIÓN

El cultivo de hongos comestibles es una industria biotecnológica en continuo proceso de expansión y que, poco a poco, ha ido cobrando mayor importancia en el ámbito económico de muchos países. En lo que se refiere al género *Pleurotus*, tiene la capacidad de crecer en un amplio intervalo de temperatura y puede utilizar como sustrato diversos materiales ricos en lignina y celulosa. Comúnmente conocidas como gírgolas, son apreciadas, no solo por su textura y flavor sino también por sus propiedades terapéuticas (Elmastas *et al.*, 2007). Estas características funcionales son principalmente debido a su composición química (Manzi *et al.*, 1999). Contienen agua, sales minerales, vitaminas y enzimas, incluyendo polifenoloxidasas, que son responsables del pardeamiento del producto (Martínez-Soto *et al.*, 2001). Los polifenoles son un conjunto heterogéneo de moléculas que poseen en su estructura varios grupos benzenicos sustituidos por funciones hidroxílicas; se encuentran en muchas plantas, algunas de uso común y por sus propiedades antioxidantes merecen mayor atención (Naczki y Shahidi, 2004). Los fenoles, especialmente los flavonoides y los antocianos, muestran una gran capacidad para captar radicales libres causantes del estrés oxidativo, atribuyéndoseles a su vez un efecto beneficioso en la prevención de enfermedades cardiovasculares, circulatorias, cancerígenas y neurológicas (Kahkonen *et al.*, 1999). Poseen actividades antiinflamatoria, antialérgica, antitrombótica, antimicrobiana y antineoplásica. Además de secuestrar radicales libres, quelar iones metálicos e inhibir oxidasas, los flavonoides son capaces de aumentar la disponibilidad de antioxidantes endógenos, así como la actividad de enzimas antioxidantes (Mattila y Hellstrom, 2007). Asimismo, el color de los alimentos es uno de los atributos más importantes para su comercialización, ya que provoca la aceptación o el rechazo del consumidor, es por esto que se emplea como parámetro de calidad del producto final (Ohaco Domínguez, 2013). Sin embargo, en vista de su elevado contenido de humedad y corta vida útil, la producción de hongos a escala comercial es una tarea difícil. La aplicación de las mejores técnicas post-cosecha para prolongar la vida útil y mantener la calidad de los hongos, juega un rol importante al momento de su comercialización (Elmastas *et al.*, 2007). Debido a su carácter estacional, los hongos frescos están disponibles por un corto período de tiempo, por lo que resulta importante procesar materia prima para estar presente en el mercado todo el año. Dentro de las posibilidades de procesar materia lo más importante, sin duda, es evaluar la estabilidad del hongo durante el

proceso de secado (Martínez-Soto *et al.*, 2001). Para prolongar lo máximo posible el período de secado de materia prima, que es limitado ya que está lógicamente asociado a la aparición del producto fresco, resulta de interés evaluar también el comportamiento del hongo congelado durante la deshidratación.

Los objetivos de este trabajo son evaluar la influencia de la temperatura del aire de secado sobre I) las propiedades antioxidantes de extractos etanólicos de *Pleurotus ostreatus* previamente congelados y II) el color superficial de los mismos.

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **MATERIA PRIMA**

Se utilizaron fructificaciones de *Pleurotus ostreatus* (gírgolas) cosechadas en el alto valle de Río Negro y Neuquén. Las muestras fueron congeladas a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta el momento de la deshidratación.

#### **PROCEDIMIENTO DE SECADO**

Los hongos se deshidrataron con flujo de aire caliente ascendente, perpendicular a la bandeja de secado, en un equipo experimental de secado de ciclo cerrado, con aire forzado, descrito en detalle por Ohaco Domínguez (2013), que permitía regular las variables operativas del aire de secado. Se realizaron distintas experiencias en función de la temperatura de secado ( $50$ ,  $60$  y  $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), con una velocidad ( $2\text{ m/s}$ ) y humedad relativa ( $5\%$ ) del aire constantes. Para poder evaluar la evolución de los compuestos bioactivos en función del tiempo de secado fue necesario dividir la bandeja de secado en seis compartimentos iguales. En cada compartimento se colocaron rectángulos de  $2 \times 4\text{ cm}$  de gírgolas frescas congeladas previamente pesados y distribuidos en monocapa, a medida que transcurría el proceso de secado, cada un cierto intervalo de tiempo, se retiraron las gírgolas de un compartimento distinto cada vez, se pesaron y se colocaron en recipientes de vidrio cerrados herméticamente para que no fueran afectados por la humedad del ambiente. Los recipientes se almacenaron debidamente identificados en un freezer a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta el momento de realizar la determinación.

#### **MEDIDA DE LAS PÉRDIDAS DE PESO Y DEL PESO SECO DE LAS MUESTRAS**

Las pérdidas de peso de las muestras parcialmente deshidratadas se obtenían por pesada discontinua con una balanza analítica digital OHAUS (Ontario, Canadá, con

una precisión:  $\pm 0,001\text{g}$ ). El peso seco de cada muestra se determinó secándola hasta peso constante en una estufa de aire forzado a  $102\text{ }^{\circ}\text{C}$ , con la balanza antes indicada.

#### **PREPARACIÓN DE EXTRACTOS DE COMPUESTOS BIOACTIVOS**

Se pesaron aproximadamente 2 g de muestra fresca o seca, en el caso de las secas se hidrató con 5 ml de agua destilada por 30 minutos, se añadieron 10 ml de etanol al 70 % y se colocó en un baño termostático agitado (Dubnoff) a  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 30 minutos. Se filtró mediante vacío y se realizaron 2 extracciones más, cada una con 10 ml del solvente. Finalmente se juntaron los volúmenes de las tres extracciones y se llevó a 50 ml con agua destilada. Cada muestra se preparó por duplicado y los extractos se mantuvieron congelados hasta el momento de las determinaciones.

#### **DETERMINACIÓN DE FENOLES TOTALES (FT)**

La concentración de fenoles totales se midió por el método descrito por Swain y Hillis (1959) con algunas modificaciones. Se adicionó a una alícuota de 50  $\mu\text{l}$  de extracto, 1500  $\mu\text{l}$  de agua destilada y 100  $\mu\text{l}$  del reactivo Folin-Ciocalteu 1N. Se agitó con un vortex y a los 3 minutos se adicionaron 300  $\mu\text{l}$  de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  20%. Se incubó 30 minutos a  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Las lecturas de absorbancia fueron realizadas con un espectrofotómetro Metrolab 1700 a 765 nm, contra un estándar externo de Ácido Gálico (mg/l). Los resultados finales se expresaron como miligramos de Ácido Gálico Equivalente por cada 100 gramos de hongo fresco o seco, en base seca (mg GAE/100 g).

#### **DETERMINACIÓN DE FLAVONOIDES (Fv)**

Se determinaron los flavonoides totales por el método de formación de complejo con  $\text{AlCl}_3$ , contra un estándar externo de catequina (mg/l). Una alícuota del extracto se mezcló con 300  $\mu\text{l}$   $\text{NaNO}_2$  5%. Luego de 5 min se añadieron 300  $\mu\text{l}$   $\text{AlCl}_3$  10% y al cabo de 6 min, se agregaron 2 ml  $\text{NaOH}$  1 N. Se llevó a 10 ml con agua destilada. Las lecturas de absorbancia fueron realizadas con un espectrofotómetro Metrolab 1700 a 510 nm. Los resultados finales se expresaron como miligramos de Catequina Equivalente por cada 100 gramos de hongo fresco o seco, en base seca (mg CE/100 g) (Zhishen *et al.*, 1999).

### **PODER ANTIRRADICAL (PA)**

El poder antirradical fue analizado empleando el radical estable 1,1-difenil-2-picrilhidracilo (DPPH) en metanol (Brand-Williams *et al.*, 1995). Se midió espectrofotométricamente el grado de decoloración de la solución. Un experimento típico consistió en adicionar a una celda de vidrio, conteniendo 3 ml de solución metanólica de DPPH de concentración 60  $\mu\text{M}$ , distintas alícuotas de extractos ajustadas de modo de consumir entre 30 a 70 % del radical. El monitoreo del decaimiento de la absorbancia se realizó durante una hora: los primeros 30 minutos en ciclos de 60 segundos y a partir de allí cada 5 minutos. El valor de la absorbancia de la solución al estado estacionario se estimó por ajuste exponencial de las curvas cinéticas. La cantidad de antioxidante presente en la matriz (mg de tejido en base seca) necesaria para disminuir la concentración inicial de DPPH al 50 % se denominó  $\text{EC}_{50}$  y para mayor simplicidad se definió el poder antirradical como  $1/\text{EC}_{50}$  ( $\text{mg}^{-1}$  de tejido fresco o seco, en base seca). Esto significa que a mayor poder antirradical, más efectivo es el tejido como antioxidante.

### **COLOR SUPERFICIAL**

El color superficial de las muestras se determinó con un fotocolorímetro Minolta CR400, con los parámetros Cielab:  $L^*$  (luminosidad),  $a^*$  (grado de componente rojo o verde) y  $b^*$  (grado de componente amarillo o azul). Se calcularon los parámetros Cromax:  $(a^{*2}+b^{*2})^{1/2}$  y hue:  $\text{arc tg}(b^*/a^*)$ .

### **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Los resultados fueron sometidos a un análisis de varianza ANOVA simple (Statística 7.0), con un  $\alpha=0,05$ ; para determinar si existían diferencias significativas entre los valores promedio del contenido de los distintos compuestos bioactivos en función de la temperatura del aire de secado (50, 60 y 70 °C).

## **4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En la Tabla 1 se observan las concentraciones de compuestos bioactivos: fenoles totales (FT), flavonoides (Fv) y poder antirradical (PA); analizados en las gírgolas frescas congeladas y luego de 2 horas de secado a distintas temperaturas (50, 60 y 70 °C). Se observa el aumento del contenido de fenoles totales relacionado con productos

que se desprenden o generan por acción del calor. Choi *et al.* (2006) sugieren que el calor puede generar cambios en la extractabilidad de fenoles debido a la ruptura de la estructura celular. Murakami *et al.* (2004), demostraron que los compuestos polifenólicos son más estables en alimentos procesados y cocidos que en la matriz original, como consecuencia de la mayor actividad antirradical de los productos de descomposición. El contenido de flavonoides disminuye significativamente (80%) luego de 2 h de secado. En la Figura 1 se puede apreciar gráficamente el marcado descenso del contenido de flavonoides durante los primeros 15 minutos de secado, a todas las temperaturas se aprecia el mismo comportamiento, que continua a lo largo del tiempo.

En la Figura 2 se observa que el poder antirradical desciende en todos los casos pero recupera el valor inicial a las 2 h de secado. Este recupero podría explicarse a través de la condensación de los productos de oxidación de polifenoles, que determina la formación de procianidinas con estructuras aromáticas más grandes y de mayor capacidad antioxidante (Choi *et al.*, 2006). Es importante destacar que las determinaciones de capacidad antioxidante realizadas *in vitro* dan sólo una aproximación de lo que podría ocurrir en situaciones mucho más complejas (*in vivo*) donde ocurren una gran cantidad de reacciones bioquímicas, y en donde los resultados finales de una mezcla están determinados no solamente por la suma de las capacidades antioxidantes de los compuestos presentes, sino que además, por los variados efectos sinérgicos o inhibitorios que se producen entre esos componentes y el ambiente al cual pertenecen. Usualmente se especula que en extractos vegetales existe una relación directa entre el contenido de fenoles totales y la capacidad antioxidante, porque los compuestos fenólicos o polares causan una mayor actividad antioxidante.

En las Figuras 3 y 4 se observa la evolución de los parámetros de color croma ( $C^*$ ) y hue (h) en la cara superior (SUP) e inferior (INF) de hongos deshidratados a 50, 60 y 70 °C. En la cara inferior se observa el aumento de  $C^*$  a medida que avanza el tiempo de secado, esto significa que el color se intensifica, probablemente por la aparición de productos de la reacción de Maillard debido a la exposición a altas temperaturas. Por otro lado, en la cara superior existe una disminución de  $C^*$  y posterior estabilización a las 2 h de secado, que indica una disminución en la vividez del color. El h (tono) que define un color cromáticamente, presenta una disminución de 0,4 unidades luego de 2 h de secado, en ambas caras del producto y sin importar la temperatura del aire de secado. Esto indica la tendencia hacia los tonos amarillo anaranjados en el producto deshidratado.



## 5. CONCLUSIONES

Es bien conocido que los componentes naturales (nutrientes o no nutrientes) pueden perderse significativamente por el tratamiento térmico debido a que la mayoría de los compuestos bioactivos son inestables al calor. En este caso el aumento en fenoles totales compensa la degradación de flavonoides, manteniéndose estable la capacidad antioxidante de *Pleurotus ostreatus* durante el proceso de secado en todo el rango de temperaturas bajo estudio. Se podría recomendar como temperatura óptima de secado 60 °C, ya que a esta temperatura se evidenció un aumento importante en fenoles totales. Se concluye que el *Pleurotus ostreatus* congelado presenta una estabilidad adecuada durante el proceso de secado con aire caliente, permitiendo aumentar el uso del producto fuera de estación.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- APATI G. P., Furlan S. A., Laurindo J. (2010). Drying and rehydration of oyster mushroom. *Brazilian Archive Biology and Technology*, 53 (4): 945-952.
- BRAND-WILLIAMS W., Cuvelier M., Berset C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Tech.*, 28 (1): 25-30.
- CHOI Y., Lee S. M., Chun J., Lee H. B., Lee J. (2006) Influence of heat treatment on the antioxidant activities and polyphenolic compounds of Shiitake (*Lentinus edodes*) mushroom. *Food Chemistry*, 99: 381-387.
- DORTA E., Lobo M. G., González M. (2013). Optimization of Factors Affecting Extraction of Antioxidants from Mango Seed. *Food Bioprocess Technology*, 6: 1067-1081.
- ELMASTAS M., Isildak O., Turkekul I., Temur N. (2007). Determination of antioxidant activity and antioxidant compounds in wild edible mushrooms. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20: 337-345.
- KAHKONEN M., Hopia A., Vuorela H. J., Rauha J. P., Pihlaja K., Kujala T. S., Heinonen M. (1999) Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem.*, 47: 3954-3962.
- LIDHOO C. K., Agrawal Y. C. (2008). Optimizing temperature in mushroom drying. *Journal of Food Processing and Preservation*, 32: 881-897.
- MANZI P., Marconi S., Aguzzi A., Pizzoferrato L. (2004). Commercial mushrooms: nutritional quality and effect of cooking. *Food Chemistry*, 84: 201-206.

- MARTINEZ-SOTO G., Ocaña-Camacho R., Paredes-López O. (2001). Effect of pretreatment and drying on the quality of Oyster mushrooms (*P. ostreatus*). *Drying Tech.*, 19 (3 y 4): 661-672.
- MATILA P., Hellstrom J. (2007) Phenolic acids in potatoes, vegetables, and some of their products. *Journal of Food Composition and Analysis*. 20: 152-160.
- MURAKAMI M., Yamaguchi T., Takamura H. (2004). Effects of thermal treatment on radical scavenging activity of single and mixed polyphenolic compounds. *J. of Food Science*, 69: 7-10.
- NACZK M., Shahidi F. (2004) Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography*, 1054: 95-111.
- OHACO DOMÍNGUEZ E. H. (2013). Secado convectivo de frutos de rosa mosqueta. Modelos del producto para optimizar equipos de secado. Editorial EAE de AV Akademikerverlag GmbH and Co. KG. Saarbrücken – Alemania. ISBN 978-3-659-06919-2. Pág. 259.
- PEREZ N. E., Schmalko M. E. (2009). Convective drying of pumpkin: influence of pretreatment and drying temperature. *Journal of Food Process Engineering*, 32: 88-103.
- SWAIN T., Hillis W. (1959). The phen. Constituents of *Prunus domestica* L. The quantitative analysis of phenolic constituents. *Journal Sci. Food Agric.*, 10: 63-68.
- ZHISHEN J., Mengcheng T., Jiaming W. (1999). The determination of flavonoid content in mulberry and their effects on super radicals. *Food Chemistry*, 64: 555-559.

## 7. TABLAS Y FIGURAS

**TABLA 1.** Contenido de compuestos bioactivos en *P. ostreatus* fresco congelado y deshidratado (D) por 2 h a distintas temperatura (50, 60 y 70 °C)

| Muestra      | FT (mgGAE/100g bs) | Fv (mgCE/100g bs) | PA (mg <sup>-1</sup> bs) |
|--------------|--------------------|-------------------|--------------------------|
| Fresca cong. | 483 ± 22 a         | 841 ± 52 a        | 105 ± 6 a                |
| D 50 °C      | 665 ± 23 b         | 165 ± 6 b         | 98 ± 10 ab               |
| D 60 °C      | 965 ± 10 c         | 160 ± 23 b        | 76 ± 1 b                 |
| D 70 °C      | 780 ± 30 d         | 162 ± 18 b        | 86 ± 3 b                 |

Letras iguales en la misma columna indican que no hay diferencias significativas (p>0,05)

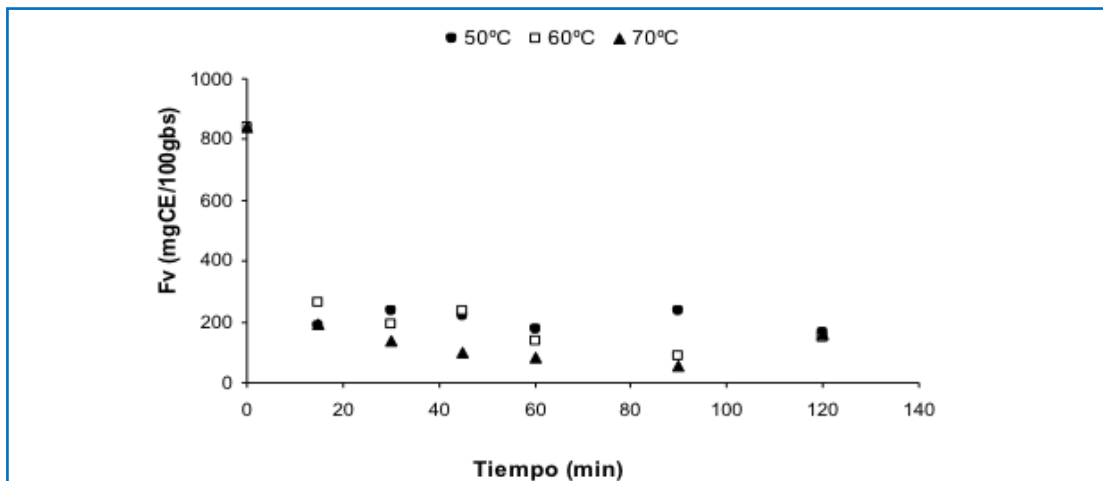


FIGURA 1. Evolución de Flavonoides en función del tiempo y de la temperatura del aire de secado

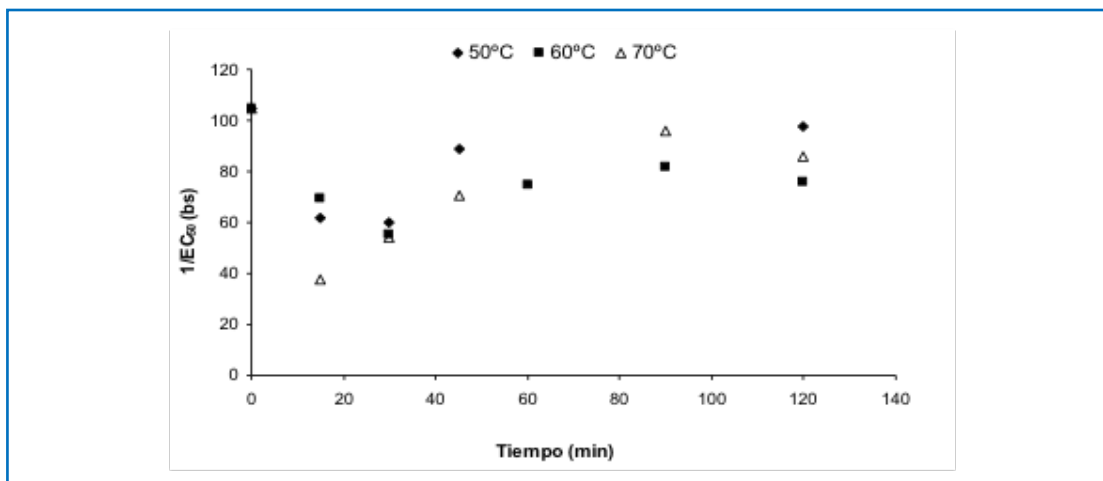


FIGURA 2. Evolución del poder antirradical en función del tiempo y de la temperatura del aire de secado

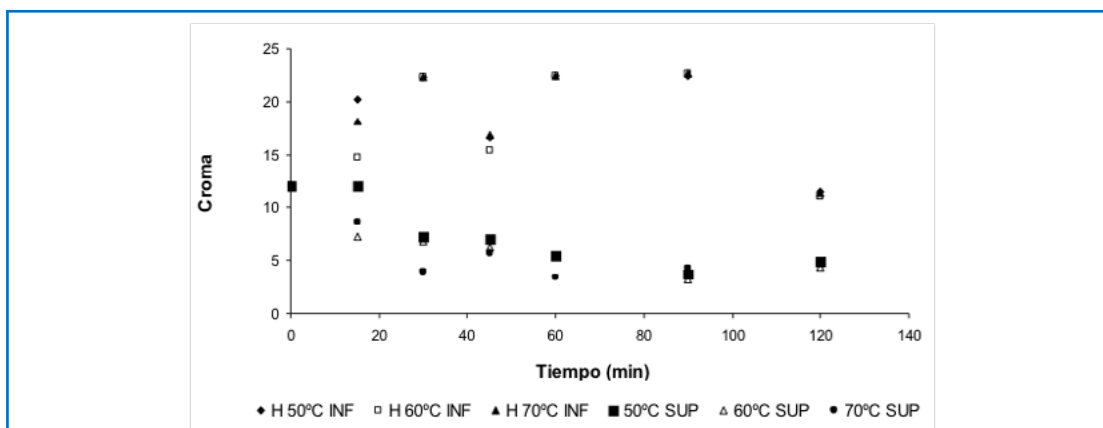
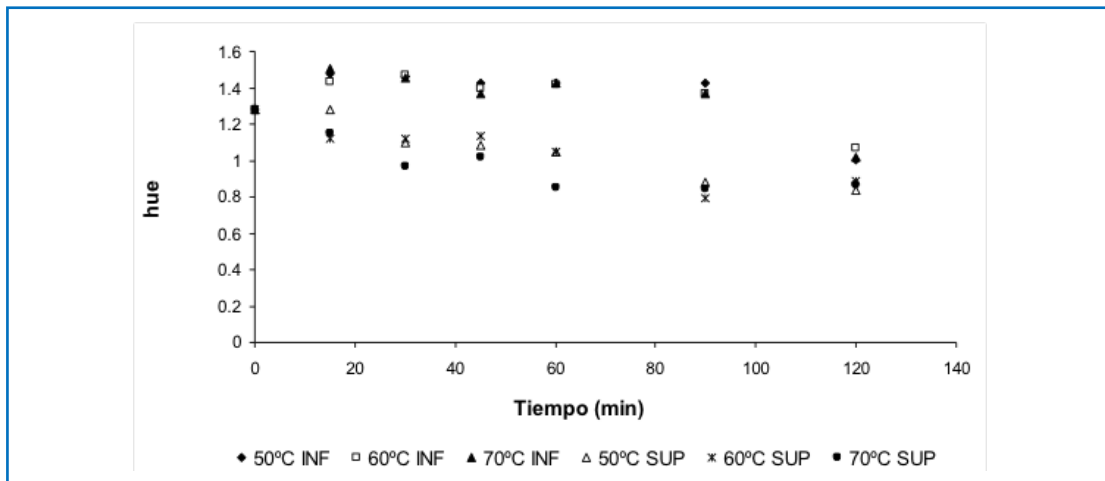


FIGURA 3. Evolución del parámetro Croma en función del tiempo y temperatura de secado. INF: cara inferior; SUP: cara superior



**FIGURA 4.** Evolución del parámetro hue en función del tiempo y temperatura de secado.  
 INF: cara inferior; SUP: cara superior

# ACEPTABILIDAD SENSORIAL DE FILETES DE CABALLA AHUMADOS EN FRÍO

Silvina Paola Agustinelli<sup>1,2</sup>, Maria Isabel Yeannes<sup>1,2</sup>

## 1. RESUMEN

La caballa (*Scomber japonicus*) es una de las principales especies pesqueras en la industria conservera Argentina. La disponibilidad del recurso permite ampliar la explotación del mismo mediante el desarrollo de productos alternativos a la conserva. Es por ello que la combinación de tecnologías de procesamiento, como la deshidratación osmótica en soluciones ternarias (agua, sal, azúcar) junto con ahumado frío, se presenta como alternativa para el desarrollo de productos pesqueros de alta calidad sensorial y nutricional. El objetivo del presente trabajo fue determinar las características sensoriales que le agradan/desagradan a los consumidores y la aceptabilidad sensorial de filetes de caballa (*Scomber japonicus*) ahumados en frío (<30 °C). A fin de cumplir con los objetivos se utilizaron filetes de caballa ahumados a 22 y 28 °C desarrollados en el GIPCAL y para su comparación filetes de salmón rosado ahumado obtenido en un comercio local. La evaluación sensorial fue realizada por 65 panelistas, correspondiendo a docentes y estudiantes universitarios. El 53 % de los mismos fueron del sexo femenino y un 47 % del masculino, entre 18 y 50 años. Se evaluó la aceptabilidad global de cada muestra, los distintos descriptores a partir de las escalas de “punto ideal” (Just About Right - JAR) y la preferencia. Los puntajes de los productos de caballa ahumada en la evaluación de la aceptabilidad global fueron mayoritariamente 5, 6 y 7

---

CONTACTO: Silvina P. Agustinelli [silagustinelli@fi.mdp.edu.ar](mailto:silagustinelli@fi.mdp.edu.ar)

1. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) (Argentina).

2. Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Mar del Plata. GIPCAL (Grupo de Investigación Preservación y Calidad de Alimentos). Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Mar del Plata. J. B. Justo 4302- (7600) Mar del Plata, Provincia de Buenos Aires, Argentina.

(me gusta ligeramente, bastante y muchísimo) indicando una buena aceptación por parte de los consumidores. El producto a 22 °C obtuvo el mayor porcentaje de consumidores que identifican los descriptores: “Intensidad del sabor” y “Sabor a ahumado” como en el punto justo. Los resultados del *orden de preferencia* indican que la muestra de caballa ahumada a 22 °C se ubicó como primera, mientras que la muestra de caballa ahumada a 28 °C y la muestra de salmón fueron preferidas de forma equivalente. Estos resultados demuestran la factibilidad de desarrollar filetes de caballa ahumada con buena aceptabilidad por parte del potencial consumidor.

## 2. INTRODUCCIÓN

El ahumado, como tecnología tradicional de elaboración de productos cárnicos y pesqueros, pertenece a los sistemas más antiguos empleados por el hombre para el procesamiento, conservación y consumo de alimentos. La sinergia entre el agregado de sal al músculo, el efecto antioxidante y antimicrobiano de los componentes del humo (aldehídos, cetonas, alcoholes, hidrocarburos, fenoles, etc.) y la deshidratación durante el ahumado, confluye en una combinación de factores que define al ahumado como un proceso de conservación (Connell, 1990). Dado los avances en la tecnología de almacenamiento y envasado, el ahumado se utiliza en combinación con ellos debido a las características sensoriales que le confiere a los alimentos, en productos mínimamente procesados, conteniendo menor tenor salino, de manera de satisfacer el gusto y necesidades del consumidor. De esta forma la tecnología de ahumado se presenta como una opción alternativa para la comercialización de especies pesqueras incluidas las subexplotadas o no explotadas, otorgando un agregado de valor y generando alternativas que fomentan el consumo de pescado en general. Así, se han realizado estudios sobre especies alternativas como son la trucha arcoiris, lubina (Fuentes *et al.*, 2010), caballa (Goulas & Kontominas, 2005), bacaladilla y sardina (Gómez-Guillén *et al.*, 2009), arenque (Cardinal *et al.* 2006) y pez espada (Muratore & Licciardello, 2005), obteniéndose resultados satisfactorios.

En la Argentina, la especie de caballa, *Scomber japonicus*, es el recurso principal para la industria conservera cuyo mercado casi con exclusividad es el interno. Considerando el alto valor nutricional para la dieta humana que posee la caballa, por su contenido proteico, siendo rica en vitaminas, minerales y ácidos grasos poliinsaturados, la tecnología de ahumado se presenta como una alternativa para elevar

su valor comercial, así como diversificar su consumo y el de pescado en general (Perrota *et al.*, 2001).

El objetivo del presente trabajo fue determinar las características sensoriales que le agradan/desagradan a los consumidores y la aceptabilidad sensorial de filetes de caballa (*Scomber japonicus*) ahumados en frío (<30 °C).

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

Muestras de filetes de caballa (*Scomber japonicus*) ahumados en frío se procesaron para determinar la aceptabilidad del consumidor. Después de la etapa de salado, los filetes fueron ahumados a 22 y 28 °C en un frigorífico pesquero de la ciudad de Mar del Plata utilizando la metodología tradicional. El salado se realizó mediante inmersión de las muestras (deshidratación osmótica) en una solución (1:4, muestras: solución) preparada con sal y sacarosa: 250 g / l y 30 g / l, respectivamente, durante 1 h. El proceso de ahumado en frío se llevó a cabo a dos temperaturas diferentes en conformidad con las prácticas industriales de diferentes productos pesqueros (Knockaert, 1990) en un horno de ahumado (Kerres ahumadero, modelo H-1950/1) combinando una etapa de secado (2,5 h) y otra de ahumado (2,5 h) bajo una humedad relativa del 65 % y una velocidad de aire de 2 ms<sup>-1</sup>. A fin de comparar el nuevo producto con un producto comercial, se adquirieron muestras del existente en una pescadería local (Pedrero & Pangborn, 1989), correspondiendo a filete de salmón con humo líquido.

Participaron un total de 65 personas, siendo estudiantes y docentes universitarios, en un rango etáreo de 18-50 años. Los panelistas indicaron que consumían pescado habitualmente y fueron informados acerca de los productos que debían evaluar. Cada consumidor recibió simultáneamente las dos muestras de caballa ahumada a 22 °C y 28 °C junto con la muestra de salmón ahumado. Porciones de aproximadamente 10 g de cada muestra se colocaron sobre pan blanco y dentro de un recipiente transparente. Las muestras se codificaron con números aleatorios de tres dígitos.

Los participantes debieron indicar su grado de aceptabilidad global utilizando una escala facial hedónica de 7 puntos (Stone & Sidel, 1993). Se evaluó la preferencia en cuanto al gusto de los consumidores utilizando la metodología JAR (Just-about-right) de 5 puntos solicitando a los participantes que puntúe los descriptores: Intensidad de Aroma, Aroma a ahumado, Apariencia global, Intensidad

del sabor, Sabor a ahumado, Sabor salado. Los datos obtenidos con las escalas JAR proporcionan una idea de cómo los panelistas aceptan las muestras de acuerdo a su producto ideal o preferido. Dicha información sensorial puede ser una herramienta de diagnóstico para el desarrollo de productos, indicando que descriptores deben ser ajustados y en qué dirección (Gacula *et al.*, 2007; Villegas *et al.*, 2010). Finalmente se les pidió a los evaluadores que ordenaran las muestras de acuerdo a su grado de preferencia global.

#### **ANÁLISIS DE DATOS**

A partir de los resultados obtenidos se construyeron histogramas para su análisis gráfico. Los resultados de preferencia fueron analizados mediante un test de ranking simple en forma estadística mediante la prueba de Friedman para comparar muestras.

Los datos se analizaron utilizando el software estadístico R (versión 2.10.1, R Development Core Team, 2010) y Microsoft Excel 2003 (Microsoft Corp., EE.UU.).

#### **4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

La población reclutada estuvo compuesta por un 53 % de sexo femenino y un 47 % masculino. Los criterios de inclusión permitieron reducir fuentes de variación y obtener resultados consistentes que proporcionaron información válida sobre la aceptación de los productos desarrollados (Costell *et al.*, 1992). Las respuestas de los consumidores, fueron convertidas a resultados numéricos a fin de facilitar el análisis estadístico (Gacula *et al.*, 2007). En la Figura 1 se representan las distribuciones porcentuales de la calificación para Aceptabilidad Global.

Se observa en el gráfico que todas las muestras presentaron una distribución unimodal, con el valor 6 (Me gusta bastante) como Moda. Se determinó que el porcentaje acumulado de los valores de *Aceptabilidad Global* mayores a 4 puntos fue 68 %, 65 % y 56 % para las muestras tratadas a 22 y 28 °C y para el producto comercial, respectivamente. El producto que se comercializa actualmente resultaría ser el menos aceptable, mientras que el producto desarrollado bajo un tratamiento de 22 °C sería el más aceptable por los consumidores. De acuerdo al análisis de varianza los consumidores percibieron como aceptables las tres muestras, siendo que los puntajes promedio no fueron significativamente diferentes ( $p=0,1587$ ). Si bien se trata de productos que principalmente difieren en la especie pesquera y en



el tratamiento de ahumado aplicado, de acuerdo a los resultados de aceptabilidad global, los consumidores responden favorablemente a los productos desarrollados.

A fin de comprender la base de la aceptación de los productos analizados, la *Aceptabilidad global* fue valorada mediante la evaluación de seis descriptores. Los datos obtenidos con las escalas JAR proporcionan una idea de cómo los panelistas aceptan las muestras de acuerdo a su producto ideal o preferido (Gacula *et al.*, 2007). El análisis JAR recomienda valores cercanos al 60 % en un descriptor para que sea considerado como apto. Si se analiza solo la puntuación JAR (valor en el punto justo) (Figura 2) , puede observarse que las muestras elaboradas a partir de caballa presentan un mayor porcentaje de consumidores que puntúan a los descriptores como en su nivel ideal. Comparando ambas muestras de caballa, el producto a 28 °C presentó mayores porcentajes de puntuación JAR en los descriptores *Intensidad del Aroma, Aroma a ahumado, Apariencia global y Sabor salado* que el producto a 22 °C. En cuanto al producto comercial, de salmón ahumado, los porcentajes de consumidores que consideraron a los descriptores en su punto justo, fueron todos menores a los obtenidos para las muestras de caballa. Esto se relaciona con el mayor valor en el parámetro *Aceptabilidad global* que obtuvieron dichas muestras.

Los resultados del test del ranking de preferencia se presentan en la Figura 3. De acuerdo a los porcentajes obtenidos, la muestra de caballa tratada a 22 °C fue la preferida por los consumidores evaluados. A fin de determinar si los resultados fueron significativamente diferentes se analizaron de forma estadística con la ayuda del test de Friedman. El valor F de Friedman obtenido fue 7,95, superior al valor de  $\chi^2$  para 2 grados de libertad y un nivel de significación del 5 % (5,99). A partir del ensayo de múltiple comparación se determinó que la muestra de caballa ahumada a 28 °C y la muestra de salmón con humo líquido fueron preferidas de forma equivalente; mientras que la muestra de caballa ahumada a 22 °C presentó diferencias significativas con las otras dos y dado el puntaje obtenido puede ser considerada como la de mayor preferencia entre la población ensayada.

## 5. CONCLUSIONES

Las muestras de caballa ahumada recibieron una buena aceptación entre los consumidores, con puntajes mayoritariamente altos. Desde el punto de vista del desarrollo realizado en este trabajo, estos resultados fueron altamente positivos y alentado-

res, dado que ubican al producto ahumado a 22 °C en primer lugar y el ahumado a 28 °C y el producto comercial en el mismo orden de preferencia de este último. Lo que indica que ambos productos desarrollados no sólo fueron aceptados por el consumidor, sino que tuvieron mayor preferencia o preferencia equivalente que aquel que se encuentra en el mercado.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CARDINAL, M., Cornet, J., Sérot, T. & Baron, R. (2006). Effects of the smoking process on odour characteristics of smoked herring (*Clupea harengus*) and relationships with phenolic compound content. *Food Chemistry*, 96(1), 137-146.
- CONNELL, J. (1990). *Control of Fish Quality*. Fishing News Books, Blackwell Scientific Publications, Londres. 3ra ed.
- COSTELL, E., Tárrega, A. & Bayarri, S. (1992). Food Acceptance: The role of consumer perception and attitudes. *Chemosens Percept*, 3(1), 42-50.
- FUENTES, A., Fernández-Segovia, I., Barat, J.M. & Serra, J.A. (2010). Physicochemical characterization of some smoked and marinated fish products. *Journal of Food Processing and Preservation*, 34(1): 83-103.
- GACULA, M., Rutenbeck, S., Pollack, L., Resurreccion, A. V. A. & Moskowitz, H. R. (2007). The just-about-right intensity scale: functional analyses and relation to hedonics. *J Sens Stud*, 22(2), 194-211.
- GÓMEZ-GUILLÉN, M. C., Gómez-Estaca, J., Giménez, B. & Montero, P. (2009). Alternative fish species for cold-smoking process. *International Journal of Food Science & Technology*, 44(8), 1525-1535.
- GOULAS, A. E. & Kontominas, M. G. (2005). Effect of salting and smoking-method on the keeping quality of chub mackerel (*Scomber japonicus*): biochemical and sensory attributes. *Food Chemistry*, 93(3), 511-520.
- KNOCKAERT, C. (1990). *Le fumage du poisson*. Service de la documentation et des publications, Brest: Ifremer.
- MURATORE, G. & Licciardello, F. (2005). Effect of vacuum and modified atmosphere packaging on the shelf-life of liquid-smoked swordfish (*Xiphias gladius*) slices. *Journal of Food Science*. 70(5): C359-C363.
- PEDRERO, F., D. L. & Pangborn, R. M. (1989). *Evaluación sensorial de los alimentos. Métodos Analíticos*. Editorial Alhambra Mexicana. D. F. México

PERROTTA, R. G., Viñas, M D., Hernandez, D. R. & Tringali, L. (2001). Temperature conditions in the Argentine chub mackerel (*Scomber japonicus*) fishing ground: implications for fishery management. *Fisheries Oceanography*, 10(3), 275-283.

STONE H. & SIDEL J.L. (1993). Sensory evaluation practices. San Diego: Academic Press. 338 p.

VILLEGAS, B., Tárrega, A., Carbonell, I. & Costell, V. (2010). Optimizing acceptability of new prebiotic low-fat milk beverages. *Food Quality and Preference*. 21:234–242.

## 7. TABLAS Y FIGURAS

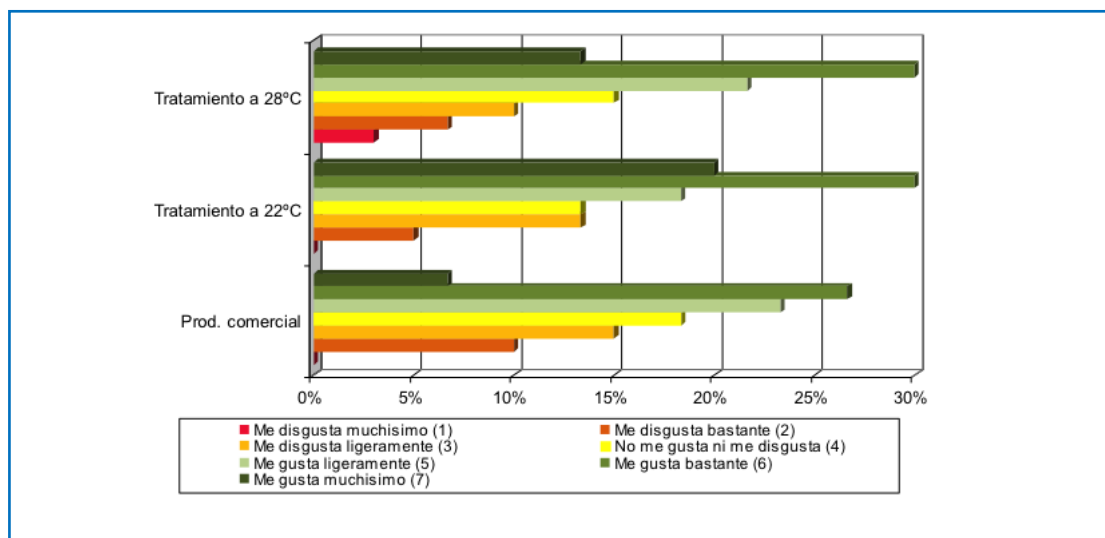


FIGURA 1. Aceptabilidad global de las tres muestras evaluadas

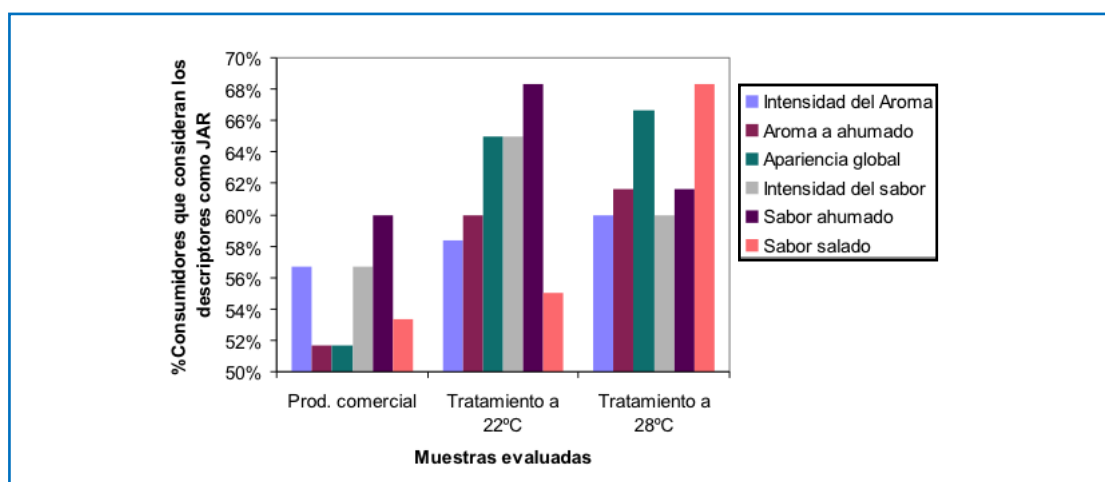
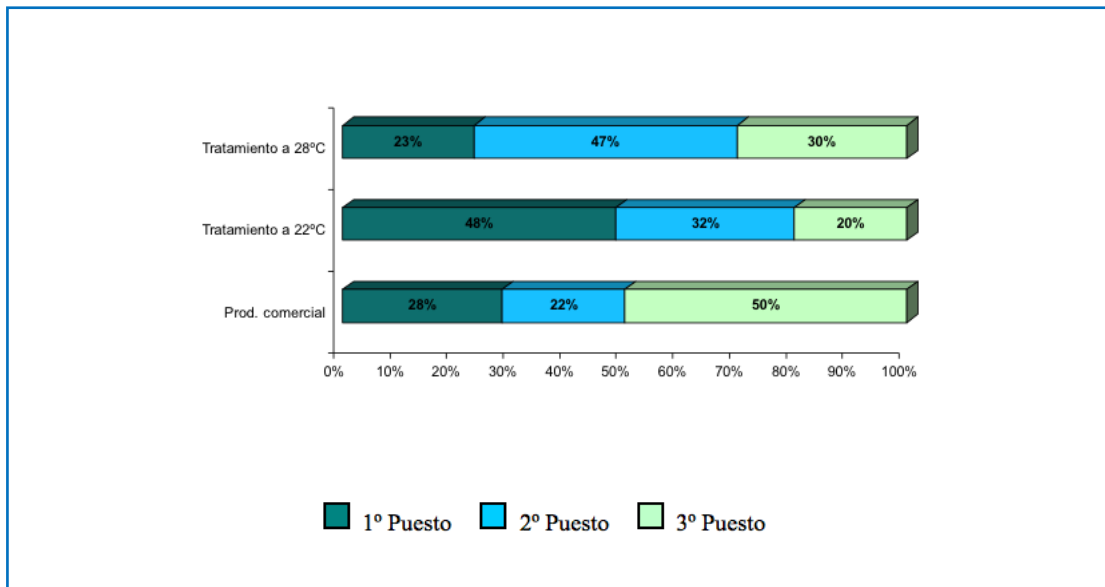


FIGURA 2. Muestras de pescado ahumado evaluadas frente al porcentaje de consumidores que consideran los descriptores como JAR



**FIGURA 3.** Resultados del test de Ranking de Preferencias

# CINÉTICA DE DEGRADACIÓN TÉRMICA DE ALL-TRANS- $\beta$ -CAROTENO EN BATATA (*Ipomoeas batata Lam*) VARIEDAD CIP440287

María Alejandra Ospina<sup>1</sup>, Angélica Jaramillo<sup>2</sup>, Jhon Larry Moreno<sup>2</sup>, Sonia Gallego<sup>2</sup>,  
Marilia Nutti<sup>3</sup>

## 1. RESUMEN

La deficiencia de vitamina A es un importante problema de salud pública a nivel mundial. Más de la tercera parte de los niños en edad preescolar presentan deficiencia de vitamina A mientras que la desnutrición materna es un fenómeno común en muchos países en desarrollo. Para contrarrestar la deficiencia de vitamina A, la inclusión de alimentos con altos contenidos de carotenos en la dieta alimentaria es una posible solución. La batata (*Ipomoeas batata Lam*) variedad CIP440287 se caracteriza por tener pulpa de color anaranjado, color atribuible a su alto contenido de carotenos, principalmente all-*trans*- $\beta$ -caroteno, una molécula pro-vitamina A. Los compuestos carotenoides son micronutrientes que se degradan fácilmente por el tratamiento térmico, la exposición a la luz y el contacto con el oxígeno, por tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar la cinética de degradación térmica del all-*trans*- $\beta$ -caroteno presente en rodajas de batata fresca variedad CIP440287 de 1 cm de espesor, en las temperaturas de 75, 85 y 95 °C durante los tiempos 0, 10, y 20 min de cocción en agua. La identificación y cuantificación del all-*trans*- $\beta$ -caroteno se realizó por Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC). La degradación de estos compuestos siguió una cinética de primer orden y se ajustó a la ecuación de Arrhenius con correlaciones de  $R^2 > 0,9$ . El porcentaje de retención de estos compuestos fue de 77 %, 56 % y 48 % en las temperaturas 75°, 85° y 95 °C respectivamente. Otros parámetros cinéticos que se obtuvieron fueron la energía de activación ( $E_a$ ) 54,56 kJ/mol,  $t^{0.5}$  de 51,73 min hasta 18,63 min,  $Q_{10}$  igual a 2,13 y  $Z$  igual a 30,37 °C para todas las temperaturas evaluadas.

---

CONTACTO: María Alejandra Ospina [maospinap@unal.edu.co](mailto:maospinap@unal.edu.co)

1. Corporación CLAYUCA.

2. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT).

3. Harvestplus.

## 2. INTRODUCCIÓN

Los problemas de desnutrición, deficiencias en micronutrientes (vitamina A, hierro, yodo, ácido fólico y zinc) y la inseguridad alimentaria en el mundo tienen efectos devastadores en la salud humana y en el bienestar socio-económico de las poblaciones con recursos limitados (Organización Mundial de la Salud- OMS, 2014). La deficiencia de vitamina A es considerada un problema de salud pública a nivel mundial, la inclusión de alimentos con altos contenidos de carotenos en la dieta alimentaria es una posible solución para contrarrestar esta deficiencia.

La batata (camote o boniato) es el quinto alimento más importante en los países en desarrollo, debido a sus características nutricionales y culinarias. Según las estadísticas de la FAO (FAOSTAT), la producción mundial de batata para el 2012 fue de 133 millones de toneladas, en donde los principales países productores de batata fueron: China (77 MT), Nigeria (34 MT) y Uganda (26 MT). La batata es un alimento de alto aporte calórico y es una fuente  $\beta$ -carotenos que son precursores de vitamina A, por lo que su consumo ayuda a prevenir ciertos tipos de cáncer y trastornos cardiovasculares, igualmente es fuente de vitamina C, potasio, hierro y calcio. (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria - INTA, 2013).

Los compuestos carotenoides son micronutrientes que se degradan fácilmente por el tratamiento térmico, la exposición a la luz y la oxigenación. (Delia Rodríguez Amaya, 1997). En los últimos años, algunas investigaciones han demostrado que el contenido de carotenos en la batata disminuye durante su procesamiento siendo la cocción la principal forma de preparación. (Shih Chuan Liu *et al.*, 2009 y Paul Van Jaarsveld *et al.*, 2006). La batata se consume como acompañante de platos típicos reemplazando a la papa y a la yuca, también su uso es común en la elaboración de postres. Por tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar la cinética de degradación térmica del all-*trans*- $\beta$ -caroteno presente en rodajas de batata fresca variedad CI-P440287a diferentes temperaturas y tiempos de cocción en agua.

## 3. MATERIALES Y MÉTODOS

Para este estudio se utilizó batata variedad CIP440287 cosechada después de tres meses de siembra. La batata fresca se cortó en rodajas de 1 cm de espesor y 4 cm de diámetro aproximadamente, estas rodajas fueron sometidas a cocción en agua a tempe-

raturas de 75, 85 y 95 °C durante 0, 10 y 20min. La identificación y cuantificación del all-*trans*-β-caroteno se realizó por Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC) según metodología reportada por Hernán Ceballos *et al.*, 2012, que se modificó utilizando 1 gramo de muestra. Los parámetros de cinética de degradación térmica del all-*trans*-β-caroteno se calcularon a partir de las ecuaciones 1-5, descritas por Rasiel Toledo, 1999 y la ecuación 6 descrita por Hernán Ceballos *et al.*, 2012.

$$\frac{C_t}{C_0} = \exp(-k \times t) \quad (\text{Ecuación 1})$$

$$k = A \exp\left(-\frac{E_a}{RT}\right) \quad (\text{Ecuación 2})$$

$$Q_{10} = \left[\frac{k_2}{k_1}\right]^{\left(\frac{10}{T_2 - T_1}\right)} \quad (\text{Ecuación 3})$$

$$t_{0.5} = -\frac{\ln 2}{k} \quad (\text{Ecuación 4})$$

$$Z = 10 \frac{\ln(10)}{\ln Q_{10}} \quad (\text{Ecuación 5})$$

$$\%R = \frac{\text{Contenido all-trans-}\beta\text{-caroteno por gramo de muestra cocinada}}{\text{Contenido all-trans-}\beta\text{-caroteno por gramo de muestra fresca}} \times 100 \quad (\text{Ecuación 6})$$

Donde, *C* es la concentración de all-*trans*-β-caroteno; *k* es la constante de velocidad de primer orden (min<sup>-1</sup>); *t* es el tiempo de cocción (s); *E<sub>a</sub>* es la energía de activación en kJ/mol; *R* es la constante de los gases kJ K<sup>-1</sup> mol<sup>-1</sup>; *T* es la temperatura absoluta (K); *A* es la constante pre-exponencial; *Q<sub>10</sub>* es el cambio de la constante de velocidad de una reacción al aumentar la temperatura 10 °C; *t<sub>0.5</sub>* es el tiempo requerido para reducir el 50% la concentración original de all-*trans*-β-caroteno (min); *Z* es la constante de resistencia térmica (°C); %*R* es el porcentaje de retención de all-*trans*-β-caroteno. Los datos cinéticos fueron analizados mediante el análisis de regresión, utilizando Ms Excel 2013.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El aumento en la temperatura y en el tiempo de cocción disminuyó el contenido del all-*trans*-β-caroteno presente en las rodajas de batata, los porcentajes de retención de este compuesto después de 20 min de cocción fueron de 76,55 %, 56,49 % y

47,55 % para las temperaturas de 75, 85 y 95 °C respectivamente (Tabla 1). Se partió de una concentración inicial de all-*trans*- $\beta$ -caroteno de 113,80  $\mu\text{g}/\text{gen}$  peso fresco y después de 20 min a temperatura de ebullición (95 °C) se obtuvo una concentración final de 54,11  $\mu\text{g}/\text{g}$ . La tendencia en la disminución de la concentración all-*trans*- $\beta$ -caroteno con el aumento de tiempo de cocción a temperatura de ebullición fue similar a lo reportado por XinWu *et al.*, 2008, quienes evaluaron trozos de batata China variedad Yanshu N°5 de 1  $\text{cm}^3$  en cocción a temperatura de ebullición, obteniendo que el contenido de all-*trans*- $\beta$ -caroteno disminuyó de 76,52  $\text{mg}/\text{kg}$  en peso fresco a 62,55  $\text{mg}/\text{kg}$  después de 20 min de cocción. De igual manera, Anton Bengtsson *et al.*, 2008 obtuvieron que la concentración de all-*trans*- $\beta$ -caroteno disminuyó de 108,1  $\mu\text{g}/\text{g}$  en peso seco a 73,0  $\mu\text{g}/\text{g}$  cuando cocinaron batata variedad SPK004-1 cortada en cuartos longitudinales a temperatura de ebullición durante 20 min.

La degradación de all-*trans*- $\beta$ -caroteno siguió una cinética de primer orden y se ajustó a la ecuación de Arrhenius con correlaciones de  $R^2 > 0,9$  (Figura 1 y 2). En la Tabla 1, se muestra los cambios en la concentración de all-*trans*- $\beta$ -caroteno durante el procesamiento térmico y en la Tabla 2 se muestra los parámetros cinéticos. La constante de velocidad de primer orden ( $k$ ) se incrementó al aumentar la temperatura de 75 a 95 °C. Por el contrario, el parámetro  $t^{0.5}$  que es el tiempo requerido para reducir el 50 % de la concentración de all-*trans*- $\beta$ -caroteno disminuyó durante la cocción, 51,73 min, 24,24 min y 18,63 min a 75, 85 y 95 °C respectivamente. Otros parámetros cinéticos que se obtuvieron fueron el cambio de la constante de velocidad de la reacción al aumentar la temperatura 10 °C ( $Q_{10}$ ) iguala 2,13 y 1,30 en 75-85 °C y 85-95 °C respectivamente; la constante de resistencia térmica ( $Z$ ) fue de 30, 37 °C, este valor indicó el número de grados que se puede aumentar la temperatura para reducir la degradación térmica un ciclo logarítmico y la energía de activación ( $E_a$ ) fue de 54,56  $\text{kJ}/\text{mol}$ , este valor indica la energía mínima necesaria para que ocurra la reacción de degradación del all-*trans*- $\beta$ -caroteno, a mayor energía de activación la velocidad de la reacción de degradación del all-*trans*- $\beta$ -caroteno será menor.

## 5. CONCLUSIONES

El contenido de all-*trans*- $\beta$ -caroteno en la batata variedad CIP440287 se reduce con la exposición a altas temperaturas y largos tiempo de cocción en agua. Las combinaciones de tiempo y temperatura de cocción en donde ocurrió la menor



degradación del all-*trans*- $\beta$ -caroteno fueron 75 °C - 20 min y 95 °C - 10 min. Los porcentajes de retención de este compuesto después de 20 min de cocción fueron de 76,55 %, 56,49 % y 47,55 % en las temperaturas 75, 85 y 95 °C respectivamente.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- ANTON Bengtsson, Agnee Namutebi, Marie Larsson Almingera y Ulf Svanberga. (2008). Effects of various traditional processing methods on the all-trans-b-carotene content of orange-fleshed sweet potato. *Journal of Food Composition and Analysis*. 21.134–143 p.
- DELIA Rodriguez Amaya. (1999). Changes in carotenoids during processing and storage of foods. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 49.38-47 p.
- ESTADÍSTICAS DE LA ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA (FAOSTAT). Producción mundial de batata (*Ipomoea batatas L*) en 2012. Consultado en: <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>. (Accesado Octubre 10 de 2014).
- HERNÁN Ceballos, Jorge Luna, Andrés Felipe Escobar, Darwin Ortiz, Juan Carlos Pérez, Teresa Sánchez, Helena Pachón y Dominique Dufour. (2012). Spatial distribution of dry matter in yellow fleshed cassava roots and its influence on carotenoid retention upon boiling. *Food Research International*. 45. 52–59 p.
- INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA (INTA) (2013). Manual técnico para el cultivo de batata (camote o boniato) en la provincia de Tucumán (Argentina). Cosme Cusumano y Néstor Zamudio. Ediciones INTA. 1ª Ed. 48 p. ISBN 978-987-679-134-2.
- ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD – OMS (2014). Nutrición para la salud y el desarrollo. Consultado en: [http://www.who.int/nutrition/about\\_us/es/](http://www.who.int/nutrition/about_us/es/). (Accesado Sep. 04 de 2014).
- PAUL van Jaarsveld, Marais De Wet, Eliu Harmse, Penelope Nestely Delia Rodriguez Amaya. (2006). Retention of b-carotene in boiled, mashed orange fleshed sweet potato. *Journal of Food Composition and Analysis*. 19. 321–329 p.
- RAISEL Toledo. (1999). *Kinetic of Chemical Reactions in Foods*. En: Fundamentals of Food Process Engineering (pp. 302-314). 2nd rev. Ed. New York, U.S: Aspen Publishers.
- SHIH-CHUAN Liu, Jau-Tien Lin y Deng-Jye Yang. (2009). Determination of cis- and trans- $\alpha$ - and  $\beta$ -carotenoids in Taiwanese sweet potatoes (*Ipomoea batatas (L.) Lam.*) harvest at various times. *Food Chemistry*. 116. 605–610 p.
- XIN WU, Chengjun Sun, Liuhua Yang, Guo Zeng, Zuyang Liu y Yumin Li. (2008).  $\beta$ -carotene content in sweet potato varieties from China and the effect of preparation on  $\beta$ -carotene retention in the Yanshu No. 5. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 9. 581–586 p.

## 7. TABLAS Y FIGURAS

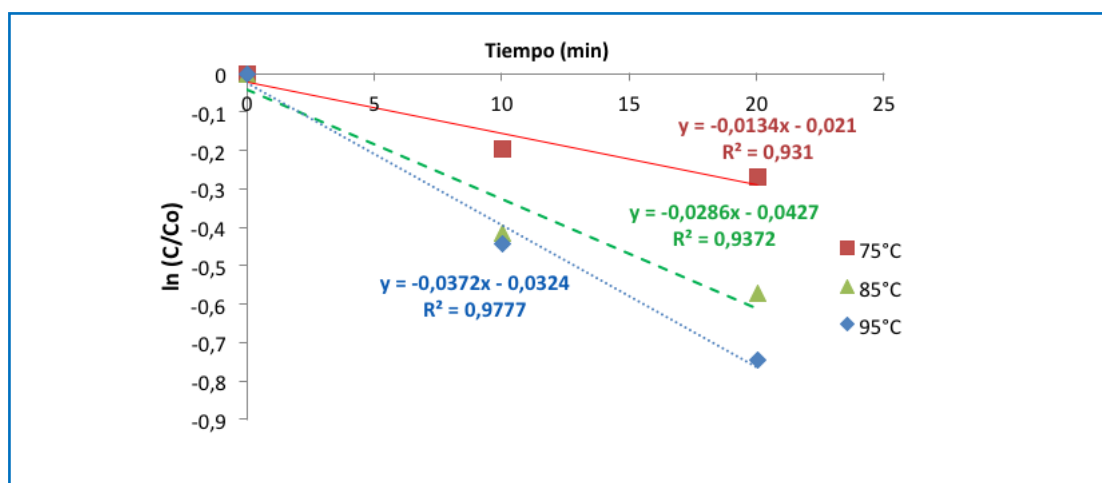


FIGURA 1. Cinética de degradación térmica de all-*trans*-β-caroteno en batata variedad CIP440287

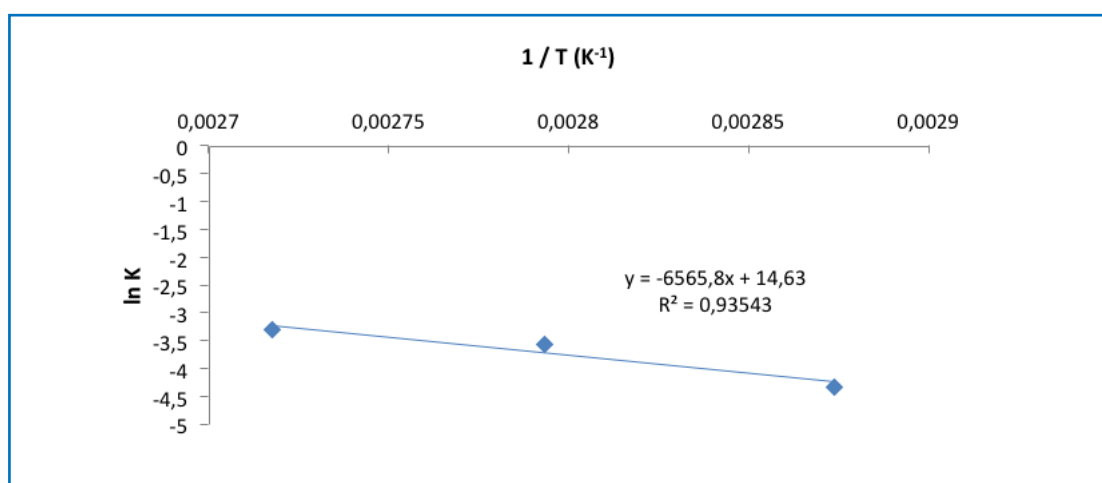


FIGURA 2. Ecuación de Arrhenius para la degradación de all-*trans*-β-caroteno en batata variedad CIP440287

**TABLA 1.** Concentración y % retención de all-*trans*- $\beta$ -caroteno en batata  
variedad CIP440287

| Tiempo (min) | Temperatura (°C) | Concentración de all- <i>trans</i> - $\beta$ -caroteno ( $\mu\text{g/g}$ ) <sup>1</sup> | % Retención de all- <i>trans</i> - $\beta$ -caroteno |
|--------------|------------------|---|--|
| 10           | 75 °C            | 93,48 $\pm$ 2,75  | 82,14  |
|              | 85 °C            | 75,25 $\pm$ 1,18  | 66,12  |
|              | 95 °C            | 73,09 $\pm$ 2,61  | 64,23  |
| 20           | 75 °C            | 87,11 $\pm$ 1,87  | 76,55  |
|              | 85 °C            | 64,28 $\pm$ 2,40  | 56,49  |
|              | 95 °C            | 54,11 $\pm$ 1,19  | 47,55  |

<sup>1</sup>Concentración en 1 gramo de peso fresco

**TABLA 2.** Parámetros cinéticos de la concentración de all-*trans*- $\beta$ -caroteno en batata  
variedad CIP440287

| T (°C) | k (min <sup>-1</sup> ) | R <sup>2</sup> | Ea (Kcal/mol) | t <sup>0,5</sup> (min) | Q <sub>10</sub> (75 °C a 95 °C) | Z (°C) |
|--------|------------------------|----------------|---------------|------------------------|---------------------------------|--------|
| 75     | 0,013                  | 0,931          | 54,562        | 51,727                 | -                               | 30,371 |
| 85     | 0,029                  | 0,937          |               | 24,236                 | 2,134                           |        |
| 95     | 0,037                  | 0,978          |               | 18,633                 | 1,301                           |        |

# PRODUCTION AND CONSUMER ACCEPTABILITY OF A KIWI JAM

Celia Pimenta<sup>1</sup>, Manuela Vaz Velho<sup>2</sup>, Luís Patarata<sup>1</sup>, Rita Pinheiro<sup>2</sup>

## 1. ABSTRACT

The general objective of this work was to develop a Kiwi jam (*Actinidia deliciosa*, -variety “Hayward”), preserving the high natural ascorbic acid content of the fresh fruit, as well as achieving the typical texture, sweetness and acidity of jams.

After a consumer acceptance test, a base formulation with 45 % of fruit, 40 % of sugar and 0.5 % of Amidated Low MethoxylPectin (LMA) was set. Three assays were tested: formulation with citric acid (CAC), formulation with ascorbic acid (CAA) and a control (CC) without antioxidant additions. No other preservatives were added. A pasteurization step of 20 min at 100°C was applied. Samples were stored at room temperature for 20 weeks. Sampling for sensory analysis was performed after production, and at weeks 2, 4, 8, 12, 16 and 20. All samples were analyzed in triplicate. For statistical analysis a ANOVA followed by a Tukey test were applied (SPSS statistics 17.0).

The consumer acceptance test, performed with 100 people asked to classify two samples with two different pectin concentrations (0.2 and 0.5 % of pectin LMA), using a hedonic scale with nine descriptors, did not detected differences between samples and the 0.5 % LMA formulation was chosen based on their higher firmness of kiwi jam recorded by instrumental analysis.

The semi trained panel of 10 panelists did not found significant differences among formulations after production and along storage ( $p>0.05$ ) with respect to

---

CONTACTO: Manuela Vaz Velho [mvazvelho@estg.ipvc.pt](mailto:mvazvelho@estg.ipvc.pt)

1. CECAV-Centro de Ciência Animal e Veterinária, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal.

2. Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Escola Superior de Tecnologia e Gestão, Av. Atlântico, 4900-348 Viana do Castelo, Portugal.

general appearance (color, brightness, homogeneity), aroma (typical, kiwi, acidic and off-odors), texture (spreadability, distribution of pieces, mouth dissolving) and flavor (kiwi, sweet, acid, bitter and off-flavors).

Although significant differences ( $p < 0.05$ ) were found in flavor (typical), texture (adhesiveness and firmness) immediately after preparation, no differences in flavor were detectable by panelists in all sampling moments during storage.

## 2. INTRODUCTION

The kiwi *Actinidia* spp. is of Asian descent, specifically from China. The genus *Actinidia* has several species that produce edible fruits, such as *A. chinensis*, *A. arguta*, *A. kolomikta*, *A. polygama*, *A. eriantha* and *A. deliciosa*. The species *A. deliciosa* was the only commercially exploited on a large scale and there are several varieties (cultivars), and the most known and chosen by consumers, is the “Hayward” variety (Barros, 2007).

The consumption of fruit is essential, because it contains substances which are not synthesized by the human body, such as some vitamins (Lozano, 2006). The kiwi can be considered a highly healthy and nutritious fruit due to its high content in Vitamin C and its antioxidant activity. The aroma of kiwi is a result of a mixture of volatile compounds- a major factor in their acceptability by consumers, along with the sweetness and acidity. Comparing the varieties “Hayward” and “Hort16A” (fruits with distinctive appearance, green and yellow pulp, respectively) at flavor level, they are distinguishable because the Kiwi “Hayward” has a more acidic flavor, while the kiwi “Hort 16A” is sweet and has an intense tropical flavor (Garcia *et al.*, 2012).

These features make kiwi a fruit with high potential for industrial exploitation in the development of new products (Figoli *et al.*, 2010).

In the past, the production of marmalade, jam and/or jellies arose from the need to preserve the fruit in order to be consumed out of season (Baker *et al.*, 2005), and they are considered as traditional preservation methods. Nowadays, consumers are concerned about the appearance and safety of these food products. It is essential to obtain high quality products, being the demanded features, their nutritional value (content of vitamins, antioxidants, among others), natural color (to achieve a color close as possible to the fresh product) and the characteristic flavor and texture of the product. These requirements pose new challenges to manufacturers of proces-

sed fruits and vegetables, such as searching for new technologies and/or improvement of technologies used to preserve the nutritional and sensory quality demanded by consumers (Jongen, 2002).

### **3. MATERIALS AND METHODS**

#### **PRODUCTION PROCESS**

The fresh kiwi fruit was subjected to a pre-wash spray of water to remove any dust and then peeled and washed with water. Subsequently, the fruit was cut into pieces, of homogeneous dimensions, in order to promote uniform cooking. After that, all ingredients (water, 45 % of fruit, 40 % of sugar, 0.5 % of Amidated Low Methoxyl-Pectin (LMA) and the tested additives) were weighed, and subjected to a homogenization step followed by heat treatment (equipment with temperature control and stirring speed, Thermomix, Germany) at a controlled temperature of 100 °C for 20 minutes. Completed the heat treatment, hot-filling ( $T > 85$  °C) was carried out followed by the closure of the glass flasks with a metallic top. The flasks were cooled for 30 minutes until 15 °C were reached. After this rapid cooling, the flasks were stored at room temperature and protected from light.

Before the thermal processing the mix composition presented a 45 % of fruit but, as during the processing, there is an evaporation rate close to 20 %, the final product composition was 54g fruit/ 100g of final product.

#### **SAMPLING PROCEDURE**

Three assays, having the same base formulation, but varying the type of antioxidant added, were performed: A Control assay (no addition of antioxidants- citric acid and ascorbic acid) - CC; A second assay with addition of 0.05 % ascorbic acid - CAA; a third assay with addition of 0.1 % citric acid- AC. These products were stored for 20 weeks. Sampling was performed during the storage time (0, 2, 4, 8, 12, 16 and 20 weeks) to study the evolution of the sensory properties of the product.

#### **SENSORY METHODOLOGY**

A quantitative descriptive analysis (QDA) of the different samples over the time of storage, was carried out by a panel of ten semi-trained panelists. These pa-

nelists were trained in order to identify and memorize the main characteristics of the product. During training, the panelists discussed the attributes to evaluate, and the respective verbal anchors, to establish the definitive proof sheet. Sensory analysis sessions were held throughout the storage period (0, 2, 4, 8, 12, 16 e 20 weeks). In each session, a sample of the three formulations of kiwi jam (each sample properly coded with three digits) and a proof sheet, with a hedonic scale of 1 to 9, was given to each panelist.

#### **CONSUMER ACCEPTABILITY STUDY**

For the consumer acceptability study two formulations of fresh kiwi with a different pectin content (formulation “A” with 0.2 % Amidated Low MethoxylPectin (LMA) and formulation “B” with 0.5 % Amidated Low MethoxylPectin (LMA)), were presented to, approximately, 100 consumers of ESTG (School of Technology and Management).

A proof sheet, with a hedonic scale ranging from “Extremely pleasant” to “Extremely unpleasant”, and two samples with fresh kiwi “A” and sweet kiwi “B”, properly coded with three digits, was given to each consumer. The main objective of this survey was to determine the acceptability of the product, and also to check if the consumer detected differences in samples.

#### **STATISTICAL ANALYSIS**

The effects of formulation (control- CC, 0.1 % citric acid- CAC and 0.05 % ascorbic acid- CAA) and storage time (0, 2, 4, 8, 12, 16 and 20 weeks) of kiwi jam were individually analyzed by ANOVA. Whenever differences ( $p < 0.05$ ) were detected, means were compared using the Tukey-Kramer test. The relationship between variables was established using Pearson’s correlation. The analysis was performed using SPSS 17.0 software.

#### **4. RESULTS AND DISCUSSION**

The results of sensory analysis of the three formulations (CC, CAC and CAA), over 20 weeks of storage, are presented in tables 1, 2, 3 and 4.

The panelists did not detect significant differences between samples along storage ( $p$  (formulations)  $> 0.05$ ), with respect to the analyzed parameters: General

Appearance (color, brightness, homogeneity - Table 1); Aroma (characteristic jam aroma, the kiwi aroma, the acidic aroma and strange odors - Table 2); Texture (spreadability, distribution of pieces and dissolve in the mouth dissolving - Table 3) and Flavor (kiwi flavor, sweet taste, acid taste, bitter taste and off-flavor - Table 4). Although the panel found significant differences between the three formulations, immediately after preparation (Time 0,  $p$  (formulations)  $< 0.05$ ) on parameters such as: the characteristic flavor, adhesiveness and firmness, no differences were detectable in all sampling moments during storage ( $p$  (TA)  $> 0.05$ ). With respect to firmness, the sensory panel, in general, differentiate significantly the CAC formulation from other formulations, and in all cases the firmness value of CAC formulations was lower (Table 3). The firmness value of all formulations varied slightly along the storage time (TA), but these variations are not significant ( $p$  (TA)  $> 0.05$ ).

Regarding adhesiveness, the panel distinguished the CAC (CC and CAA) on storage time 16 ( $p$  (formulations)  $< 0.05$ ), and on storage time 20, the CAC formulation is significantly different from the CC formulation ( $p$  (formulations)  $< 0.05$ ), in both cases, the formulation CAC showing lower adhesiveness. The value of adhesiveness of each formulation varied slightly over storage, but these variations were not significant ( $p$  (TA)  $> 0.05$ ) (Table 3).

The sensory panel significantly distinguished the CC and CAC formulations ( $p$  (formulations)  $< 0.05$ ) in sampling time 0 (immediately after confection of the product), the CC formulation presenting with a higher rated characteristic taste. In the remaining storage times (2, 4, 8, 12, 16, 20), the characteristic taste parameter (value near 7) did not differ ( $p$  (formulations)  $> 0.05$ ). Throughout the storage time (TA), there is some variation on the characteristic flavor of the formulations (between 6 and 7), but these variations were not significant ( $p$  (TA)  $> 0.05$ ) (Table 4).

The results of the Consumer Acceptability study showed that the market surveyed in the School of Technology and Management appreciate the kiwi jam, either with 0.2 or 0.5 % of Amidated Low MethoxylPectin (LMA).

## 5. CONCLUSIONS

The results obtained in the sensory evaluation of the different formulations of kiwi jam, along the storage time of 20 weeks, allowed to conclude that formulations were only distinguishable in the parameters: characteristic flavor, adhesiveness and



firmness. The panel distinguished the formulations with respect the characteristic flavor, only on day 0, the CC formulation scoring higher on that parameter. With respect to adhesiveness only in the 20 week, the panel detected lower adhesiveness in CAC formulation compared to the others. Regarding the parameter firmness, the CAC formulation was distinguished from the others at all times of storage.

Consumer survey results allowed to conclude that this Kiwi product can be launched successfully in the market.

## 6. REFERENCES

- BARROS, S. (2007). Integrated methodologies for the conservation of kiwi minimally processed. Doctoral Dissertation in Agro-Industrial Engineering, Institute of Agronomy, Technical University of Lisbon, Lisbon, Portugal.
- BAKER, R. A.; Berry, N.; Hui, Y. and H. Barrett, D. M. (2005). Fruit Preserves and Jams. In: Processing Fruits, MD Barrett, Somogyi L, and H Ramaswamy (eds.).
- FIGOLI, A.; Tagarelli, A.; Cavaliere, B.; Voci, C.; Sindona, G.; Sikdar, SK and Drioli, E. (2010) Evaluation of pervaporation process of kiwifruit juice by SPME-GC / Ion Trap Mass Spectrometry. *Desalination*, 250 (3): 1113-1117.
- GARCIA, C. V.; Quek, S. Y.; Stevenson, RJ and Winz, RA (2012) Kiwifruit flavor: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 24 (2): 82-91.
- JONGEN, W. (2002). Introduction. In: *Fruit and Vegetable Processing*, Woodhead Publishing Ltd and CRC Press.
- LOZANO, J. L. (2006). Overview of the fruit processing industry. In: *Fruit Manufacturing*, Barbosa-Cánovas GV (ed.), Springer, Bahia Blanca, p. 1-19.

## 7. TABLES AND FIGURES

**TABLE 1.** Appearance of the kiwi jam – control (CC), kiwi jam with 0.1 % de citric acid (CAC) and kiwi jam with 0.05 % ascorbic acid (CAA), along the 20 weeks (TA)

| Parameters           | Weeks     |           |           |           |           |           |           | $P_{(TA)}$ |
|----------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|
|                      | 0         | 2         | 4         | 8         | 12        | 16        | 20        |            |
| <b>Appearance</b>    |           |           |           |           |           |           |           |            |
| <i>Colour</i>        |           |           |           |           |           |           |           |            |
| CC                   | 3.8 ± 1.3 | 4.6 ± 1.5 | 4.0 ± 1.5 | 4.8 ± 1.6 | 5.2 ± 1.7 | 5.7 ± 1.8 | 5.1 ± 1.8 | > 0.05     |
| CAC                  | 3.5 ± 1.4 | 4.8 ± 1.2 | 4.1 ± 1.6 | 4.6 ± 1.4 | 4.4 ± 2.1 | 4.7 ± 1.6 | 5.1 ± 1.4 | > 0.05     |
| CAA                  | 4.0 ± 1.2 | 4.3 ± 1.2 | 4.3 ± 1.7 | 4.3 ± 1.6 | 5.1 ± 1.8 | 5.0 ± 1.2 | 4.9 ± 1.6 | > 0.05     |
| $P_{(formulations)}$ | > 0.05    | > 0.05    | > 0.05    | > 0.05    | > 0.05    | < 0.05*   | > 0.05    |            |
| <i>Brightness</i>    |           |           |           |           |           |           |           |            |
| CC                   | 7.2 ± 2.3 | 6.8 ± 2.0 | 6.7 ± 1.3 | 7.3 ± 1.3 | 6.9 ± 1.5 | 6.5 ± 1.6 | 7.6 ± 1.3 | > 0.05     |
| CAC                  | 7.6 ± 1.6 | 6.9 ± 1.4 | 7.3 ± 1.2 | 7.3 ± 1.7 | 6.9 ± 1.7 | 7.1 ± 0.9 | 7.4 ± 1.2 | > 0.05     |
| CAA                  | 7.0 ± 1.6 | 7.0 ± 1.3 | 6.3 ± 2.0 | 7.4 ± 1.5 | 6.6 ± 1.6 | 7.3 ± 1.1 | 7.5 ± 1.3 | > 0.05     |
| $P_{(formulations)}$ | > 0.05    | > 0.05    | > 0.05    | > 0.05    | > 0.05    | > 0.05    | > 0.05    |            |
| <i>Homogeneity</i>   |           |           |           |           |           |           |           |            |
| CC                   | 7.0 ± 1.1 | 6.4 ± 1.9 | 7.0 ± 1.6 | 6.6 ± 2.1 | 6.6 ± 1.5 | 5.8 ± 2.2 | 5.5 ± 0.5 | > 0.05     |
| CAC                  | 6.4 ± 1.2 | 6.3 ± 1.8 | 6.6 ± 1.5 | 6.8 ± 1.4 | 7.2 ± 1.4 | 6.9 ± 2.0 | 6.0 ± 1.3 | > 0.05     |
| CAA                  | 6.1 ± 1.8 | 6.6 ± 1.6 | 6.6 ± 2.1 | 6.7 ± 1.7 | 7.3 ± 1.2 | 6.9 ± 1.7 | 6.4 ± 1.1 | > 0.05     |
| $P_{(formulations)}$ | > 0.05    | > 0.05    | > 0.05    | > 0.05    | > 0.05    | > 0.05    | > 0.05    |            |

\* - With the localization test for the difference of means used no differences were detected

**TABLE 2.** Odor of the kiwi jam – control (CC), kiwi jam with 0.1 % de citric acid (CAC) and kiwi jam with 0.05 % ascorbic acid (CAA), along the 20 weeks (TA)

| Parameters            | Weeks     |           |           |           |           |           |           | $P_{(TA)}$ |
|-----------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|
|                       | 0         | 2         | 4         | 8         | 12        | 16        | 20        |            |
| <b>Odour</b>          |           |           |           |           |           |           |           |            |
| <i>Characteristic</i> |           |           |           |           |           |           |           |            |
| CC                    | 6.8 ± 1.5 | 6.4 ± 1.4 | 6.7 ± 1.3 | 6.4 ± 2.1 | 6.4 ± 1.5 | 5.9 ± 1.5 | 6.3 ± 0.9 | > 0.05     |
| CAC                   | 6.9 ± 1.7 | 6.8 ± 1.2 | 6.9 ± 1.1 | 6.9 ± 1.4 | 5.7 ± 1.4 | 6.1 ± 1.5 | 6.3 ± 1.3 | > 0.05     |
| CAA                   | 7.1 ± 1.5 | 6.8 ± 0.6 | 6.6 ± 1.5 | 6.8 ± 2.0 | 6.3 ± 1.5 | 6.3 ± 1.5 | 6.1 ± 1.6 | > 0.05     |
| $P_{(formulations)}$  | > 0.05    | > 0.05    | > 0.05    | > 0.05    | > 0.05    | > 0.05    | > 0.05    |            |
| <i>Kiwi</i>           |           |           |           |           |           |           |           |            |
| CC                    | 7.2 ± 1.1 | 6.2 ± 1.7 | 6.1 ± 1.9 | 5.8 ± 2.1 | 6.2 ± 0.8 | 6.0 ± 1.4 | 6.4 ± 1.4 | > 0.05     |
| CAC                   | 7.1 ± 1.4 | 6.3 ± 1.6 | 6.3 ± 1.6 | 5.9 ± 2.1 | 5.7 ± 1.9 | 6.1 ± 1.3 | 6.1 ± 1.5 | > 0.05     |
| CAA                   | 6.8 ± 1.5 | 6.7 ± 1.2 | 6.0 ± 1.8 | 5.7 ± 2.2 | 6.2 ± 1.5 | 6.4 ± 1.4 | 5.9 ± 1.5 | > 0.05     |
| $P_{(formulations)}$  | > 0.05    | > 0.05    | > 0.05    | > 0.05    | > 0.05    | > 0.05    | > 0.05    |            |
| <i>Acidic</i>         |           |           |           |           |           |           |           |            |
| CC                    | 4.5 ± 1.6 | 3.6 ± 1.5 | 3.3 ± 2.6 | 3.3 ± 2.1 | 3.4 ± 2.6 | 3.3 ± 2.6 | 4.3 ± 2.0 | > 0.05     |
| CAC                   | 4.7 ± 2.0 | 3.8 ± 2.4 | 3.7 ± 2.4 | 3.9 ± 1.9 | 3.0 ± 2.6 | 3.4 ± 2.6 | 2.9 ± 1.1 | > 0.05     |
| CAA                   | 3.9 ± 1.8 | 4.4 ± 2.1 | 3.4 ± 2.4 | 4.0 ± 2.4 | 3.5 ± 3.2 | 3.6 ± 2.7 | 3.8 ± 1.9 | > 0.05     |
| $P_{(formulations)}$  | > 0.05    | > 0.05    | > 0.05    | > 0.05    | > 0.05    | > 0.05    | > 0.05    |            |
| <i>Off-odor</i>       |           |           |           |           |           |           |           |            |
| CC                    | 1.0 ± 0.0 | 1.1 ± 0.3 | 1.0 ± 0.0 | 1.0 ± 0.0 | 1.0 ± 0.0 | 1.2 ± 0.7 | 1.0 ± 0.0 | > 0.05     |
| CAC                   | 1.0 ± 0.0 | 1.0 ± 0.0 | 1.0 ± 0.0 | 1.1 ± 0.3 | 1.0 ± 0.0 | 1.0 ± 0.0 | 1.0 ± 0.0 | > 0.05     |
| CAA                   | 1.0 ± 0.0 | 1.0 ± 0.0 | 1.0 ± 0.0 | 1.0 ± 0.0 | 1.0 ± 0.0 | 1.0 ± 0.0 | 1.0 ± 0.0 | > 0.05     |
| $P_{(formulations)}$  | Φ         | > 0.05    | Φ         | > 0.05    | Φ         | > 0.05    | Φ         |            |

Φ – the variable does not have the conditions for calculation.

**TABLE 3.** Texture of the kiwi jam – control (CC), kiwi jam with 0.1 % de citric acid (CAC) and kiwi jam with 0.05 % ascorbic acid (CAA), along the 20 weeks (TA)

| Parameters                    | Weeks                   |                         |                        |                        |                        |                         |                         | <i>P</i> (TA) |
|-------------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|---------------|
|                               | 0                       | 2                       | 4                      | 8                      | 12                     | 16                      | 20                      |               |
| <b>Texture</b>                |                         |                         |                        |                        |                        |                         |                         |               |
| <i>Hardness</i>               |                         |                         |                        |                        |                        |                         |                         |               |
| CC                            | 2.7 ± 1.3 <sup>ab</sup> | 3.6 ± 1.5 <sup>ab</sup> | 3.8 ± 0.8 <sup>b</sup> | 3.7 ± 0.9 <sup>b</sup> | 3.3 ± 1.6 <sup>b</sup> | 2.9 ± 1.2 <sup>ab</sup> | 3.9 ± 1.1 <sup>b</sup>  | > 0.05        |
| CAC                           | 2.1 ± 0.9 <sup>a</sup>  | 2.7 ± 0.9 <sup>a</sup>  | 2.4 ± 0.5 <sup>a</sup> | 2.4 ± 0.5 <sup>a</sup> | 2.4 ± 1.6 <sup>a</sup> | 2.3 ± 0.9 <sup>a</sup>  | 2.3 ± 0.9 <sup>a</sup>  | > 0.05        |
| CAA                           | 3.5 ± 1.6 <sup>b</sup>  | 3.9 ± 1.5 <sup>b</sup>  | 3.7 ± 0.8 <sup>b</sup> | 3.7 ± 0.5 <sup>b</sup> | 3.2 ± 1.6 <sup>b</sup> | 3.4 ± 1.1 <sup>b</sup>  | 2.6 ± 1.1 <sup>ab</sup> | > 0.05        |
| <i>P</i> (formulations)       | < 0.05                  | < 0.05                  | < 0.01                 | < 0.05                 | < 0.05                 | < 0.01                  | < 0.05                  |               |
| <i>Spreadability</i>          |                         |                         |                        |                        |                        |                         |                         |               |
| CC                            | 7.7 ± 1.3               | 6.6 ± 1.3               | 7.0 ± 1.7              | 6.4 ± 2.2              | 6.9 ± 0.8              | 7.3 ± 0.9               | 6.8 ± 0.4               | > 0.05        |
| CAC                           | 7.8 ± 1.4               | 7.3 ± 1.9               | 7.1 ± 1.3              | 6.9 ± 1.8              | 7.8 ± 1.3              | 7.7 ± 0.5               | 7.3 ± 0.8               | > 0.05        |
| CAA                           | 7.0 ± 2.0               | 6.9 ± 1.4               | 6.0 ± 1.0              | 6.8 ± 1.6              | 7.4 ± 1.1              | 7.4 ± 1.0               | 6.6 ± 1.3               | > 0.05        |
| <i>P</i> (formulations)       | > 0.05                  | > 0.05                  | > 0.05                 | > 0.05                 | > 0.05                 | > 0.05                  | > 0.05                  |               |
| <i>Adhesiveness</i>           |                         |                         |                        |                        |                        |                         |                         |               |
| CC                            | 3.1 ± 1.8               | 4.1 ± 2.1               | 3.6 ± 2.4              | 4.4 ± 2.8              | 4.6 ± 2.0              | 5.2 ± 2.5 <sup>b</sup>  | 4.9 ± 2.0 <sup>b</sup>  | > 0.05        |
| CAC                           | 3.2 ± 2.1               | 3.5 ± 2.2               | 3.6 ± 2.4              | 3.7 ± 2.3              | 4.0 ± 2.1              | 4.1 ± 2.1 <sup>a</sup>  | 3.8 ± 1.3 <sup>a</sup>  | > 0.05        |
| CAA                           | 3.7 ± 2.0               | 4.4 ± 2.0               | 3.9 ± 2.7              | 4.2 ± 2.9              | 4.8 ± 2.2              | 5.4 ± 2.4 <sup>b</sup>  | 4.6 ± 2.5 <sup>ab</sup> | > 0.05        |
| <i>P</i> (formulations)       | > 0.05                  | > 0.05                  | > 0.05                 | > 0.05                 | > 0.05                 | < 0.01                  | < 0.05                  |               |
| <i>Distribution of pieces</i> |                         |                         |                        |                        |                        |                         |                         |               |
| CC                            | 6.6 ± 1.1               | 6.2 ± 2.0               | 7.1 ± 1.5              | 6.2 ± 1.8              | 6.9 ± 1.3              | 6.0 ± 2.2               | 5.8 ± 1.6               | > 0.05        |
| CAC                           | 6.5 ± 1.7               | 6.4 ± 2.4               | 6.9 ± 1.2              | 6.6 ± 1.8              | 7.4 ± 1.4              | 6.9 ± 1.4               | 5.6 ± 0.9               | > 0.05        |
| CAA                           | 6.4 ± 2.0               | 6.8 ± 1.7               | 6.6 ± 1.8              | 6.2 ± 1.8              | 7.0 ± 1.1              | 7.0 ± 0.9               | 6.0 ± 1.3               | > 0.05        |
| <i>P</i> (formulations)       | > 0.05                  | > 0.05                  | > 0.05                 | > 0.05                 | > 0.05                 | > 0.05                  | > 0.05                  |               |
| <i>Mouth dissolving</i>       |                         |                         |                        |                        |                        |                         |                         |               |
| CC                            | 7.1 ± 0.8               | 6.8 ± 1.5               | 7.6 ± 1.4              | 7.1 ± 1.5              | 7.4 ± 1.3              | 6.8 ± 1.8               | 5.8 ± 2.6               | > 0.05        |
| CAC                           | 7.6 ± 1.1               | 7.8 ± 1.2               | 7.7 ± 1.0              | 7.4 ± 1.6              | 7.0 ± 1.2              | 7.4 ± 1.1               | 6.6 ± 1.3               | > 0.05        |
| CAA                           | 7.6 ± 1.3               | 7.1 ± 1.4               | 7.4 ± 1.6              | 7.2 ± 1.7              | 7.3 ± 1.3              | 6.7 ± 1.4               | 5.4 ± 2.1               | > 0.05        |
| <i>P</i> (formulations)       | > 0.05                  | > 0.05                  | > 0.05                 | > 0.05                 | > 0.05                 | > 0.05                  | > 0.05                  |               |

a, b – Means followed by the different lowercase letter are significantly different ( $p < 0.05$ ).

**TABLE 4.** Sensory characteristics of the taste of the kiwi jam – control (CC), kiwi jam with 0.1 % de citric acid (CAC) and kiwi jam with 0.05 % ascorbic acid (CAA), along the 20 weeks (TA)

| Flavor Parameters       | k <sub>s</sub> Weeks    |           |           |           |           |           |           | <i>P</i> (TA) |
|-------------------------|-------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|---------------|
|                         | 0                       | 2         | 4         | 8         | 12        | 16        | 20        |               |
| <i>Characteristic</i>   |                         |           |           |           |           |           |           |               |
| CC                      | 7.4 ± 1.3 <sup>b</sup>  | 6.7 ± 1.9 | 6.9 ± 1.3 | 7.3 ± 1.7 | 6.6 ± 1.3 | 6.2 ± 1.5 | 6.8 ± 1.3 | > 0.05        |
| CAC                     | 6.5 ± 1.7 <sup>a</sup>  | 6.6 ± 1.4 | 6.7 ± 1.4 | 7.3 ± 1.4 | 6.8 ± 1.2 | 6.7 ± 1.4 | 6.3 ± 1.6 | > 0.05        |
| CAA                     | 6.9 ± 1.5 <sup>ab</sup> | 7.0 ± 1.3 | 7.0 ± 1.2 | 7.4 ± 1.2 | 6.8 ± 1.3 | 6.8 ± 1.4 | 6.6 ± 1.1 | > 0.05        |
| <i>P</i> (formulations) | < 0.05                  | > 0.05    | > 0.05    | > 0.05    | > 0.05    | > 0.05    | > 0.05    |               |
| <i>Kiwi</i>             |                         |           |           |           |           |           |           |               |
| CC                      | 7.3 ± 1.4               | 6.4 ± 1.6 | 6.6 ± 1.7 | 6.6 ± 2.1 | 6.3 ± 1.4 | 5.9 ± 1.8 | 6.3 ± 1.9 | > 0.05        |
| CAC                     | 6.8 ± 1.9               | 6.1 ± 1.7 | 6.6 ± 1.5 | 6.9 ± 1.9 | 6.3 ± 1.7 | 6.2 ± 1.9 | 5.8 ± 2.0 | > 0.05        |
| CAA                     | 6.7 ± 1.8               | 6.6 ± 1.6 | 6.6 ± 1.4 | 6.9 ± 2.0 | 6.2 ± 1.1 | 6.4 ± 1.7 | 6.3 ± 1.6 | > 0.05        |
| <i>P</i> (formulations) | > 0.05                  | > 0.05    | > 0.05    | > 0.05    | > 0.05    | > 0.05    | > 0.05    |               |
| <i>Sweet</i>            |                         |           |           |           |           |           |           |               |
| CC                      | 7.0 ± 1.8               | 6.8 ± 2.2 | 6.3 ± 0.8 | 6.2 ± 1.8 | 6.6 ± 1.2 | 6.7 ± 1.2 | 6.0 ± 1.1 | > 0.05        |
| CAC                     | 7.7 ± 1.2               | 6.8 ± 1.7 | 6.5 ± 0.5 | 6.7 ± 1.7 | 6.6 ± 1.3 | 6.2 ± 1.5 | 6.3 ± 2.0 | < 0.05*       |
| CAA                     | 6.7 ± 2.2               | 7.0 ± 1.3 | 6.5 ± 1.0 | 6.2 ± 1.1 | 7.1 ± 1.4 | 6.6 ± 0.9 | 5.5 ± 1.5 | < 0.05*       |
| <i>P</i> (formulations) | > 0.05                  | > 0.05    | > 0.05    | > 0.05    | > 0.05    | > 0.05    | > 0.05    |               |
| <i>Acid</i>             |                         |           |           |           |           |           |           |               |
| CC                      | 5.1 ± 2.1               | 4.6 ± 1.8 | 3.6 ± 2.6 | 4.7 ± 2.0 | 3.8 ± 2.5 | 5.5 ± 1.5 | 4.0 ± 2.1 | > 0.05        |
| CAC                     | 4.7 ± 2.5               | 5.2 ± 2.3 | 4.4 ± 1.9 | 4.7 ± 1.8 | 4.4 ± 2.6 | 5.9 ± 1.7 | 5.0 ± 1.9 | > 0.05        |
| CAA                     | 5.1 ± 2.3               | 4.9 ± 2.0 | 4.6 ± 2.5 | 4.4 ± 1.8 | 4.2 ± 2.8 | 5.0 ± 1.7 | 4.5 ± 2.7 | > 0.05        |
| <i>P</i> (formulations) | > 0.05                  | > 0.05    | > 0.05    | > 0.05    | > 0.05    | > 0.05    | > 0.05    |               |
| <i>Bitter</i>           |                         |           |           |           |           |           |           |               |
| CC                      | 1.2 ± 0.4               | 1.3 ± 0.7 | 1.4 ± 0.8 | 1.3 ± 0.7 | 1.1 ± 0.3 | 1.3 ± 0.7 | 1.4 ± 0.5 | > 0.05        |
| CAC                     | 1.4 ± 0.7               | 1.7 ± 0.8 | 2.0 ± 1.2 | 1.7 ± 1.0 | 1.1 ± 0.3 | 1.8 ± 1.6 | 1.5 ± 0.8 | > 0.05        |
| CAA                     | 2.0 ± 1.5               | 2.0 ± 1.7 | 1.7 ± 1.1 | 1.3 ± 0.5 | 1.1 ± 0.3 | 1.1 ± 0.3 | 1.6 ± 0.7 | > 0.05        |
| <i>P</i> (formulations) | > 0.05                  | > 0.05    | > 0.05    | > 0.05    | Φ         | > 0.05    | > 0.05    |               |
| <i>Strange</i>          |                         |           |           |           |           |           |           |               |
| CC                      | 1.0 ± 0.0               | 1.0 ± 0.0 | 1.0 ± 0.0 | 1.0 ± 0.0 | 1.0 ± 0.0 | 1.0 ± 0.0 | 1.1 ± 0.4 | > 0.05        |
| CAC                     | 1.0 ± 0.0               | 1.4 ± 1.3 | 1.1 ± 0.4 | 1.0 ± 0.0 | 1.0 ± 0.0 | 1.0 ± 0.0 | 1.0 ± 0.0 | > 0.05        |
| CAA                     | 1.0 ± 0.0               | 1.3 ± 0.9 | 1.1 ± 0.4 | 1.0 ± 0.0 | 1.0 ± 0.0 | 1.0 ± 0.0 | 1.0 ± 0.0 | > 0.05        |
| <i>P</i> (formulations) | Φ                       | > 0.05    | > 0.05    | Φ         | Φ         | Φ         | > 0.05    |               |

(Φ – the variable does not have the conditions for calculation; a, b – Means followed by the different lowercase letter are significantly different ( $p < 0.05$ ))

# EFFECTO DEL TAMAÑO DE PORO DE MEMBRANA SOBRE VARIABLES DE PROCESO DE MICROFILTRADO DEL JUGO DE MANGO

Tonny García-Rujano<sup>1</sup>, Alexia Torres<sup>2</sup>

## 1. RESUMEN

Uno de los grandes problemas del uso de sistema de membranas en la clarificación de jugos de frutas pulposas, es el decrecimiento del flujo de permeado con la consecuencia inmediata, del incremento de la resistencia de la membrana y una disminución progresiva del permeado, este fenómeno es conocido como ensuciamiento, lo cual ocasiona paradas en el proceso para realizar limpieza o remoción de esta torta. En este trabajo se evaluó el efecto del tamaño de poro de la membrana sobre los cambios que ocurren en el flujo de permeado y las resistencias intrínsecas de la membrana, al utilizar un jugo de mango tratado con enzima comerciales (Pectinex ultra sp; 100 ppm) y centrifugado. Se usaron membranas de polifluoruro de vinilideno a dos tamaños de poros de 0,22 y 0,45  $\mu\text{m}$  y un área efectiva de filtrado de 0,1  $\text{m}^2$  a velocidad tangencial de 4  $\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$ . Para el cálculo del flujo de permeado se utilizó la ecuación  $J = mp / (t \cdot A)$ : Donde: A, el área efectiva de filtrado de la membrana, t el tiempo donde se tomo el valor de la masa del permeado (mp). La resistencia de la membrana se determino mediante la ecuación  $R_m = \Delta P / (\mu_w \cdot J_w)$ .  $\Delta P$  presión transmembrana ( $\text{Nm}^{-2}$ ),  $\mu_w$  la viscosidad del agua ( $\text{NSm}^{-2}$ ) y  $J_w$  el flujo de permeado de la membrana antes de la prueba ( $\text{kg}/\text{m}^2\text{s}$ ). El efecto causado por el tamaño de poro en la membrana, se determinó mediante análisis de varianza y prueba de media Tuckey al 5%. Al comparar el comportamiento del  $J_p$  en ambos tamaño de poro, se encontró que no existe diferencia significativa ( $p > 0,05$ ). La Resistencia a la mem-

---

CONTACTO: Tonny García-Rujano [tonnygarcia@ucla.edu.ve](mailto:tonnygarcia@ucla.edu.ve)

1. Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado. Departamento de Ecología y Control de Calidad, Decanato de Agronomía, UCLA. Lara – Venezuela.

2. Universidad Simón Bolívar. Departamento de Procesos Biológicos y Bioquímicos, Doctorado en Ciencias de Alimentos USB. Caracas – Venezuela.

brana fue de  $1,20 \cdot 10^8 \text{ m}^2 \cdot \text{Kg}^{-1}$  para el diámetro de  $0,22 \text{ }\mu\text{m}$  y para  $0,45 \text{ }\mu\text{m}$  se estableció en  $1,08 \cdot 10^8 \text{ m}^2 \cdot \text{Kg}^{-1}$ . Mientras que el rango de Resistencia al ensuciamiento ( $R_f$ ) incrementa desde  $1,25 \cdot 10^9 \text{ m}^2 \cdot \text{Kg}^{-1}$  hasta presiones de  $6,18 \cdot 10^9 \text{ m}^2 \cdot \text{Kg}^{-1}$  cuando se utiliza porosidades de  $0,22 \text{ }\mu\text{m}$ , en contraparte, la porosidad de  $0,45 \text{ }\mu\text{m}$  registró variaciones inferiores, con valores entre  $1,25$  a  $6,77 \cdot 10^9 \text{ m}^2 \cdot \text{Kg}^{-1}$ . Un aumento en el diámetro de poro de la membrana no consigue una mejora significativa en el flujo de permeado, ni afecta la resistencia de la membrana y al ensuciamiento. La no influencia del tamaño de poro sobre las variables del proceso de microfiltración, conlleva a recomendar la utilización de la membrana de  $0,22 \text{ }\mu\text{m}$ , ya que un menor tamaño podría garantizar la inocuidad del jugo de mango clarificado.

## 2. INTRODUCCIÓN

El sector del procesamiento y comercialización de jugos y bebidas a base de mangos en Venezuela está en una fase inicial y esto se evidencia fácilmente cuando se observan dos marcas comerciales de néctar o jugos, que contienen pulpa de mango o la mezcla con otras frutas (García-Rujano, 2014). El proceso tecnológico de elaboración de estos jugos se basa en procesos de transformación convencional o transferencia de calor; siendo bien conocidos los efectos que tienen los procesos térmicos de los jugos sobre las características sensoriales y nutricionales, los cuales en muchos casos conllevan al uso de aditivos y a la fortificación de los mismos.

A nivel internacional, la industria de jugos de frutas ha abordado este reto aplicando las nuevas tecnologías de procesamientos no térmicos como por ejemplo, alta presión hidrostática, pulsos eléctricos, microfiltración, empacado aséptico, ultrasonido, ultravioleta, entre otros (García-Rujano *et al.*, 2014a).

Una forma novedosa de obtener jugos de alta calidad es mediante la utilización de la técnica de microfiltración o las llamadas tecnologías de membranas, que en comparación con los métodos tradicionales, son menos costosas (menor uso de personal, menos operaciones unitarias y menor consumo de energía), no involucra procesos térmicos, cambios de fase o adición de agentes químicos. Todos estos factores son importantes en un mercado donde se busca producir jugos de sabor fresco, natural y, sobre todo, con la mínima o nula adición de aditivos (Cassano *et al.*, 2010).

La microfiltración tangencial (MFT) está basada en la teoría de la filtración descrita por la ley de Darcy, en el cual el flujo de permeado es función de la presión trans-

membrana y de una resistencia total. En condiciones ideales, únicamente la configuración de la membrana (forma y tamaño de poros y espesor de la membrana) daría una resistencia intrínseca ( $R_m$ ) (García-Rujano y Torres, 2013). Choi *et al.* (2005) manifestaron que la membrana será capaz de transportar unos compuestos más fácil que otros, provocando una acumulación de moléculas en la superficie de la membrana y generando una resistencia a la transferencia de masa, llamada polarización de la concentración ( $R_c$ ), ocasionada por el contrabalance de los moles de solutos que tienden a pasar por la membrana y aquellos que se difunden hacia el seno del líquido.

El proceso de elaboración de un jugo clarificado de mango mediante MFT fue estudiado anteriormente, para determinar el flujo de permeado ( $J_p$ ) al utilizar jugo con pretratamiento enzimático y no pretratado. Sin embargo, en dicho estudio no se logro obtener valores satisfactorios del  $J_p$ , ya que se llevo a cabo el proceso MFT sin diluir la pulpa y sin optimizar parámetros como: el tamaño del poro de la membrana, la presión transmembrana (PTM) y la velocidad tangencial del proceso. Además no se empleo un tratamiento de centrifugado que podría mejorar los parámetros mencionados (Brito *et al.*, 2010), como fue el utilizado en esta investigación.

El colmataje suele provocar un acentuado decline inicial del flujo del permeado (Tong *et al.*, 1988), el cual paulatinamente alcanza un estado casi estable, lo cual no impide que el flujo siga bajando lentamente hasta en generar en pocas horas caudales significativamente menores al inicial (Krstic *et al.*, 2003). No solo se registran las antes mencionadas reducciones del flujo de permeado, sino que a causa del colmataje la membrana pierde selectividad (Brans *et al.*, 2004). Según Girard y Fukomoto, (2000), los principales parámetros de operación que deben ser controlados durante el proceso de microfiltración por su incidencia en el flujo de permeado son: velocidad tangencial ( $U$ ); temperatura; PTM y el factor de reducción volumétrico (FRV), además de la porosidad o tamaño del poro de la membrana a utilizar. Por lo antes expuesto en esta investigación se deseo saber ¿si existiría diferencia en el  $J_p$  por el uso de diferentes porosidades de la membrana al microfiltrar jugo de mango con enzimas - centrifugado?

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

Se modelaron los cambios que ocurren en el flujo de permeado y las resistencias causadas a la membrana a diferentes tiempo de microfiltrado utilizando membranas de PDFV a dos tamaños de poros de 0,22 y 0,45  $\mu\text{m}$  y un área efectiva de filtrado de 0,1  $\text{m}^2$ .

Partiendo de un jugo de mango con pretratamiento enzimáticamente-centrifugado, obtenido de acuerdo a lo planteado por García-Rujano *et al.* (2012) y García-Rujano *et al.* (2014b), se cargó el sistema, bombeando al tanque balanza del equipo un volumen cercano a 10 L de jugo de mango, luego se pasó por el microfiltrador a presión constante (1 Bar) y velocidad tangencial de 4 m/s, y se realizaron muestreos cada 10 minutos durante una hora: 5; 15; 25; 35; 45; 55 minutos. Este protocolo se realizó por cada tamaño de poro de membrana, se repitió cuatro veces, para cada tiempo.

El flujo de permeado, se calculo de acuerdo a lo sugerido por Ushikubo *et al.* (2007). Colocando un beaker como recolector de permeado sobre una balanza electrónica (con precisión de 0,001 g). Para el cálculo del flujo de permeado se utilizó la ecuación  $J = mp / (t \cdot A)$ , y luego se graficó la curva de J contra t. Donde: A, el área efectiva de filtrado de la membrana, t el tiempo donde se tomo el valor de la masa del permeado (mp).

Resistencia de la membrana, el cálculo de la resistencia de la membrana se realizó siguiendo lo sugerido por Mirsaedghazi *et al.* (2010). Mediante la ecuación 1:

$$R_m = \frac{\Delta P}{\mu_w J_w} \quad (1)$$

Donde:  $R_m$  fue la resistencia de la membrana,  $\Delta P$  fue la presión transmembrana ( $Nm^{-2}$ ),  $\mu_w$  fue la viscosidad del agua ( $Nsm^{-2}$ ) y  $J_w$  fue el flujo de permeado de la membrana antes de la prueba ( $kg/m^2s$ ).

La resistencia al ensuciamiento ( $R_f$ ) se calculo usando la ecuación 2:

$$R_f = \frac{\Delta P}{\mu_p J_p} - R_m \quad (2)$$

Donde:  $\mu_p$  es la viscosidad del permeado del jugo de mango ( $Nsm^{-2}$ ) y  $J_p$  es el flujo del permeado en el tiempo ( $kg/m^2s$ ).

La resistencia a la suciedad incluye adicionalmente la resistencia de capas ( $R_c$ ), reversible ( $R_{frev}$ ) e irreversible ( $R_{firr}$ ). Para este estudio se considero cero  $R_c$ ,  $R_{frev}$  y  $R_{firr}$  de acuerdo a lo planteado por García-Rujano y Torres (2013).

Las técnicas de análisis de datos fueron las representaciones gráficas en el tiempo con períodos de 10 minutos entre mediciones y el valor de la respuesta fue el valor promedio y la desviación estándar de las cinco determinaciones por cada variable a estudiar.

El efecto causado por el tamaño de poros en la membrana y el tiempo de microfiltración, se determinó mediante un análisis de varianza (ANDEVA) multivariado a un nivel de significancia de 5 %, y se aplicó prueba de media Tuckey al 5 %, para identificar el grado de diferenciación en cada respuesta.

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las variaciones de flujo a lo largo del tiempo de microfiltrado responde a las formas clásicas de las curvas en los procesos de microfiltración y ultrafiltración mencionadas por De Barros *et al.*, (2003) y Montero, (2008); una primera etapa transitoria donde el flujo decrece rápidamente con el tiempo (40 minutos en este estudio) y una segunda donde el  $J_p$  tiende a alcanzar un valor estacionario o de poca variación, en este ensayo fue de  $50 - 40 \text{ L} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$  (Figura 1).

Según lo expuesto por Cassano *et al.* (2004), en una primera fase se da una rápida reducción del flujo, seguido por un período de reducción más leve e inconstante que depende de las características de la membrana y el fluido. Se tiene luego una tercera fase donde se estabiliza el flujo con una disminución logarítmica. Si se ubica estas tres fases en la Figura 1, para el estudio se podría fácilmente ubicar la primera en rango de tiempo 0 – 50 minutos, la segunda estaría ocurriendo en el lapso de 50 – 120 minutos, pero la tercera fase descrita por los autores no se presentó, ya que no se observó una caída logarítmica del flujo de permeado en el tiempo de proceso, este comportamiento del  $J_p$  obedece a la baja viscosidad del jugo de mango hidrolizado y centrifugado, ya que al usar el tratamiento enzimático, se obtiene una reducción en la viscosidad y en el contenido de sólidos insolubles del jugo, sin embargo al aplicar una centrifugación adicional, que es el caso de este estudio, la reducción es mayor tal como lo demostró Brito *et al.* (2010).

La diferencia del comportamiento de flujos encontrados en este estudio, con respecto a los publicados en jugo de mango por Ávila *et al.* (2010); jugo de tamarindo por Watanabe *et al.* (2006); jugo de umbu (*Spondias tuberosa* Arr. Cam.) por Ushikubo *et al.* (2007), se debe principalmente a las características químicas del fluido de alimentación, ya que éste contiene bajas concentraciones de material fibroso (pectinas, celulosa entre otras) por acción del pretratamiento enzimático utilizado en el ensayo y materias sólidas por efecto de la centrifugación previa, lo



cual produce flujos estacionarios similares a los que ocurren al filtrar fluidos de baja viscosidad (Vera, 2008; Brito *et al.*, 2010).

Al comparar el comportamiento del  $J_p$  en ambos tamaño de poro, se encontró que no existe diferencia significativa ( $p > 0,05$ ), por lo tanto, un aumento en el diámetro de poro de la membrana no consigue una mejora significativa en el  $J_p$  del jugo de mango bocado.

La  $R_m$  fue de  $1,20 \cdot 10^8 \text{ m}^2 \cdot \text{Kg}^{-1}$  para el diámetro de  $0,22 \text{ }\mu\text{m}$  y para  $0,45 \text{ }\mu\text{m}$  se estableció en  $1,08 \cdot 10^8 \text{ m}^2 \cdot \text{Kg}^{-1}$  (Figura 2). Mientras que el rango de  $R_f$  incrementa desde  $1,25 \times 10^9 \text{ m}^2 \cdot \text{Kg}^{-1}$  hasta presiones de  $6,18 \times 10^9 \text{ m}^2 \cdot \text{Kg}^{-1}$  cuando se utiliza porosidades de  $0,22 \text{ }\mu\text{m}$ , en contraparte, la porosidad de  $0,45 \text{ }\mu\text{m}$  registró variaciones inferiores, con valores entre  $1,25 - 6,77 \times 10^9 \text{ m}^2 \cdot \text{Kg}^{-1}$ . Este fenómeno del incremento del  $R_f$  viene ligado a la disminución del  $J_p$  en el tiempo, que se observó en la Figura 1.

La porosidad de  $0,45 \text{ }\mu\text{m}$  posee menor grado de obstrucción por las partículas del jugo de mango, aunque no se encontró diferencia significativa entre ambas porosidades ( $p > 0,05$ ) con respecto a la  $R_f$  de la membrana en el tiempo de microfiltrado.

Los valores de  $R_f$  encontrados en este estudio, fueron inferiores a los publicados por Mirsaedghazi *et al.* (2010) en jugo de granada (*Punica granatum*, *Punicaceae*), con  $R_f$  de  $4,43 \cdot 10^{10} \text{ m}^2 \cdot \text{Kg}^{-1}$  para porosidad de  $0,22 \text{ }\mu\text{m}$  y  $1,29 \cdot 10^{10} \text{ m}^2 \cdot \text{Kg}^{-1}$  para diámetro de  $0,45 \text{ }\mu\text{m}$ . La razón de esta diferencia es el grado de obstrucción de la membrana por el efecto de los componentes orgánicos (pectinas, almidones, celulosa entre otros), los cuales forma el fenómeno de polarización de la concentración en el ensayo presento por Mirsaedghazi *et al.* (2010).

La resistencia intrínseca de la membrana represento una pequeña porción al final del periodo de microfiltración (10-17%), mientras que la resistencia al ensuciamiento estuvo alrededor del 80 al 90% (Figura 2), ésta diferencia se debe entre otras causa a la acumulación inherente que ocurre de depósitos de partículas más pequeñas que los poros, adsorbiéndose sobre la superficie de la membrana. Ya que en los procesos con membranas donde se utilizan poros muy pequeños de diámetro como la ultrafiltración, pequeña partículas tiende a ser rechazado por la membrana y son depositados en la superficie, lo que contribuye a la formación de la capa de polarización, como han reportado algunos estudios de microfiltración y ultrafiltración (Cassano *et al.*, 2010).

## 5. CONCLUSIONES

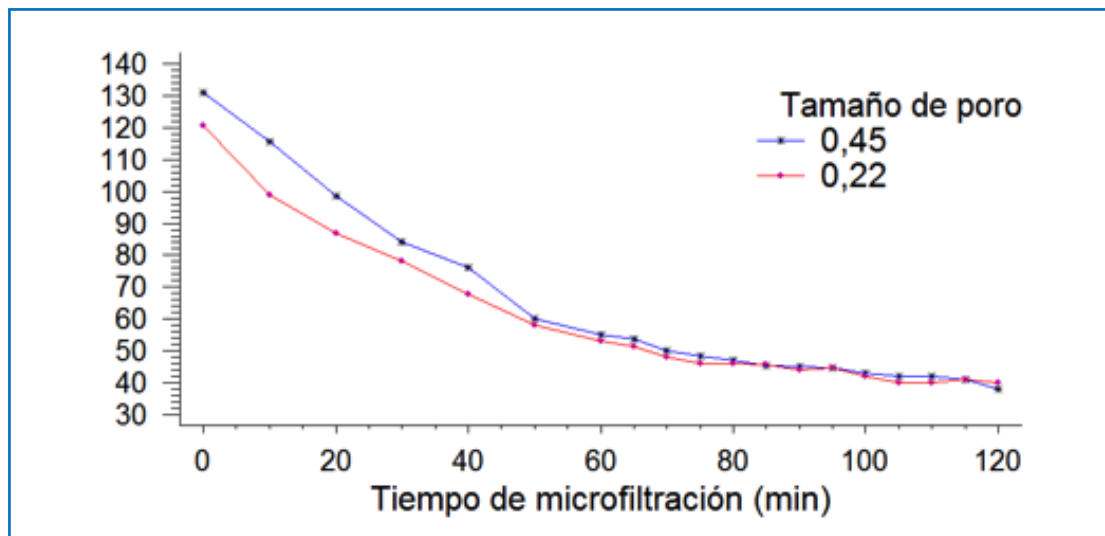
El tamaño de poro de la membrana y el tiempo de microfiltración no influye en las variables intrínsecas y flujo de permeado del proceso de microfiltración tangencial, cuando se utiliza diámetros de poros entre 0,22 – 0,45  $\mu\text{m}$ . La no influencia del tamaño de poro sobre el flujo de permeado y la resistencia al ensuciamiento conlleva a recomendar la utilización de la membrana de 0,22  $\mu\text{m}$ , ya que de acuerdo a los resultados no existiría diferencia en variables del proceso, adicionalmente la selección del menor tamaño podría garantizar la inocuidad del jugo de mango clarificado.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

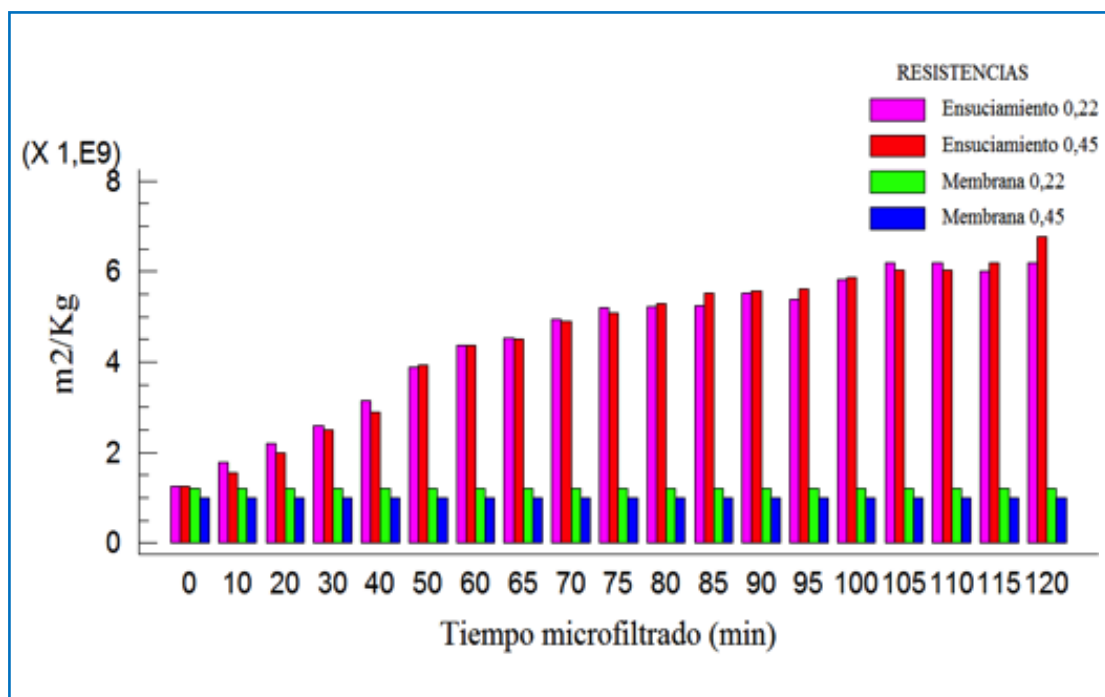
- ÁVILA, D., Esté, O. y García-Rujano, T. (2010). Microfiltración para mejorar la calidad de jugos tropicales. Trabajo especial de grado “Ingeniero Agroindustrial. Sin publicar. UNELLEZ-Cojedes, Venezuela. 58 pag.
- BRANS, G., Schöen, C., Van Der San, R., y Boom, R. (2004). Membrane fractionation of milk: state of the art and challenges. *J. Memb. Sci.* 243: 263–272
- BRITO, B., Picho, L., Vera, E., Vaillant, F. (2010). Estudio de las condiciones óptimas de operación para la obtención de granadilla (*Passiflora Ligularis L.*) a través de la microfiltración tangencial. *ESPOL – RTE.* 23 (2): 49 -55.
- CASSANO, A., Jiao, B y Drioli, E. (2004). Production of concentrated kiwifruit juice by integrated membrane processes. *Food Research Intern.* 37 (2): 139–148.
- CASSANO, A., Coindi, C., y Drioli, E. (2010). Physico-chemical parameters of cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) juice clarified by microfiltration and ultrafiltration processes. *Desalination.* 250: 1101-1104.
- CHOI, H., Zhang, K., Dionysiou, D., Oesther, D y Sorial, G. (2005). Influence of cross-flow velocity on membrane performance during filtration of biological suspension. *J. Memb. Sci.* 248: 189 -199.
- DE BARROS, S., Andrade, C., Mendes, E y Peres, L. (2003). Study of fouling mechanism in pineapple juice clarification by ultrafiltración. *J. Memb. Sci.* 215: 213 – 224.
- GARCÍA-RUJANO, T y Torres A. (2013). Efecto del tamaño de poro de la membrana sobre el flujo de permeado en el proceso de microfiltración de jugo de mango. XX Jornadas técnicas de investigación y IV de Postgrado del Vicerrectorado de Infraestructura y procesos Industriales San Carlos - Cojedes. 30 – 31 de octubre de 2013. *Memorias 3:* 85- 88.

- GARCÍA-RUJANO, T. (2014). Aplicación de microfiltración para obtener jugo de mango bocado (*Mangifera indica*). Tesis doctoral para optar al título de doctor en ciencia de los alimentos. Universidad Simón Bolívar USB – Venezuela. 176 pág.
- GARCÍA-RUJANO, T., Torres, A., Escobar, I y Betancourt, R. (2014a). Efecto del proceso de microfiltración tangencial sobre las características físicas y químicas del jugo de mango clarificado. *AGROLLANÍA*. 11: 29 – 36.
- GARCÍA-RUJANO, T., Torres, A., Fernández, J y Martínez, J. (2014b). Evaluación del pretratamiento enzimático en el proceso de clarificación de un jugo de mango “bocado”. Enviado para revisión a la *Rev. Ing. UCV – Venezuela*.
- GARCÍA-RUJANO, T., Torres, A., Sangronis, E., Fernández, J y Martínez, J y Garrido, E. (2012). Efecto de la presión transmembra y velocidad tangencial sobre los cambios en el flujo de permeado y turbidez del jugo de mango (*Mangifera indica*) microfiltrado. *Rev. Fac. Ing. UCV*. 27 (4): 17 -24.
- GIRARD, B y Fukumoto, L. (2000). Membrane Processing of Fruit Juices and Beverages: A Review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 40(2): 91-157.
- KRSTIC, D., Tekic, M., Caric, M y Milanovic, S. (2003). Kenics static mixer as turbulence promoter in cross-flow microfiltration of skim milk. *Sep. Sci. Tech.* 38(7):1549–1560.
- MIRSAEEDGHAZI H, Emam-Djomeh Z, Mousavi S, Aroujalian A y Navidbakhsh M. (2010). Clarification of pomegranate juice by microfiltration with PVDF membranes. *Desalination*. 264: 243 – 248.
- MONTERO, M. (2008). Estudio del proceso para la obtención de jugo clarificado de mora por microfiltración tangencial. Trabajo final de graduación para optar al título de Lic. en tecnología de alimentos. Sin publicar. San José – Costa Rica. 78 pág.
- TONG, P., Barbano, D y Rudan, M. (1988). Characterization of proteinaceous membrane foulants and flux decline during the early stages of whole milk ultrafiltration. *J. Dairy Sci.* 71(3):604- 612.
- USHIKUBO, F., Watanabe, A. y Viotto, L. (2007). Microfiltration of umbu (*Spondias tuberosa Arr. Cam.*) juice. *J. Memb. Sci.* 288: 61–66.
- VERA, L. (2009). Microfiltración de agua residual depurada. Mejora de flujo de permeado por inyección de gas. Trabajo de grado para optar al título de Ingeniero químico. Universidad de la laguna. 131 pág.
- WATANABE, A., Ushikubo, F. y Viotto, L. (2006). Evaluation of permeate flux in microfiltration of Tamarind (*Tamarindus indica L*) juice using polypropylene membrane. *Desalination* 200: 337 – 338.

## 7. TABLAS Y FIGURAS



**FIGURA 1.** Flujo del permeado en función del tiempo durante el proceso de microfiltración del jugo de mango bocado con porosidades de 0,22 µm y 0,45 µm



**FIGURA 2.** Cambios en la resistencia de la membrana durante el proceso de microfiltración del jugo de mango bocado a diferentes porosidades

# PELÍCULAS COMPUESTAS A BASE DE ALMIDÓN Y QUITOSANO: FORMULACIÓN Y CARACTERIZACIÓN

María Julieta Bof<sup>1</sup>, Yanina Zambón<sup>1</sup>, María Alejandra García<sup>2</sup>, Delia Locaso<sup>1</sup>

## 1. RESUMEN

Las tendencias hacia el uso y consumo de productos ecológicos obtenidos a partir de materiales renovables, impulsan la búsqueda de nuevas tecnologías junto con el desarrollo de nuevos productos. Los trabajos de investigación dentro de este campo, están orientados a la formulación, diseño y caracterización de películas y recubrimientos que puedan reemplazar a los polímeros sintéticos tradicionales. El objetivo de este trabajo fue desarrollar películas compuestas a partir de almidón y quitosano, estudiando el efecto de la formulación en sus propiedades mecánicas, ópticas, de barrera al vapor de agua y solubilidad. Se prepararon suspensiones filmogénicas a partir de almidón al 4% (A) gelatinizado térmicamente, una solución comercial de quitosano (Q) y sus mezclas (75:25; 50:50 y 25:75 A:Q). Se incorporó glicerol (25% p/p de sólidos) como plastificante en todas las formulaciones. Las películas se obtuvieron por moldeo y secado de las suspensiones filmogénicas a 50 °C. Las propiedades mecánicas se determinaron mediante análisis dinámico mecánico (DMA) a través de ensayos de esfuerzo utilizando una celda de tensión. Las propiedades ópticas se evaluaron registrando el espectro de las películas obtenidas (200-800nm), determinando su capacidad de barrera al UV, opacidad y transparencia. Asimismo, se evaluó el color superficial de las películas utilizando un colorímetro (Minolta CR300 Series). La solubilidad en agua a 25 °C se cuantificó gravimétricamente. La permeabilidad al vapor de agua (WVP) se determinó

---

CONTACTO: María Julieta Bof [bofj@fcal.uner.edu.ar](mailto:bofj@fcal.uner.edu.ar)

1. Facultad de Ciencias de la Alimentación, Universidad Nacional de Entre Ríos, Concordia, Entre Ríos, Argentina.

2. Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecología de Alimentos (CIDCA), CONICET La Plata, Facultad de Ciencias Exactas, La Plata, Buenos Aires, Argentina.

mediante el método ASTM E96 modificado, utilizando celdas de permeación y un gradiente de 2000 Pa.

El comportamiento mecánico de las películas de almidón, si bien se incluyó glicerol en la formulación, correspondió a un material rígido, mientras que el de las películas de quitosano se asoció a materiales flexibles y tenaces. El módulo elástico fue de 12.35 MPa para las películas de A y 3.38 MPa para las de Q obteniéndose valores más bajos para los materiales compuestos. Se observó que la deformación máxima (%) aumentó con el contenido de Q en la formulación. Las películas de Q presentaron valores más altos ( $4.14 \times 10^{-10}$  g/m s Pa) de WVP que las de A ( $1.71 \times 10^{-10}$  g/m s Pa), obteniéndose para los materiales compuestos valores intermedios. Los resultados encontrados en propiedades mecánicas y de barrera podrían atribuirse al bajo peso molecular del quitosano empleado que permite el desarrollo de una matriz laxa y fácilmente deformable. La solubilidad en agua aumentó significativamente con el contenido de Q en la formulación, variando desde 12 % para las películas de almidón de maíz hasta 97 % para películas de quitosano; el mismo comportamiento presentó el contenido de humedad del material.

El agregado de quitosano a la formulación aumentó los valores del parámetro de cromaticidad  $b^*$ . Los materiales desarrollados bloquearon la transmisión de luz UV en el rango de 200 a 300 nm; siendo este efecto más pronunciado al aumentar el contenido de quitosano en la formulación. Estos resultados indicarían que las películas formuladas con mezclas de ambos polímeros podrían utilizarse en el envasado de productos susceptibles a la oxidación lipídica.

## 2. INTRODUCCIÓN

Actualmente existe una tendencia mundial hacia el uso de envases biodegradables y amigables con el medio ambiente, debido tanto a la creciente preocupación por la escasez del petróleo como a la concientización por el cuidado del medioambiente. En los últimos años, han aumentado las investigaciones relacionadas al desarrollo de biomateriales y su aplicación en diversas áreas, principalmente en la alimenticia y farmacéutica. Dado que estos trabajos de investigación están orientados a la búsqueda de nuevos materiales que puedan aplicarse en reemplazo de algunos de los polímeros sintéticos tradicionales, es necesario realizar la caracterización de los mismos y determinar sus propiedades ópticas, mecánicas y de barrera.

Por un lado, el almidón de maíz es un polímero ampliamente disponible y económicamente viable (Lourdin, 1995), que tiene muy buena capacidad de formar películas las cuales presentan baja permeabilidad al oxígeno y capacidad de termosellado (Liu, 2005; Dole, 2004; Campos, 2011). Como contrapartida, las películas de almidón no son buena barrera al vapor de agua, debido a su carácter hidrofílico.

Por otra parte, el quitosano es un polímero obtenido por desacetilación de la quitina mediante hidrólisis alcalina. Este biopolímero posee capacidad filmogénica con la ventaja adicional de presentar propiedades antimicrobianas (Tsai y col., 2002; Liu y col. 2004). Además, las películas de quitosano tienen permeabilidad selectiva a los gases, tal como CO<sub>2</sub> y O<sub>2</sub>, y buenas propiedades mecánicas.

El objetivo del trabajo fue desarrollar películas compuestas a partir de almidón y quitosano, estudiando el efecto de la formulación en sus propiedades mecánicas, ópticas, de barrera al vapor de agua y solubilidad.

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **MATERIALES**

Se trabajó con almidón de maíz (Glutal, Argentina); como fuente de quitosano, se empleó una solución comercial al 2.5 % (Raisan, Argentina) con un PM de 270 kDa. Como agente plastificante se utilizó glicerol (Anedra, Argentina).

#### **PREPARACIÓN DE SUSPENSIONES FORMADORAS DE PELÍCULA**

Se prepararon suspensiones de almidón al 4 % (A) las que se gelatinizaron térmicamente durante 20 min a 85 °C. A la suspensión de almidón gelatinizado, se incorporó la solución comercial de quitosano en las distintas proporciones para obtener las mezclas (75:25; 50:50 y 25:75 A:Q). Como controles se utilizaron las formulaciones de un solo componente, es decir, 100%A y 0%A. En todas las formulaciones, se incorporó glicerol al 25 % p/p de sólidos. Para asegurar la homogeneidad de las mismas, se utilizó un dispersor de alta velocidad (Ultraturrax) durante 1,5 min a 24000 rpm. Posteriormente, las mezclas se trataron con una bomba de vacío durante 15 min para asegurar la eliminación de burbujas de aire que podrían afectar las propiedades de las películas obtenidas.

Las películas se obtuvieron por moldeo en placas de Petri y posterior secado de las suspensiones filmogénicas (SF) a 50 °C en estufa hasta peso constante.

## CARACTERIZACIÓN DE LAS PELÍCULAS

Se determinó el contenido de humedad de las películas por secado en estufa a 105 °C hasta peso constante y luego calculando la pérdida de peso de las mismas; las determinaciones se realizaron por duplicado. El espesor de las películas se determinó empleando un medidor de espesores para sustancias no ferrosas Check Line DCN-900 (New York, USA).

## PROPIEDADES MECÁNICAS

Las propiedades mecánicas se determinaron mediante análisis dinámico mecánico (DMA) a través de ensayos de esfuerzo utilizando una celda de tensión, en un equipo Q800 (TA Instruments, New Castle, EEUU) con un sistema de enfriamiento con nitrógeno líquido. Las muestras se cortaron en probetas rectangulares de 30 mm de largo y 6 mm de ancho.

Los datos de esfuerzo (MPa) en función de la deformación (%) se modelaron de acuerdo a la ecuación propuesta por Chillo y col. (2008):

$$\sigma_T = E_C \times \varepsilon_T \times e^{(-\varepsilon_T \times K)}$$

Donde,  $\sigma_T$  es el esfuerzo verdadero (MPa);  $\varepsilon_T$  es la deformación verdadera (%);  $E_C$  es el módulo de elasticidad o módulo de Young (MPa) y  $K$  es una constante, conocida como parámetro de ajuste. Los resultados informados corresponden al promedio de al menos 5 muestras.

## PROPIEDADES ÓPTICAS

Las propiedades ópticas se evaluaron registrando el espectro en la región del UV-visible de las películas (200-800nm) en un espectrofotómetro U-1900 (HITACHI, Japón). Para ello se colocaron las muestras, previamente cortadas en rectángulos de 3cm × 1cm, dentro de celdas de cuarzo. Se determinó capacidad de barrera al UV como el área bajo la curva en el rango de 200 a 400nm, la opacidad como el área bajo la curva en el rango del visible (400-800nm), ambas expresadas en AU'nm. También se estimó la transparencia de las películas como el cociente entre la absorbancia del material a 600nm y el espesor del mismo. Los resultados informados corresponden al promedio de al menos 3 muestras.



## **COLOR**

Se evaluó el color superficial de las películas utilizando un colorímetro (Minolta CR300 Series, Japón), calibrado con un estándar ( $Y = 93.2$ ,  $x = 0.3133$ ,  $y = 0.3192$ ). Se empleó la escala de color CIELab, y se midieron los parámetros de luminosidad (L) y de cromaticidad  $a^*$  (rojo-verde) y  $b^*$  (amarillo-azul). Las mediciones se realizaron colocando las muestras sobre el estándar, y se realizaron al menos 5 determinaciones en cada una de las muestras.

## **SOLUBILIDAD EN AGUA**

La solubilidad en agua a 25 °C se cuantificó gravimétricamente. Para ello, las muestras se cortaron en cuadrados de 2cm × 2 cm, se colocaron en 80 ml de agua destilada y se mantuvieron bajo agitación constante a 200 rpm durante una hora. Luego se recuperaron las porciones que se mantuvieron intactas y se secaron en estufa a 105 °C. Los resultados informados corresponden al promedio de al menos 3 muestras.

## **PERMEABILIDAD AL VAPOR DE AGUA**

La permeabilidad al vapor de agua (WVP) se determinó mediante el método ASTM E96 modificado, utilizando celdas de permeación y manteniendo un gradiente constante de presión de vapor de 2000 Pa a través de las muestras. Se registró la ganancia en peso de las celdas a través del tiempo en una balanza analítica. Los datos se regresionaron linealmente y de la pendiente se calculó la velocidad de transmisión de vapor de agua (WVTR) en ( $\text{g s}^{-1} \text{m}^{-2}$ ) teniendo en cuenta el área expuesta. Luego se calculó la permeabilidad al vapor de agua (WVP) en ( $\text{g Pa}^{-1} \text{s}^{-1} \text{m}^{-1}$ ) multiplicando la WVTR por el espesor de la película y dividiéndolo por la fuerza impulsora. Las determinaciones se realizaron al menos por duplicado.

## **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Todas las determinaciones se realizaron por duplicado. Los datos se analizaron estadísticamente con el software Statgraphics 5.1. Las comparaciones entre los valores medios de las propiedades de las películas, se realizaron mediante el test de Fisher, con un nivel de significancia  $\alpha$  de 0,05.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### PROPIEDADES MECÁNICAS

La Figura 1 muestra las curvas de esfuerzo vs deformación de las películas obtenidas. El comportamiento mecánico de las películas de almidón correspondió a un material rígido, mientras que el de las películas obtenidas a partir de solución de quitosano, se asoció a materiales flexibles y tenaces. En el caso de las películas compuestas se observó que presentaron menores valores de esfuerzo y mayores deformaciones que las de almidón. Todas las formulaciones se ajustaron satisfactoriamente al modelo matemático propuesto ( $r^2 \geq 0.99$ ).

Se encontró que la deformación máxima aumentó con el contenido de quitosano en la formulación, lo cual indica que los materiales fueron más flexibles. El módulo elástico fue 12,35 MPa para las películas de almidón y 3,38 MPa para las de quitosano, obteniéndose valores más bajos para los materiales compuestos, tal como se puede observar en la Tabla 1.

Estos resultados podrían explicarse teniendo en cuenta que el quitosano empleado tiene un bajo peso molecular, y esta característica del polímero hace que las películas obtenidas presenten una estructura laxa, menos compacta y fácilmente deformable. En concordancia Liu y col. (2012) estudiaron el efecto del peso molecular del quitosano en las características mecánicas de las películas y encontraron que el quitosano de alto peso molecular forma películas que presentan una estructura más firme y mejores propiedades mecánicas (mayor esfuerzo de corte) que el de bajo peso molecular.

### PERMEABILIDAD AL VAPOR DE AGUA

Las películas de quitosano presentaron valores más altos ( $4,14 \times 10^{-10}$  g/m s Pa) de WVP que las de almidón ( $1,71 \times 10^{-10}$  g/m s Pa), obteniéndose para los materiales compuestos valores intermedios (Tabla 2). Las interacciones entre ambos polímeros en los materiales compuestos disminuyeron la difusión de las moléculas de agua a través de las películas, lo cual redujo los valores de permeabilidad. El transporte de agua en películas de almidón y quitosano es un fenómeno complejo debido a la fuerte interacción entre las moléculas de agua absorbidas con la estructura polimérica de la matriz de la película. Los autores Feng y col. (2011) encontraron que las películas de almidón presentan menor permeabilidad al vapor de agua al poseer una estructura más compacta y densa, que las películas de quitosano, debido a la

presencia de interacciones inter e intramoleculares más fuertes en la matriz del almidón. La incorporación de quitosano, que contiene grupos hidrofílicos ( $\text{NH}_2$ ), debilita las interacciones entre los polímeros de las películas.

García y col. (2006) encontraron que la mezcla de almidón con quitosano disminuía la permeabilidad de las películas compuestas, respecto a las películas formuladas sólo a partir de almidón y atribuyeron estos resultados al efecto sinérgico de ambos polímeros. Los resultados obtenidos en el presente trabajo indican que la capacidad de interacción de ambos polímeros está limitada por sus características intrínsecas, y en el caso del quitosano utilizado por su peso molecular. Además, tanto los resultados de propiedades mecánicas como de barrera al vapor de agua indicarían en el caso de las formulaciones compuestas el desarrollo de una matriz laxa.

### **PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS Y ÓPTICAS**

Las propiedades fisicoquímicas de las películas formuladas se presentan en la Tabla 2. La humedad aumentó con el contenido de quitosano de la formulación. Las películas obtenidas resultaron transparentes, siendo las formuladas con almidón incoloras y las de quitosano con leve tonalidad amarillenta. Estas diferencias se vieron reflejadas en los parámetros de color ya que los valores del parámetro de cromaticidad  $b^*$  y las diferencias de color ( $\Delta E$ ) aumentaron con el agregado de quitosano a la formulación, (Figura 2). Los materiales desarrollados bloquearon la transmisión de luz UV en el rango de 200 a 300 nm; siendo este efecto más pronunciado al aumentar el contenido de Q en la formulación ya (Figura 3). La solubilidad en agua a 25 °C aumentó significativamente con el contenido de quitosano en la formulación (Tabla 2), siendo las películas obtenidas sólo a partir de la solución de quitosano, las que tuvieron mayor solubilidad. Este efecto nuevamente indicaría el desarrollo de una matriz laxa y podría atribuirse al bajo peso molecular del quitosano utilizado.

### **5. CONCLUSIONES**

Es posible obtener matrices compuestas a partir de suspensiones gelatinizadas de almidón de maíz y soluciones de quitosano por el método de moldeo y deshidratación. Las películas obtenidas resultan transparentes con leve tonalidad amarillenta la que aumenta con el contenido de quitosano. Además estos materiales compuestos presentan matrices laxas y flexibles pero con mayor permeabilidad al vapor de

agua y solubilidad que las películas de almidón. Los resultados obtenidos indicarían que el bajo peso molecular del quitosano utilizado afectaría significativamente las propiedades de los materiales obtenidos. Finalmente, las películas formuladas con mezclas de ambos polímeros podrían utilizarse en el envasado de productos susceptibles a la oxidación lipídica combinando la capacidad de termosellado de los materiales a base de almidón y la barrera al UV de las matrices de quitosano.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CAMPOS, C. A., Gerschenson, L. N., & Flores, S. K. (2011). Development of edible films and coatings with antimicrobial activity. *Food and Bioprocess Technology*, 4(6), 849–875.
- CHILLO, S., Flores, S., Mastromatteo, M., Conte, A., Gerschenson, L., Del Nobile, M.A. (2008). Influence of glycerol and chitosan on tapioca starch-based edible film properties. *Journal of Food Engineering*, 88, 159–168.
- DOLE, P., Joly, C., Espuche, E., Alric, I., & Gontard, N. (2004). Gas transport properties of starch based films. *Carbohydrate Polymers*, 58, 335–343.
- FENG, Q., Hu, F., & Qiu, L. (2011). Microstructure and characteristics of high-amylose corn starch-chitosan film as affected by composition. *Food Science and Technology International*, 19(3), 279-287.
- GARCIA, M. A., Pinotti, A., & Zaritzky, N. E. (2006). Physicochemical, water vapor barrier and mechanical properties of corn starch and chitosan composite films. *Starch/Staerke*, 58(9), 453-463.
- LIU, H., Du, Y., Wang, X., Sun, L. (2004). Chitosan kills bacteria through cell membrane damage. *Journal of Food Microbiology*, 95, 147–155.
- LIU, Z. (2005). Edible films and coatings from starch. In J. H. Han (Ed.), *Innovations in food packaging* (pp. 318–332). London: Elsevier Academic Press.
- LIU, Z., Ge, X., Lu, Y., Dong, S., Zhao, Y., & Zeng, M. (2012). Effects of chitosan molecular weight and degree of deacetylation on the properties of gelatine-based films. *Food Hydrocolloids*, 26(1), 311-317.
- LOURDIN, D., Della Valle, G., & Colonna, P. (1995). Influence of amylose content on starch films and foams. *Carbohydrate Polymers*, 27(4), 261–270.
- TSAL, G.-J., Su, W.-H., Chen, H.-C., & Pan, C.-L. (2002). Antimicrobial activity of shrimp chitin and chitosan from different treatments and applications of fish preservation. *Fisheries Science*, 68, 170–177.

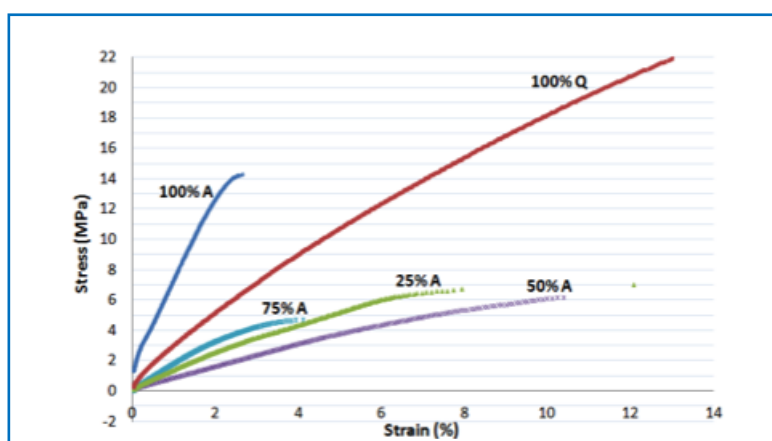
## 7. TABLAS Y FIGURAS

**TABLA 1.** Propiedades mecánicas de las películas de almidón de maíz (A), quitosano (Q) y sus mezclas

| Formulación | Módulo elástico<br>$E_c$ (MPa) | Deformación máxima (%) | Esfuerzo máximo (MPa) |
|-------------|--------------------------------|------------------------|-----------------------|
| 100%A       | $12.35 \pm 3.62$               | $2.05 \pm 0.79$        | $11.91 \pm 3.39$      |
| 75%A 25%Q   | $1.35 \pm 0.69$                | $5.82 \pm 1.57$        | $4.19 \pm 0.38$       |
| 50%A 50%Q   | $1.05 \pm 0.33$                | $9.04 \pm 1.42$        | $5.77 \pm 0.62$       |
| 25%A 75%Q   | $1.64 \pm 0.15$                | $10.70 \pm 1.21$       | $8.16 \pm 0.84$       |
| 100%Q       | $3.38 \pm 1.16$                | $12.81 \pm 2.50$       | $22.88 \pm 0.81$      |

**TABLA 2.** Propiedades fisicoquímicas y permeabilidad al vapor de agua (WVP) de las películas de almidón de maíz (A), quitosano (Q) y sus mezclas

| Formulación | Humedad (%)        | Espesor ( $\mu\text{m}$ ) | WVP $\times 10^{-10}$<br>( $\text{g m}^{-1} \text{Pa}^{-1} \text{s}^{-1}$ ) | Solubilidad 25 °C (%) |
|-------------|--------------------|---------------------------|---|-----------------------|
| 100%A       | $16.01 \pm 0.73^a$ | $78.69 \pm 4.85$          | $1.715 \pm 0.452^a$   | $12.13 \pm 3.02$      |
| 75%A 25%Q   | $19.29 \pm 1.45^b$ | $82.26 \pm 4.43$          | $3.404 \pm 0.204^b$   | $40.20 \pm 1.35$      |
| 50%A 50%Q   | $21.81 \pm 0.15^c$ | $70.51 \pm 5.51$          | $2.200 \pm 0.046^a$   | $58.72 \pm 2.97$      |
| 25%A 75%Q   | $27.45 \pm 1.10^d$ | $58.22 \pm 8.42$          | $2.217 \pm 0.157^a$   | $73.86 \pm 5.71$      |
| 100%Q       | $31.55 \pm 0.88^e$ | $74.37 \pm 15.27$         | $4.141 \pm 0.260^c$   | $96.61 \pm 4.79$      |



**FIGURA 1.** Curvas de esfuerzo vs deformación de las películas de almidón de maíz (A), quitosano (Q) y sus mezclas obtenidas mediante ensayos dinámicos mecánicos estáticos

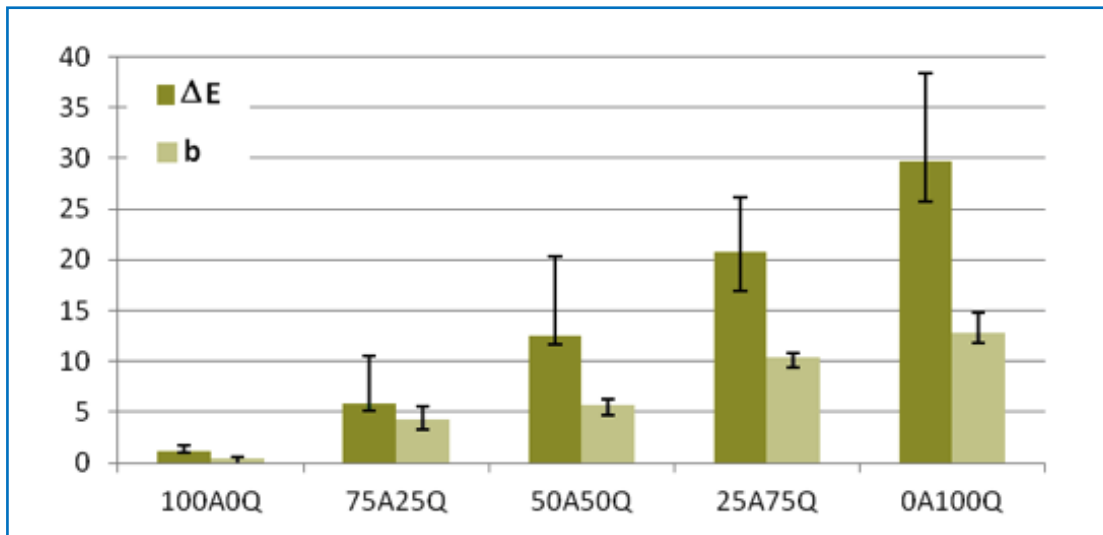


FIGURA 2. Propiedades ópticas de las películas de almidón de maíz (A), quitosano (Q) y sus mezclas

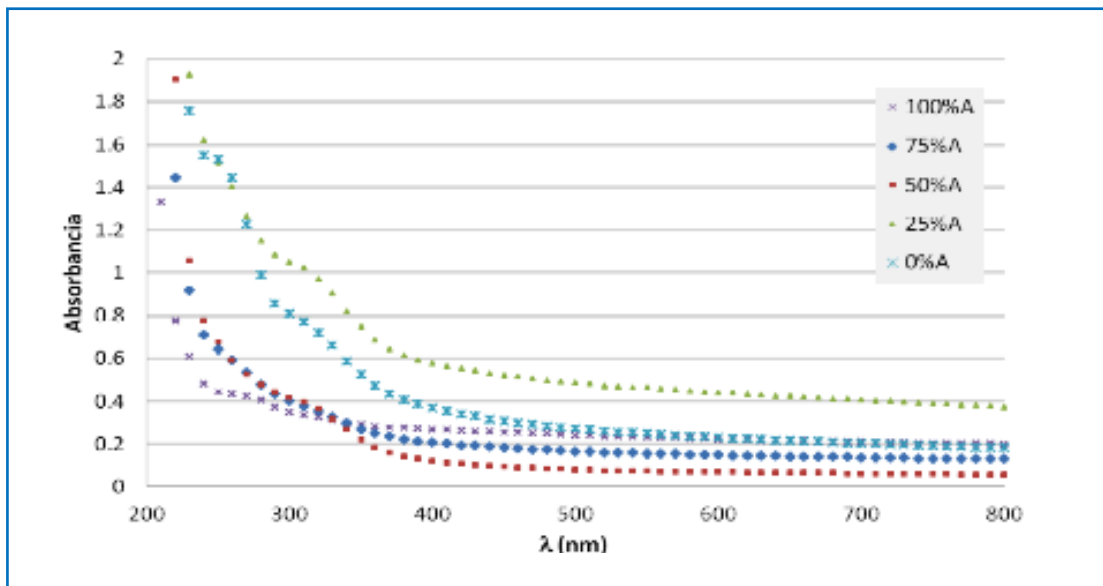


FIGURA 3. Capacidad de barrera a la radiación UV de películas a base de almidón de maíz (A) y quitosano

# PROPIEDADES FÍSICAS Y ANTIFUNGICAS DE FILMS DE ALMIDÓN-GELATINA CON ACEITES ESENCIALES

Sandra Acosta Dávila<sup>1</sup>, María Consuelo González-Martínez<sup>2</sup>, Josefa Rosello Caselles<sup>3</sup>,  
María Pilar Santamarina Siurana<sup>3</sup>, Amparo Chiralt Boix<sup>2</sup>, Maite Cháfer Nacher<sup>2</sup>

## 1. RESUMEN

Diferentes investigaciones han demostrado el gran poder antimicrobiano de los aceites esenciales (AE). Su incorporación en films de biopolímeros de bajo coste como el almidón o la gelatina, permitiría reducir la cantidad de AE, constituyendo una alternativa para obtener materiales de envase activos. El estudio se hizo en films de almidón de yuca (A) y gelatina (G) en proporción 50:50 con buenas propiedades barrera y mecánicas. Se incorporaron AE de canela (C), clavo (CL), y orégano (O), en una proporción de 1:0,25 (polímero: aceite). Todas las formulaciones contenían glicerol como plastificante (ratio polímero: glicerol de 1:0,25). Los ingredientes se homogenizaron en fase acuosa y los films se obtuvieron por extensión y secado de dispersiones acuosas. Los films obtenidos se equilibraron a 53 % de HR y 25 °C, previamente a la caracterización de sus propiedades barrera, mecánicas, ópticas y microestructurales (SEM). Se evaluó la actividad antifúngica contra dos hongos, *Colletotrichum gloeosporoides* (CG) y *Fusarium oxysporum* (FOG), midiendo el halo de inhibición por efecto del film depositado sobre un cultivo en PDA del hongo de 7 días de crecimiento. Los resultados mostraron una escasa influencia del AE en las propiedades mecánicas.

---

CONTACTO: Sandra Acosta Dávila [cacosta@espol.edu.ec](mailto:cacosta@espol.edu.ec)

1. Escuela Superior Politécnica del Litoral. Facultad de Ingeniería Mecánica y Ciencias de la Producción. Ingeniería en Alimentos. Guayaquil – Ecuador.

2. Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural. Instituto de Ingeniería de Alimentos para el desarrollo. Universidad Politécnica de Valencia-España.

3. Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural. Departamento de Ecosistemas Agroforestales. Universidad Politécnica de Valencia-España.

Su incorporación influyó significativamente en las propiedades barrera, ópticas y microestructurales. Los films con AE fueron menos permeables al vapor de agua y gases, más transparentes y menos brillantes, en comparación con el control. Las observaciones de SEM mostraron una estructura heterogénea de los films con AE debido a la falta de miscibilidad de los componentes del aceite con los polímeros de la matriz. Se cuantificó la pérdida de AE durante el secado de los films que fue entorno al 60 %. Aun así, los films con aceite mostraron capacidad antifúngica, con un valor cuantitativo del halo de inhibición, especialmente el de canela para el FOG y el clavo para el CG.

## 2. INTRODUCCIÓN

Los polisacáridos, y en concreto los almidones, son una de las materias primas más utilizadas para obtener films por su bajo coste y gran disponibilidad. Su poca barrera al agua y pobres propiedades mecánicas son su principal limitación. La mezcla de polisacáridos y proteínas puede mejorar algunas de estas propiedades (Pranoto, Leem, y Park 2007). En concreto, Hassan y Norziah, 2012 consiguieron mejorar las propiedades mecánicas de films de almidón, incorporando gelatina. Con un buen ratio almidón: gelatina. Otros compuestos que pueden mejorar las propiedades de estas matrices poliméricas, aportando una actividad antimicrobiana (antibacteriana y antifúngica) a los films, son los AE. Su incorporación a estas matrices permitiría desarrollar diferentes formas de aplicación de bajo coste como el control postcosecha en frutas tropicales. En estas frutas son frecuentes las pudriciones causadas por los hongos del género *Fusarium* y *Colletotrichum*. Estudios realizados por (Pelissari, Grossmann, Yamashita, y Pineda, 2009) en matrices de almidón de yuca y quitosano con aceite esencial de orégano, mostraron un gran efecto antibacteriano. En cuanto al efecto antifúngico, (Rozwalka, Alves y Carvalho do Amaral, 2010), encontraron en frutas de banano y guayaba un buen control de los conidios de los mohos *Colletotrichum Gloeosporiodes* y el *Colletotrichum Musae* con los AE, palmarosa, clavo, canela y citronela (Barrera y García, 2008) describieron la efectividad contra el *Fusarium* sp. aislado con AE, de tomillo, canela, clavo y epazote. El objetivo del presente estudio es analizar el efecto de la incorporación, con fines antifúngicos, de AE de canela, clavo y orégano, en las propiedades físicas asociadas a la funcionalidad (barreras, mecánicas y ópticas) de films de yuca-gelatina (1:1), así como el análisis de la actividad antifúngica de los films contra dos hongos: *Colletotrichum gloeosporioides* (CG) y *Fusarium oxysporum* sp. gladiolo (FOG).



### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### MATERIAS PRIMAS

Las materias primas utilizadas fueron el almidón de yuca procedente de Asia almidón modificado CO, LDT (Kalasin, Tailandia) y proporcionada por Quimidroga SA (Barcelona, España); gelatina de piel bovina tipo A (Bloom 220-240°) de Gelatinas Alimenticias Sancho de Borja, S.L. (Zaragoza, España), y glicerol proporcionado por Panreac Química, SA (Barcelona-España). Los AE, utilizados fueron de orégano, clavo de hojas y la canela procedente de la corteza, adquiridos a Herbes del Moli (Benimarfull, Alicante, España). El cultivo madre de *Colletotrichum gloeosporoides* (CG) fue aislado de naranjo de Valencia (España) y proporcionado por Grupo de Investigación de Hongos Fito patógenos del Instituto Agroforestal Mediterráneo de la Universidad Politécnica de Valencia. El *Fusarium oxysporum* f. sp. *gladiolo* (FOG) CECT 2868 de la Colección Española de Cultivo Tipo (CECT, Burjassot, Spain). Se mantuvieron congelados, en Agar Patata Dextrosa (PDA, Scharlab, Barcelona, Spain), encubados a 25 °C hasta su esporulación, y se utilizaron a los 7 días.

#### PREPARACIÓN Y ACONDICIONAMIENTO DE LAS PELÍCULAS

La formulación de almidón de yuca (S), gelatina (G) y glicerol contenía un 1 % de cada uno de los polímeros (S:G 1:1) y una proporción polímeros:glicerol 1:0,25. Las dispersiones de ambos polímeros se prepararon por separado y posteriormente se mezclaron y se incorporó el glicerol. La dispersión de almidón se mantuvo, bajo agitación, a 95 °C × 30 minutos para inducir la gelatinización. La dispersión de gelatina se mantuvo con agitación a 80 °C × 30 min. Posteriormente, la mezcla se homogeneizó por 4 minutos a 12.800 r.p.m. utilizando un Ultra-Turrax Blue IKA-T25 Digital. En las formulaciones con AE, se incorporaron en proporción 1:0,25 (polímero: aceite). Las cantidades correspondientes se añadieron a la dispersión polimérica y fueron adicionadas antes de la homogenización. Se prepararon 3 formulaciones:AE de canela (C), clavo (CL), y orégano (O). Los films se obtuvieron por extensión de la dispersión formadoras del film, sobre una placa de teflón (150 mm de diámetro interno), ajustando el peso vertido a por placa para alcanzar 1,5 g de sólidos totales, y posterior secado por convección natural por 48 h en condiciones ambientales. Y luego se acondicionaron a 52,8 % HR y 25 °C.

## CARACTERIZACIÓN DE LOS FILMS

Las propiedades mecánicas de los films se determinaron con una prensa universal (Stable Micro Systems, TA.XT plus, Haslemere, England) de acuerdo al método estándar D882 (ASTM, 1992). Para cada formulación, se cortaron 8 muestras (25 × 100 mm). Los films se montaron en unas pinzas para ensayos de tensión (modelo A/TG, Stable Micro System, Haslemere, England). La separación inicial de las pinzas y la velocidad de elongación del film fueron de 50 mm y 50 mm·min<sup>-1</sup>, respectivamente. Las curvas fuerza-distancia obtenidas en el ensayo se transformaron en curvas de tensión ( $\sigma$ )-deformación de Henky ( $\epsilon_H$ ) que obtienen los parámetros mecánicos módulo de elasticidad (ME), tensión de fractura (TS) y deformación hasta el punto de fractura (E).

La permeabilidad al vapor de agua se determinó según una modificación del método gravimétrico ASTM E96-95 (Mc Hugh, Avena-Bustillo y Krochta, 1993) para una HR de 52,8-100 % a 25 °C. Las muestras (4 por formulación) fueron montadas entre la base y la tapa de una copa de aluminio de 3.5 cm de diámetro (Payne, elcometer SPRL, Hermelle/s Argenteau, Bélgica). El estudio de la permeabilidad se realizó mediante controles de peso de cada copa con una balanza electrónica ( $\pm 0.00001$  g) (ME36S Sartorius, Alemania) cada 1,5 horas. La transmisión de vapor de agua se determinó a partir de la pendiente obtenida en el análisis de regresión de los datos del peso frente al tiempo, dividido por el área del film, una vez alcanzado el estado estacionario.

La permeabilidad al Oxígeno se determinó por medio de un sistema de medida de la transmisión de oxígeno (Ox-Tran 1/50 Mocon, Minneapolis, USA) a 25 °C (ASTM Standard Method D3985-95, 2002) y 53 % HR. Las muestras por duplicado (50 cm<sup>2</sup>) se colocaron en una celda y neumáticamente fue ubicada en el lugar del equipo para llevar a cabo el ensayo. Los films se expusieron a una corriente de nitrógeno por una cara y de oxígeno por la otra. Un sensor registra el oxígeno permeado y el ratio de transmisión de oxígeno se calcula teniendo en cuenta la cantidad de oxígeno y el área de la muestra. El cálculo se hizo dividiendo la tasa de transmisión de oxígeno entre la diferencia de presión parcial de oxígeno en las dos caras del film, y multiplicando por el espesor medio del film.

La opacidad de los films se determinó por la teoría de Kubelka-Munk de dispersión múltiple a los espectros de reflexión (Hutchings, 1999). Los espectros de reflexión sobre fondo blanco y fondo negro se determinaron con un espectro colo-

rímetro MINOLTA, modelo CM-3600d (Minolta CO. Tokyo, Japan). Las determinaciones se realizaron en la cara del film que había estado en contacto con el aire, y por triplicado. Para el brillo se utilizó un Brillómetro Multi-Gloss 268, MINOLTA, las medidas se hicieron a un ángulo de incidencia de 60° respecto a la normal sobre un fondo negro estándar.

El análisis de la microestructura se realizó tras equilibrar los films en P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> en un microscopio electrónico de barrido JEOL®, (modelo JSM-5410, Japón). Las muestras se montaron en un soporte de cobre de tal forma que permitían observar la sección transversal y la superficie. Éstas se cubrieron de oro para hacerlas conductoras y fueron observadas con un voltaje de aceleración de 11 KV.

Las propiedades antifúngicas de los films se determinaron por el método de difusión en agar para un disco de film de 2.4 cm de diámetro. Se preparó una suspensión de esporas de 5×10<sup>6</sup> ufc/mL en agua con Tween 80 (0.1 %), a partir de colonias de 7 días en crecimiento activo en medio PDA. Una vez repartido en placas se deja solidificar y se depositó el disco de film de 2.4 cm de diámetro (6 repeticiones). Las lecturas se realizaron midiendo el diámetro del halo de inhibición a las 48 y 72 h.

#### **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Los resultados fueron analizados mediante un análisis de la varianza (ANOVA) mediante el software Statgraphics plus® versión 5.1, utilizando un nivel de significación del 95 %.

### **4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

#### **MICROESTRUCTURA DE LOS FILMS**

En la Figura 1 se muestran las micrografías del corte transversal. Los films control (S-G) muestran zonas de alineación de las cadenas de los polímeros, embebidas en una matriz amorfa de almidón. Estas zonas fibrosas han sido descrito en trabajos previos de films de gelatina y se corresponden con zonas de asociación de cadenas a través regiones helicoidales de las cadenas de gelatina (Hassan y Norziah, 2012). La incorporación de AE, dio lugar a una mayor heterogeneidad de la estructura, donde se observan numerosas cavidades correspondientes a la posición de las gotas del AE, el cual evapora parcialmente en la superficie crio-fracturada durante la observación por SEM debido al alto vacío. El aspecto de los films con AE es similar

al descrito en trabajos previos con quitosano y HPMC (Sánchez-González, Chiralt, González-Martínez y Cháfer 2011) y en films de gelatina (Mehraj, Soottawat, Thummanoon, y TriWinarni 2012), almidón de yuca (Kechichian, Ditchfield, Veiga-Santos y Tadini 2010).

#### **PROPIEDADES BARRERAS Y PÉRDIDAS DE AE DE LOS FILMS**

En la Tabla 1, se observan los valores promedio de permeabilidad al vapor de agua (PVA) y al oxígeno (PO) de los films almidón-gelatina, con y sin AE. Además se incluyen, los valores promedio de la pérdida de aceite esencial durante el secado de los films, evaluados a través de la pérdida de peso de los sólidos totales. Estos resultados muestran que los films con AE de orégano son los que más peso pierden ( $p < 0.005$ ) durante el secado (66%), en comparación con los films, de clavo y canela. La incorporación de los AE a los films de gelatina-almidón provocó un descenso de la PVA, como cabe esperar por el incremento del carácter hidrófobo. No se encontraron diferencias significativas en los valores de la PVA entre los films de los diferentes AE. La reducción en los valores de la PVA al incorporar aceites esenciales a matrices de HPMC y quitosano (Sánchez-González *et al.*, 2011) y a matrices de almidón de yuca (Kechichian *et al.*, 2010), ha sido descrita en trabajos previos. Los valores de la PO mostraron un descenso significativo con la incorporación los AE respecto al film control, sin diferencias significativas entre el efecto de los distintos aceites. La incorporación de lípidos líquidos supone un aumento en la PO, de los films por la mayor solubilidad del gas en la fase lipídica (Fabra, Talens, y Chiralt, 2010a).

#### **PROPIEDADES MECÁNICAS Y ÓPTICAS**

Los valores de los parámetros mecánicos de los diferentes films compuestos, con y sin AE, se muestran en la Tabla 2. En general, los resultados obtenidos muestran pocos cambios en las propiedades mecánicas. Los valores del módulo de elasticidad (ME), y la tensión (TS) y elongación (%E) en el punto de fractura no son significativamente diferentes entre el film control y los films con los AE. En general, los resultados apuntan a que el efecto de los aceites esenciales en las propiedades mecánicas de los films depende del tipo y concentración de AE, del tipo de matriz polimérica y de las interacciones específicas entre componentes (Mehraj *et al.*, 2012), así como de la forma de mezclado que a su vez, determina el área efectiva de

interacción entre componentes en la interface. La escasa modificación en las propiedades mecánicas de los films de almidón-gelatina, pone de manifiesto que estas son adecuadas, sin detectarse efectos negativos.

En la Tabla 2, se muestran los valores de las propiedades ópticas. El brillo de las películas está ligado a la morfología de su superficie (Sánchez-González, González-Martínez, Chiralt, y Cháfer 2010), en general, cuanto más lisa - menos irregular, menos rugosa - es la superficie, más brillante es el film. Los valores de brillo indican que, la incorporación de los AE disminuye el brillo. Los AE introducen irregularidades estructurales, por la baja compatibilidad y miscibilidad de estos componentes con la matriz. Los films control, presentan valores de transparencia, evaluados a través de  $T_i$ , menores (más opacos) que los que contienen AE a pesar de poseer una fase dispersa de aceite que podría contribuir a la dispersión de luz y al aumento de su opacidad como se ha observado en estudios previos (Sánchez-González *et al.* 2011). Sin embargo en los films de almidón-gelatina, los valores de  $T_i$  aumentaron significativamente con la incorporación de AE, con independencia del tipo de aceite. Esto podría explicarse por el hecho de que en la matriz de los films control ocurren fenómenos de re-cristalización del almidón y de la gelatina que pueden incrementar en gran medida su opacidad. Jiménez, Fabra, Talens, y Chiralt (2012), observaron un descenso en la transparencia y brillo de films de almidón de maíz durante el almacenamiento atribuido al progreso de cristalización de la amilosa. La presencia de los aceites podría contribuir a limitar estos fenómenos de cristalización, dando lugar a films más transparentes.

#### **PROPIEDADES ANTIFÚNGICAS**

En la Tabla 3 se muestran los resultados de la evaluación de la efectividad antifúngica de los films con AE, evaluadas a través del diámetro del halo de inhibición en el crecimiento de los dos hongos CG y FOG, a las 48 y 72 horas de incubación. Este diámetro se midió desde el centro del film, de 2.4 cm, hacia el exterior de las placas Petri. Se utilizaron placas control (sin film) para comparar el crecimiento de los hongos. Los resultados indicaron que a las 24 h había un crecimiento equivalente a 2/3 de la superficie de la placa. A las 72 h, toda la superficie quedó cubierta por el hongo. Los resultados muestran que los tres aceites son efectivos contra el crecimiento de los hongos como se ha descrito en trabajos previos (Barrera y García, 2008; Rozwalka *et al.*, 2010). Este efecto fue mayor en los films con aceite de cane-

la, contra el FOG, y menor en los que tenían aceite de orégano. Con el moho CG, los films con AE de clavo fueron los que mostraron mayor efectividad.

## 5. CONCLUSIONES

La incorporación de AE de corteza de canela, y hoja de clavo y orégano a films de almidón de yuca-gelatina en proporción 1:1, para impartirles carácter antifúngica, fue efectiva, obteniendo una retención del 35-45 % del aceite, incorporado a la dispersión formadora de film. Los aceites incorporados aparecen como fase dispersa en la matriz polimérica por su falta de miscibilidad. Su presencia dio lugar a una reducción significativa de la PVA, en los films de almidón-gelatina, una reducción del 17- 30 % de la PO, dependiendo del tipo de aceite, y un aumento de su transparencia, sin provocar efectos negativo en su comportamiento mecánico, aunque provocó un descenso de su brillo. Los films con los AE, presentaron una notable actividad antifúngica con los dos hongos ensayados, el de aceite de canela contra *Fusarium oxysporum f. sp. gladiolo* y el de aceite de clavo contra *Colletotrichum gloeosporoides*.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARRERA N. L. y GarcíaB.L. (2008). Actividad antifúngica de aceites esenciales y sus compuestos sobre el crecimiento de *Fusarium sp.* aislado en papaya. *Revista UDO Agrícola* 8 (1): 33-44
- FABRA, M.J., Talens, P., y Chiralt, A. (2010a). Water sorption isotherms and phase transitions of sodium casein lipid films as affected by lipid interactions. *Food Hydrocolloids*, 24, 384e391
- HASSAN A.A., y Norziah M.H. (2012). Starch-gelatin edible films: water vapor permeability and mechanical properties as affected by plasticizers. *Food Hydrocolloids* 26, 108-117
- HUTCHINGS, J. B. (1999). *Food color and appearance* (2nd ed.). Gaithersburg, Maryland, USA: Aspen Publishers, Inc.
- JIMENEZ A., Fabra MJ., Talens P., y Chiralt A., (2012) Edible and Biodegradable starch films: A review. *Food Bioprocess Technol.* DOI 10.1007/s11947-012-0835-4.
- KECHICHIAN V., Ditchfield C., Veiga-Santos P., Tadini C. (2010). NaturalAntimicrobial ingredients incorporated in biodegradable films. *Food Science and Technology*. 43 (1088-1094).
- MEHRAJ Ahmad, SoottawatBenjakul, Thummanoon Prodpran, y Tri WinarniAgustini. (2012). Physicol-mechanical and antimicrobial properties of gelatin film from the skin of unicorn leatherjacket incorporated with essential oils. *Food Hydrocolloids*, 28 (189-199).

- MC HUGH, T. H., Avena-Bustillos, R., y Krochta, J. M. (1993). Hydrophobic edible films: modified procedure for water vapour permeability and explanation of thickness effects. *Journal of Food Science*, 58(4), 899-903.
- PELISSARI F., Grossmann M., Yamashita F., Pineda E. (2009). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Antimicrobial, Mechanical and Barrier Properties of cassava starch-chitosan films incorporated with oregano essential oil. 57, 7499-7504.
- PRANOTO Y. Leem C.M. y Park H.J. (2007). Characterizations of fish gelatin films added with gellan and K-carrageenan. *LWT e Food Science and Technology*, 40(5), 766e774.
- ROZWALKA Louisiana C., Alves E. y Carvalhodo Amaral (2010). Ultrastructural study of conidia of *Colletotrichum gloesporioides* and *Colletotrichum Musae* treated with essential oil. *Interciencia*. vol. 35 N° 12.
- SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L., Chiralt, A., González-Martínez, C., y Cháfer, M. (2011). Effect of essential oils on properties of film forming emulsions and films based on hydroxypropylmethylcellulose and chitosan. *Journal of Food Engineering*, 105, 246e253.
- SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L., González-Martínez, C., Chiralt, A., y Cháfer, M. (2010). Physical and antimicrobial properties of chitosan tea tree essential oil composite films. *Journal of Food Engineering*, 98(2010), 443- 452.

## 7. TABLAS Y FIGURAS

**TABLA 1.** Propiedades barrera y pérdida de AEI durante la etapa de secado en films almidón-gelatina (50S-50G), con y sin AE de canela (C), clavo (CL), orégano (O), a 53 % de H.R. y 25 °C

| Film       | PVA (g.mm/kPa.h.m <sup>2</sup> ) | PO 10 <sup>-13</sup> (cm <sup>3</sup> /m.seg.Pa) | Perdida de aceite <sup>(1)</sup> |
|------------|----------------------------------|--|----------------------------------|
| 50S-50G    | 5,9(0,4)a                        | 0,52(0,10)a                                      | -                                |
| 50S-50G-C  | 4,2(0,2)b                        | 0,39(0,02)b                                      | 59(4)b                           |
| 50S-50G-CL | 4,2(0,2)b                        | 0,43(0,02)b                                      | 56(2)b                           |
| 50S-50G-O  | 4,6(0,4)b                        | 0,358(0,005)b                                    | 66(4)a                           |

<sup>(1)</sup> Porcentaje de pérdida durante el secado del film respecto a la cantidad inicial del film.

a, b, Diferentes superíndices dentro de una columna indican diferencias significativas entre formulaciones diferentes para un mismo tiempo. (p < 0.05).

**TABLA 2.** Propiedades mecánicas y ópticas de los films almidón-gelatina (50S-50G), con y sin AE de canela (C), clavo (CL), orégano (O), equilibrados a 53 % de H.R. y 25 °C

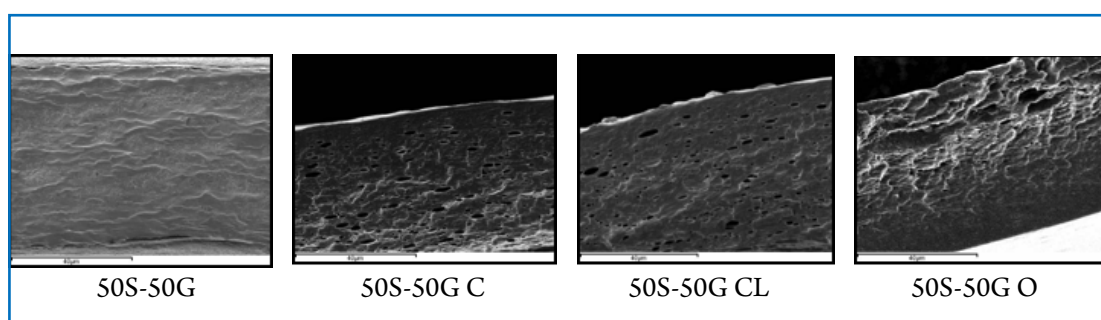
| Film       | ME(MPa)   | TS(MPa) | E(%)    | Ti 480nm  | Brillo 60° |
|------------|-----------|---------|---------|-----------|------------|
| 50S-50G    | 627(54)ab | 24(2)a  | 14(4)ab | 81(0,04)a | 37(4)a     |
| 50S-50G-C  | 775(119)b | 25(2)ab | 8(3)a   | 91(0,5)b  | 12(2)d     |
| 50S-50G-CL | 642(71)ab | 25(3)ab | 17(3)b  | 90(0,4)b  | 17(3)c     |
| 50S-50G-O  | 612(213)a | 22(2)b  | 12(3)ab | 92(0,4)b  | 23(4)b     |

a,b,c,d, Diferentes superíndices dentro de una columna indican diferencias significativas entre formulaciones diferentes para un mismo tiempo. ( $p < 0.05$ ).

**TABLA 3.** Halo de inhibición de los films para *Fusarium oxysporum* f.sp. *gladiolo* (FOG) y *Colletotrichum gloeosporoides* (CG) a las 48 y 72 horas de incubación en contacto con la placa

| FILM       | HALO DE INHIBICIÓN EN EL CRECIMIENTO DEL HONGO (MM) |                 |               |               |
|------------|---|-----------------|---------------|---------------|
|            | FOG2 A LAS 48 H                                     | FOG2 A LAS 72 H | CG A LAS 48 H | CG A LAS 72 H |
| 50S-50G-C  | 57(4)a  | 48(2)a          | 49(3)a        | 38(3)a        |
| 50S-50G-CL | 49(2)b  | 46(2)a          | 52(2)a        | 45(2)b        |
| 50S-50G-O  | 42(3)c  | 36(2)b          | 41(7)b        | 30(7)c        |

a, b, c, Diferentes superíndices dentro de una columna indican diferencias significativas entre formulaciones diferentes para un mismo tiempo de almacenamiento.( $p < 0.05$ ).



**FIGURA 1.** Observaciones microestructurales (SEM) transversales de films almidón-gelatina (50S-50G), sin y con AE de canela (C), clavo (CL) y orégano (O), 53 % de H.R. y 25 °C



# EFFECT OF MOISTURE ON THE OIL EXTRACTION FROM SUNFLOWER COLLETS AND ITS CONTENT OF MINOR COMPOUNDS

Ethel E. Pérez, Érica R. Bäümler, María Elena Carrín, Guillermo H. Crapiste, Amalia A. Carelli

## 1. ABSTRACT

It is well-known that the oil yield obtained during extraction depends on the moisture content of the oleaginous material; the oil yield increases as moisture decreases. However, a certain moisture level is required because it gives the collets elasticity, increases the bulk density, and hinders percolation. So far, research on the effect of moisture on oil extraction has focused on obtaining higher oil yields without considering minor compounds that affect oil quality. Some of these minor compounds have antioxidant properties (e.g., tocopherols) while others have to be removed in the refining process (e.g., phospholipids and waxes). The aim of this work was to analyze the effect of moisture content of the expanded material (“collets”) on the quality of sunflower oil by determining its wax, phospholipid and tocopherol content and composition. Low-protein sunflower collets were conditioned at three moisture levels (6, 12 and 18 % dried basis, d.b.) prior to oil extraction. Oil extraction was carried out at 50 °C for 2 h in a magnetically-stirred batch reactor using *n*-hexane as solvent. The amount of oil extracted was determined gravimetrically. Tocopherol content was measured with an HPLC instrument equipped with a fluorescence detector using AOCS method. Quantitative determination of phospholipids was carried out by enrichment with a diol solid-phase extraction cartridge and subsequent analysis by HPLC-UV. The wax fraction was isolated by column chromatography in a glass column with a solid stationary double phase of silica gel and silver nitrate-impregnated silica gel. Waxes were quantified by the internal standard method using a capillary GLC equipped

---

CONTACTO: Ethel E. Pérez [eperez@plapiqui.edu.ar](mailto:eperez@plapiqui.edu.ar)  
PLAPIQUI – CONICET, Universidad Nacional del Sur, Bahía  
Blanca, Buenos Aires, Argentina

with an on-column injection system and a flame ionization detector. Statistical analysis was carried out by analysis of variance (ANOVA) followed by comparisons between means with Fisher's LSD test, at 5 % significance level ( $n=3$ ). The increasing moisture content caused a decrement in oil yield, which was statistically different for each sample tested ( $p = 0.003$ ). The total wax contents were between 896 and 1118 ppm, and they were composed mainly of esters of between 44 and 60 carbon atoms, whose distribution did not change according to the moisture content considered. In all the experiments,  $\alpha$ - and  $\beta$ -tocopherols and  $\beta$ -tocotrienol were detected, being the level of  $\alpha$ -tocopherol higher than 93 % and easier to extract at 12 % d.b. of moisture content. Furthermore, the phospholipid content in the oil increased with moisture content, but maintaining its composition. In brief, the moisture content of the collets not only affects the oil yield, but also the content of minor compounds.

## 2. INTRODUCTION

Industrial extraction of edible oil from oilseeds or other oil-rich materials can be carried out by two traditional processes, mechanical pressing and solvent extraction. For seeds with high oil content, such as sunflower seeds, both methods are usually involved, whereas materials of lower oil content, such as soybeans, can be directly solvent-extracted. Solvent extraction is the most popular method mainly because of its high extraction efficiency (over 99 %) as well as its capability to handle large quantities. The kinetics of oil extraction from oilseeds depends on a number of factors (Anderson, 2005), some of which are the composition and morphology of the raw material, and the structural and mechanical properties of the flakes (Karlović *et al.*, 1988; Leibovitz & Ruckenstein, 1983; Minasian *et al.*, 1972) The pretreatment given to the oil-bearing solid plays a very important role in the efficiency of the extraction process. In many instances of extraction, small particles of the soluble material are completely surrounded by a matrix of insoluble materials. The solvent must then diffuse into the mass, and the resulting solution must diffuse out before a separation can result. Flake thickness and solvent temperature have profound effects on extraction rate, and empirical relationships to extraction time have been observed (Lei *et al.*, 2003). The moisture content of the flakes is another factor affecting the rate of solvent extraction. In most cases, 9-11 % moisture is ideal. Hexane and water are immiscible, and higher moisture contents interfere with the penetration of

hexane. Lower moisture levels reduce the structural strength of the flakes leading to the production of additional fines (Johnson, 2008). Recommended operating conditions depend on the specific performance desired, if high capacity and oil output from low moisture content sunflower seeds are desirable, preheating would be necessary. If high efficiency is desirable, low moisture content sunflower seeds and high expeller pressures are recommended (Jacobsen & Backer, 1986).

So far, research on the effect of moisture on oil extraction has focused on obtaining higher oil yields without considering minor compounds that affect oil quality (Lawson, 1999). The aim of this work was to analyze the effect of the moisture content of sunflower collets on the oil quality by determining the content and composition of waxes, phospholipids and tocopherols.

### **3. MATERIALS AND METHODS**

#### **RAW MATERIAL AND SAMPLE CONDITIONING**

All the experimental determinations were made with sunflower expanded material, known as “collets”, which was kindly provided by a local factory. The collets were stored in polyethylene container with screw caps in the dark at 4 °C until used in the extraction experiments.

The initial moisture and oil content were determined according to IUPAC method 1.121 and 1.122 (Paquot & Hautfenne, 1992), respectively. Standard AOCS official methods were used to determine crude fiber and protein content ( $N \times 5.3$  factor) (Firestone, 2009). The composition of the fiber fraction in terms of cellulose, hemicellulose and lignin was determined by the acid detergent fiber (ADF) and neutral detergent fiber (NDF) methods (Van Soest *et al.*, 1991), using an Ankom A220 fiber analyzer (Ankom, New York, USA). Cellulose was calculated as the difference between ADF and lignin and hemicellulose, between NDF and ADF.

The samples were conditioned to the selected moisture levels by spraying with pre-calculated amounts of distilled water. Then, they were thoroughly mixed and sealed in separate polyethylene container with screw caps. Finally, the samples were kept in a refrigerator at 4 °C for at least 48 hours to allow a homogeneous moisture distribution. The moisture content was determined by means of the OHAUS (Model MB 45) infrared analytical balance (105 °C). Three replicates were carried out to estimate the inherent variability of the determination.

For each experiment, the required sample was taken out of the refrigerator and allowed to warm up to room temperature for approximately 2 h.

### **SOLVENT-EXTRACTION EXPERIMENTS**

The oil was extracted in a magnetically-stirred batch system immersed in a thermo-regulated water bath at 50 °C, using analytical reagent grade n-hexane as solvent (90 %, b.p., 68-72 °C). Sunflower collet samples of approximately  $22 \pm 1.5$  g were subjected to extraction with a 1:10 wt/vol meal-to-solvent ratio. A high solvent-to-collet ratio is necessary to ensure a complete extraction. Both the sample and the solvent were heated up to 50 °C before mixing them together. The agitation rate was kept constant and at such a value as to ensure both a well-mixed fluid and a homogeneous particle suspension. At the end of the contact time (2 h), the contents of the flask were immediately filtered, and the miscella was concentrated by means of a rotary evaporator. Residual hexane was removed under a nitrogen stream to constant weight. All the extractions were carried out in triplicate.

### **ANALYSIS OF MINOR COMPOUNDS**

The tocopherol content was measured using AOCS method Ce 8-89 (Firestone, 2009) with a Waters 600E HPLC (Waters Associates, Milford, MA, USA) equipped with a Nucleosil Si-100A column (250 mm length, 4.6 mm i.d., 5 µm particle size, Phenomenex, USA) and a fluorescence detector (Waters 470) with the excitation wavelength set at 290 nm and the emission wavelength set at 330 nm. Quantitative determination of phospholipids was carried out by enrichment with a diol solid-phase extraction cartridge (J.T. Backer Inc., Phillipsburg, NJ, USA) and subsequent analysis by HPLC-UV (Carelli *et al.*, 1997). A Waters 600E HPLC system (Waters Associates, Milford, MA, USA) and a Lichrosorb SI-60 column (250 × 4 mm, 5 µm particle size) (Merck, Darmstadt, Germany) were used. Wax analysis was performed by column chromatography on a double-adsorbent layer of silica gel and silver nitrate impregnated silica gel, using a mixture of n-hexane and ethyl ether as liquid phase and Sudan I dye to control the completion of the wax elution, followed by GCG with on-column injector.

A Perkin Elmer AutoSystem XL gas chromatograph equipped with an FID detector, a temperature-programmable on-column injector and a TotalCrom Workstation Version 6.3.1 data processor (Perkin Elmer, MA, USA) was used. The capillary

column was an HP-5 (5 % diphenyl and 95 % dimethyl- polysiloxane) fused-silica column of 15 m length x 0.32 mm i.d., 0.25  $\mu$ m film thicknesses (Hewlett- Packard, Palo Alto, CA).

#### STATISTICAL ANALYSIS

Values represent the means and standard deviations of three replicates. Significant differences were analyzed using analysis of variance (ANOVA) followed by comparisons between means with Fisher's LSD test, at 5 % significance level. Statistical analysis was performed using the Infostat statistical analysis software (Di Rienzo *et al.*, 2011).

#### 4. RESULTS AND DISCUSSION

The raw material (sunflower collets) was characterized, presenting the following mean values: initial moisture content =  $7.19 \pm 0.03$  %, oil content =  $21.88 \pm 0.32$  %, protein =  $33.57 \pm 0.30$  %, NDF =  $31.20 \pm 0.54$  %, ADF =  $21.65 \pm 0.17$  % and lignin =  $4.94 \pm 0.13$  %, all expressed on dry basis (d.b.).

The moisture content of the sunflower collet samples after conditioning is shown in Table 1. The samples with 6, 12 and 18 % moisture were named H<sub>1</sub>, H<sub>2</sub> and H<sub>3</sub>, respectively. The increasing moisture content caused the decrement in oil yield, rendering values statistically different between treatments ( $p = 0.003$ ).

The total tocopherol contents are shown in Table 1. In all the samples,  $\alpha$ -tocopherol,  $\beta$ -tocopherol and  $\beta$ -tocotrienol were detected, with the level of  $\alpha$ -tocopherol being higher than 93 % (Figure 1). Alpha- tocopherol content was significantly different in all the samples ( $p=0.0156$ ), whereas  $\beta$ -tocopherol ( $p=0.4032$ ) and  $\beta$ -tocotrienol ( $p=0.3648$ ) did not show significant differences. Among the minor compounds in oilseeds, tocopherols are intrinsically bound to oil body structures (Fisk *et al.*, 2006). They are amphipathic molecules, with the hydrophobic tail associating with membrane lipids and the polar head groups remaining on the membrane surface (Sattler *et al.*, 2004). This fact makes tocopherol extraction more difficult than oil extraction. Furthermore, it was reported that the lipophilicity of a molecule determines the kinetics of its transport and retention within the membranes (Kamal-Eldin & Appelqvist, 1996). As it is possible to observe from Figure 1, tocopherol content for sample H<sub>2</sub> was higher than those for samples H<sub>1</sub> and H<sub>3</sub>. As mentioned above, tocopherols are

associated with membrane lipids, thus an external force is necessary to facilitate their release during oil extraction. One of the aims of the moisture adjustment of the collets is to facilitate cell disruption, solvent penetration, and oil and minor compound extraction. However, higher moisture content could promote vitamin E degradation. According to some studies, the loss of tocopherols and tocotrienols is dependent on water activity: when water activity increases, degradation is faster (Cortes *et al.*, 2007; Eitenmiller & Lee, 2005). Eitenmiller *et al.* (2005) reported that soybean with high moisture has low tocopherol content. The results obtained in the present study are in agreement with those reported in the literature.

Total phospholipid content for the three samples is shown in Table 1, and their composition is presented in Figure 2. The moisture conditioning prior to extraction leads to a change in the phosphatide content ( $p=0.0231$ ). The values were between 12.2 and 15.4 mg/g, increasing with moisture content, but maintaining their composition ( $p\geq 0.1309$ ). The experimental results disagree with those of other studies that reported an increase in phosphatidylcholine content (Kock, 1983).

The wax fraction ranged from 34 to 60 carbon atoms (C<sub>34</sub>-C<sub>60</sub>), rendering total wax contents between 896 and 1118 ppm (Table 1). The lowest wax content corresponded to the 18% moisture sample ( $p=0.032$ ). The waxes with less than 40 carbon atoms are considered the oil soluble fraction, waxes with 40 and 42 carbon atoms are the partially soluble fraction, and waxes with more than 44 carbon atoms constitute the crystallized fraction. The main components were esters that belonged to the crystallized fraction, representing on average 59.6%, 61.1% and 64.9% for samples with 6, 12 and 18% moisture, respectively (Figure 3). However, moisture did not affect significantly this fraction ( $p=0.1903$ ) (Table 1). The partially soluble wax esters (C<sub>40</sub>-C<sub>42</sub>), and crystallisable wax esters (C<sub>44</sub> to C<sub>60</sub>) are fundamentally drawn from the seed hulls during the oil extraction process (Bäumler *et al.*, 2007; Carelli *et al.*, 2002; Carrín & Carelli, 2010; Kanya *et al.*, 2007). The content and composition of the waxes depend on the origin of the oil, seed or fruit variety, pretreatment of the raw material and the temperature and technology used in the extraction process. Oils obtained by solvent extraction have higher wax content than those obtained by mechanical extraction (Biedermann *et al.*, 2008; Carrín & Carelli, 2010; Cert *et al.*, 2000). Therefore, the distribution and amount of waxes in a vegetable oil is a good indicator of its quality and authenticity.

## 5. CONCLUSIONS

The moisture content of sunflower collets not only affects the oil yield, but also the content of minor compounds. The data obtained will provide updated information on oil yield and quality associated with moisture content, which could be useful to select the optimal operating conditions for oil extraction and to establish a trade-off between performance and quality.

## 6. REFERENCES

- ANDERSON, D. (2005). A primer on oils processing technology *Bailey's industrial oil and fat products*: Wiley Online Library.
- BAÜMLER, E. R., Crapiste, G. H., & Carelli, A. A. (2007). Sunflower-oil wax reduction by seed solvent washing. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 84(6), 603-608.
- BIEDERMANN, M., Haase-Aschoff, P., & Grob, K. (2008). Wax ester fraction of edible oils: Analysis by on-line LC-GC-MS and GC× GC-FID. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 110(12), 1084-1094.
- CARELLI, A. A., Frizzera, L. M., Forbito, P. R., & Crapiste, G. H. (2002). Wax composition of sunflower seed oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 79(8), 763-768.
- CARRÍN, M. E., & Carelli, A. A. (2010). Changes in Quality and Composition of Sunflower Oil during Processing and Storage. In M. Tomas (Ed.), *Advances in Fats and Oils Research* (pp. 25-48). Kerala (India) Editorial Transworld Research Network.
- CERT, A., Moreda, W., & Pérez-Camino, M. (2000). Chromatographic analysis of minor constituents in vegetable oils. *Journal of Chromatography A*, 881(1), 131-148.
- CORTES, M., Osorio, A., & García, E. (2007). Manzana deshidratada fortificada con vitamina E utilizando la Ingeniería de Matrices. *Vitae (Medellín)*, 14(2), 17-26.
- DI RIENZO, J., Casanoves, F., Balzarini, M., Gonzalez, L., Tablada, M., & Robledo, y. C. (2011). InfoStat versión 2011. *Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina*. URL <http://www.infostat.com.ar>.
- EITENMILLER, R. R., & Lee, J. (2005). *Vitamin E: food chemistry, composition, and analysis*: CRC Press. Firestone, D. (2009). *Official and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society* (6th Edition ed.). USA: AOCS Press.
- FISK, I. D., White, D. A., Carvalho, A., & Gray, D. A. (2006). Tocopherol—an intrinsic component of sunflower seed oil bodies. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 83(4), 341-344.

- JACOBSEN, L., & Backer, L. (1986). Recovery of sunflower oil with a small screw expeller. *Energy in agriculture*, 5(3), 199-209.
- JOHNSON, L. A. (2008). Recovery, refining, converting, and stabilizing edible fats and oils. *Food lipids chemistry, nutrition and biotechnology*, 3rd edn. CRC Press, Boca Raton, 205-244.
- KAMAL-ELDIN, A., & Appelqvist, L.-Å. (1996). The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. *Lipids*, 31(7), 671-701.
- KANYA, T., Rao, L. J., & Sastry, M. (2007). Characterization of wax esters, free fatty alcohols and free fatty acids of crude wax from sunflower seed oil refineries. *Food Chemistry*, 101(4), 1552-1557.
- KARLOVIĆ, D., Jakovljević, D., & Turkulov, J. (1988). Einige technologische Aspekte der Maiskeimölverarbeitung in Jugoslawien. *Lipid/Fett*, 90(8), 322-325.
- KOCK, M. (1983). Oilseed pretreatment in connection with physical refining. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 60(2), 198-202.
- LAWSON, O. S. (1999). *Evaluation of the parameters affecting the solvent extraction of soyabean oil*. Federal University of Technology, Akure.
- LEI, X., DIOSADY, L., Tzia, C., & Liadakis, G. (2003). Fats and oils from plant materials. *Extraction optimization in food engineering*, 181-215.
- LEIBOVITZ, Z., & Ruckenstein, C. (1983). Our experiences in processing maize (corn) germ oil. *Fette, Seifen, Anstrichmittel*, 85(S1), 538-543.
- MINASIAN, N., Kopeikovskii, V., & Koskevoi, E. (1972). effect of various factors on the extraction of corn oil. *Maslo zhir Prom.*
- PAQUOT, C., & Hautfenne, A. (Eds.). (1992). *Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivatives* (7th edition ed.). Oxford, UK: Blackwell Scientific.
- SATTLER, S. E., Gilliland, L. U., Magallanes-Lundback, M., Pollard, M., & DellaPenna, D. (2004). Vitamin E is essential for seed longevity and for preventing lipid peroxidation during germination. *The Plant Cell Online*, 16(6), 1419-1432.
- VAN SOEST, P., Robertson, J., & Lewis, B. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of dairy science*, 74(10), 3583- 3597.



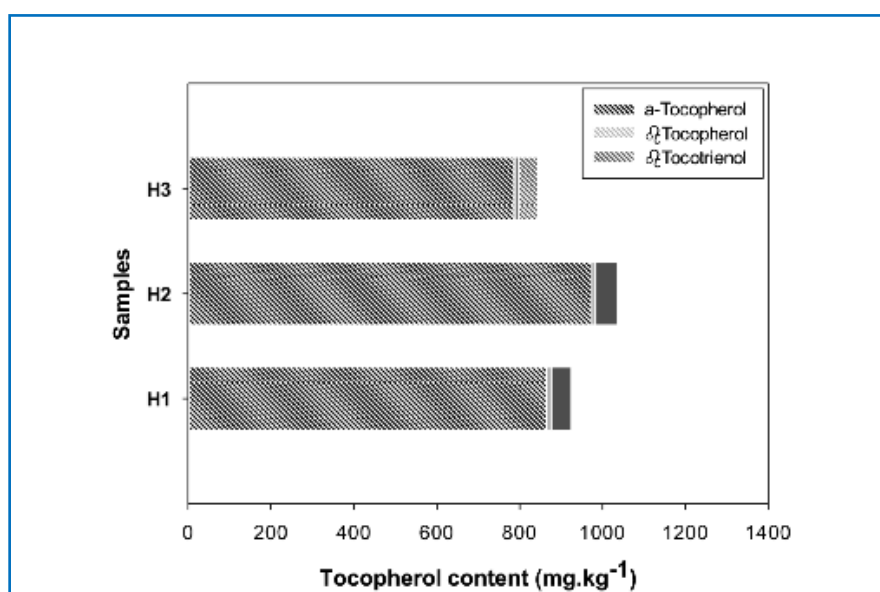
## 7. TABLES AND FIGURES

**TABLE 1.** Average composition of sunflower oil at different moisture contents of the collets

| Components                | H <sub>1</sub>            | H <sub>2</sub>            | H <sub>3</sub>            |
|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Moisture content (% d.b.) | 5.65 ± 0.37               | 12.40 ± 1.42              | 18.92 ± 2.72              |
| Oil (% d.b.)              | 20.83 ± 0.08 <sup>a</sup> | 21.35 ± 0.15 <sup>b</sup> | 21.23 ± 0.13 <sup>b</sup> |
| Tocopherols (ppm)         | 925 ± 71 <sup>ab</sup>    | 1037 ± 48 <sup>b</sup>    | 843 ± 55 <sup>a</sup>     |
| Phospholipids (mg/g oil)  | 12.21 ± 0.63 <sup>a</sup> | 12.45 ± 1.79 <sup>a</sup> | 15.45 ± 1.24 <sup>b</sup> |
| Total waxes (ppm)         | 1079 ± 72 <sup>b</sup>    | 1118 ± 65 <sup>b</sup>    | 896 ± 129 <sup>a</sup>    |
| Crystallized waxes (ppm)  | 643 ± 70 <sup>a</sup>     | 683 ± 45 <sup>a</sup>     | 565 ± 88 <sup>a</sup>     |

Mean values ± standard error (n=3).

Any two means in the same row followed by the same letter are not significantly different ( $p > 0.05$ ) by the Fisher's LSD method.



**FIGURE 1.** Tocopherol content in oil extracted from sunflower collets at different moisture contents

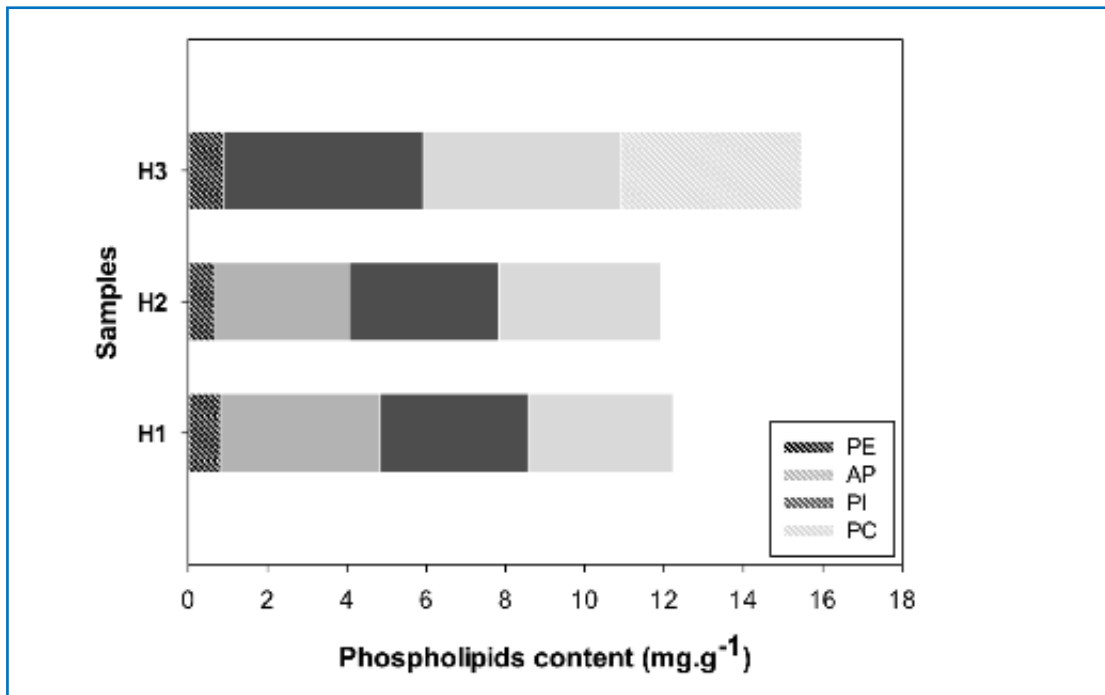


FIGURE 2. Phospholipid content in oil extracted from sunflower collets at different moisture contents

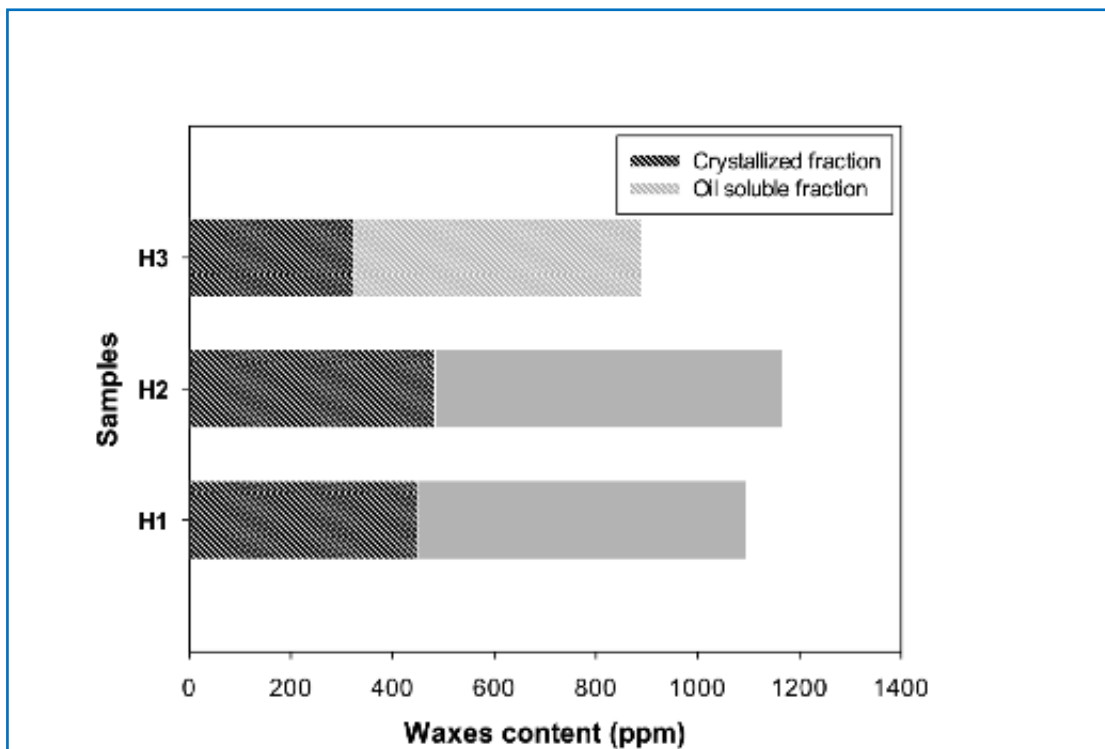


FIGURE 3. Wax content in oil extracted from sunflower collets at different moisture contents

# PRODUCTION OF SATURATED MONOGLYCERIDES BY ENZYMATIC ESTERIFICATION IN SOLVENT FREE SYSTEMS

Camila Andrea Palla, María Elena Carrín

## 1. ABSTRACT

Enzymatic esterification of glycerol can be used to produce saturated monoglycerides in mild reaction conditions. Commercial biocatalysts from *Rhizomucor miehei* lipases were used to synthesize monoglycerides by esterification reaction of glycerol and palmitic–stearic acids mixture (P+St) in solvent free systems. The influence of important factors such as glycerol: P+St molar ratio and amount of biocatalyst on monoglycerides formation and conversion were analyzed. The reaction medium containing the highest excess of glycerol favored the monoglyceride synthesis. The best results were obtained using a 8:1 molar ratio (G: P+St) and 5 % by weight of lipases. Under these conditions, a conversion of 86 % of the initial fatty acid and a selectivity of 69 % for the formation of monoglycerides was reached.

## 2. INTRODUCTION

In the food industry, monoglycerides (MG) are widely used in bakery products, margarines, dairy, and confectionary products due to their emulsifying, stabilizing, and confectionary properties. The conventional chemical method to produce MG involves the glycerolysis of fats and oils at high temperatures (220–260 °C) and elevated pressure under nitrogen atmosphere while employing inorganic alkaline catalysts. The use of enzymes as catalysts seems to be a good alternative for processing, taking advantage of their regiospecificity and of the mild conditions under which they work. However, previous contributions indicated that the main challenge of

---

CONTACTO: Camila Andrea Palla [cpalla@plapiqui.edu.ar](mailto:cpalla@plapiqui.edu.ar)  
Planta Piloto de Ingeniería Química (PLAPIQUI), Universidad  
Nacional del Sur-CONICET, Argentina.

these systems is searching for suitable solvent system to obtain the substrates miscibility (Bellot *et al.*, 2001, Damstrup *et al.*, 2005). To avoid this problem and generate processes environmentally friendlier, this work aimed to establish appropriate conditions for MG synthesis by direct esterification of glycerol (G) with palmitic and stearic acids (P+St) in a solvent free system using commercial immobilized lipases (Lipozyme RMIM). Reactions were carried out at a higher temperature than melting point of fatty acids, 70 °C, for 24 hs. Effects of some reaction parameters, substrate molar ratio (3:1 and 8:1) and amount of biocatalyst in reaction medium (5 and 15 % wt), over selectivity towards monoglycerides formation and conversion were analyzed.

### 3. MATERIALS AND METHODS

#### MATERIALS

Glycerol (99.9% purum) was obtained from Anedra. Palmitic acid-stearic acid mixture (P+St)-98.9% purum with 53.0% of palmitic acid and 45.9% of stearic acid analyzed by GC-(Fluka) were purchased from Sigma–Aldrich (Germany). Immobilized lipases from *Rhizomucor miehei* [EC number 3.1.1.3, Lipozyme RMIM, immobilized on ion-exchange resin, sn-1,3 specific, with an original water content of 5.1% (w/w), determined by the Karl Fisher Titration Method was a generous gift of Novo Nordisk (Bagsvaerd, Denmark) and they were used as received. Fatty acid methyl esters (FAME) standards were purchased from Supelco (Bellefonte, USA). Other standards (1,2,3-trioctadecanoyl-glycerol, 1,2,3-trihexadecenoyl-glycerol, 1,2-distearoyl-3-palmitoyl-rac-glycerol, 1,3-dipalmitoyl-rac-glycerol, 1-monopalmitoyl-rac-glycerol, glyceryl tridecanoate, tetradecane) were of more than 98% purity and were obtained from Sigma Chemical Co. (St. Louis, USA). Pyridine was from J.T. Baker (Philipsburg, USA) and N-Methyl-N-trimethylsilyltrifluoroacetamide (MSTFA) was obtained from Fluka (Buchs, Switzerland). All the other reagents, gases and solvents were of analytical or chromatographic grade.

#### ESTERIFICATION REACTION

Blends constituted by glycerol and the correspondent amount of P+St, needed to obtain the desired molar ratio of substrates (total substrate weight  $\approx$  1 g), were placed in a screw-capped test tube, preheated in a water bath with a temperature con-

troller (70 °C) and magnetic agitation (250 rpm) and, after 5 min of homogenization, biocatalysts (5-15 % w/w of substrates) were added to start the reaction. After 24 h, tubes were removed and 5 ml of hexane/ethanol solution (1:1, mol/ mol) was added to dissolve reaction products. Reactions were stopped by removing enzymes by filtering with Whatman Grade 1 filter paper. Reaction products were stored at -20 °C.

#### ESTERIFICATION PRODUCTS ANALYSIS

Quantification of glycerol, free fatty acids (FFA), monoglycerides (MG), diglycerides (DG) and triglycerides (TG) was performed simultaneously by GLC by means of a 4890D series gas chromatograph (Agilent, Hewlett-Packard) equipped with a FID (adapted from IRMM Method EUR 20831 EN). A metallic capillary column (MXT- 65TG, 30 m × 0.25 mm × 0.1 μm film thickness; Restek, Bellefonte, USA) was used. The injector was used in split mode (split ratio of 1:70) and held at 360 °C. The detector temperature was constant and equal to 380 °C. The oven temperature was programmed to be at 40 °C for 4 min, then increased first from 40 °C to 350 °C at the rate of 15 °C/min and then to 360 °C at the rate of 0.2 °C/min. Hydrogen was used as the carrier gas at a linear velocity of 33.6 cm/s. The internal standard method was used to quantify glycerol and each group (FFA, MAG, DAG and TAG) with a response factor for each one, being tetradecane the internal standard for glycerol and FFA, glyceryl tridecanoate for MAG and DAG and tripalmitolein for TAG. Data acquisition and peak integration were carried out using HP 3398A GC Chemstation Software (Hewlett-Packard, 1998).

#### CALCULATION OF SELECTIVITY AND CONVERSION

The selectivity values obtained in the reaction systems were determined by equation (1).

$$\% \text{ Selectivity} = \frac{\%MG}{\%MG + \%DG + \%TG} \quad (1)$$

where %MG is mol percentage of monoglycerides formed in the reaction, %DG is mol percentage of diglycerides formed in the reaction and %TG is mol percentage of triglycerides formed in the reaction.

The percentage of conversion to ester was calculated from the disappearance of the free fatty acid from the reaction medium using equation (2).

$$\% \text{ Conversion} = \frac{(P + St)_i - (P + St)_f}{(P + St)_i} * 100 \quad (2)$$

where  $(P+St)_i$  are initial moles of fatty acids and  $(P+St)_f$  are final moles of fatty acids in reaction medium.

#### 4. RESULTS AND DISCUSSION

Table 1 shows the composition of acylglycerides in reaction products. The highest formation of monoglycerides was achieved using the highest ratio of substrates (8:1) and the lowest amount of enzyme (5 wt%) in the reaction media. In these conditions, it was possible to obtain the highest selectivity. Likewise, the results suggested that a higher excess of glycerol favored the synthesis of monoglycerides and the fatty acids consumption. Similarly, Freitas *et al.* (2007) found that MG formation increased with the increase of substrate ratio defined as molar ratio glycerol/lauric acids in the esterification between them. They suggested that this behaviour can be explained by the character of the immobilizing support, which requires a higher amount of glycerol (hydrophilic) to reach high conversion in the reaction.

On the other hand, an increment in the amount of biocatalyst incremented the amount of diglycerides and triglycerides in reaction products, which negatively affects the selectivity for monoglyceride production. Taking in account that a more efficient process was obtained with the lowest amount of lipase, it is a good result from an economical point of view due to the high cost of lipases.

#### 5. CONCLUSIONS

The results indicated the feasibility to produce saturated monoglycerides in a solvent free medium with high conversion and selectivity. The best results were obtained using a 8:1 molar ratio (G: P+St) and 5 % by weight of lipases. Under these conditions, a conversion of 86 % of the initial fatty acid and a selectivity of 69 % for the formation of monoglycerides was reached. This result represents a promising starting point for carrying out reactions with the substrate of interest: glycerol obtained from the supercritical biodiesel production. The use of glycerol wastes would allow to increase the overall profitability of biodiesel production process.

## ACKNOWLEDGMENTS

This work was financially supported by the Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), the Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT), and the Universidad Nacional del Sur (UNS) in Argentina.

## 6. REFERENCES

- BELLOT J.C, Choisnard L., Castillo E., and A. Marty, (2001) "Combining solvent engineering and thermodynamic modeling to enhance selectivity during monoglyceride synthesis by lipase-catalyzed esterification" in *Enzyme and Microbial Technology*, 4-5, 28, pp. 362-369
- DAMSTRUP M.L., Jensen T., Sparso F.V., Kill S.Z, Jensen A.D., and Xu X., (2005) "Solvent optimization for efficient monoacylglycerol production based on a glycerolysis reaction" in *Journal of the American Oil Chemists Society*, 82, 8, pp. 559-564.
- FREITAS L., Perez V.H., Santos J.C., and Castro H.F. de., (2007) "Enzymatic synthesis of glyceride esters in solvent-free system: influence of the molar ratio, lipase source and functional activating agent of the support" in *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 18, 7, pp. 1360-1366.

## 7. TABLES AND FIGURES

**TABLE 1.** Selectivity towards monoglyceride production and conversion in esterification reactions of glycerol with P+St at 70 °C during 24 h.

| G: P+St molar ratio | Amount of lipase (% wt) | MG (%)     | DG (%)     | TG (%)    | Selectivity (%) | Conversion (%) |
|---------------------|-------------------------|------------|------------|-----------|-----------------|----------------|
| 3:1                 | 5                       | 61.2 ± 0.3 | 33.4 ± 0.5 | 5.4 ± 0.3 | 61.2            | 75.1           |
| 3:1                 | 15                      | 59.2 ± 0.1 | 33.5 ± 0.4 | 7.3 ± 0.5 | 59.2            | 74.8           |
| 8:1                 | 5                       | 68.8 ± 0.3 | 29.7 ± 0.4 | 1.5 ± 0.1 | 68.8            | 83.9           |
| 8:1                 | 15                      | 63.9 ± 0.5 | 32.4 ± 0.5 | 3.7 ± 0.1 | 63.9            | 86.0           |

# EVALUATION OF STABILITY OF POWER SALTING OF SALT (NaCl) MICROPARTICLES IN SHOESTRING POTATOES

Juliana Farinassi Mendes, Daniela María Rodrigues, Síntia Carla Corrêa,  
Ana Carla Marques Pinheiro

## 1. ABSTRACT

The overuse of sodium is related to cardiovascular diseases, so the sodium reduction in processed foods is necessary. It is known that NaCl (sodium chloride) small particles have the same salty taste as normal particles but with a lower content of sodium chloride. However it is not known if this particle reduction of NaCl results in the same taste throughout its storage. In this context, the objective of this work was to evaluate the stability of the salting potency of sodium chloride micro particles, common salt, in shoestring potatoes. The material used was sodium chloride (Cliper<sup>®</sup>), which was crushed in blenders and the reduced particles were separated by sieve of 325 mesh and commercial unsalted shoestring potatoes. The experiment consisted of two tests, in the first, shoestring potatoes was salted with 1.6% of salt (particles of 610  $\mu\text{m}$ ) and the second, shoestring potatoes was salted with 0.78% of salt (particles of 26  $\mu\text{m}$ ). After salting the shoestring potatoes, they were placed in containers and stored in time intervals of 0 to 90 days (and analyzed in intervals of 15 days). A sensory tests of magnitude estimation with selected and trained panelists were conducted until 60 days of storage, once that in this time, the shoestring potato with 0.78% of NaCl ripened. Evaluating the results, it was observed that the samples with 1.6% of NaCl presented a decrease in the salting potency of approximately 9% until the 60<sup>th</sup> day of tests however this loss did not affect the quality of the potato. Regarding the treatment with 0.78% sodium, it decreased the capability of salting by approximately 20% until the 60<sup>th</sup> day of tests. Then, we concluded that

---

CONTACTO: Síntia Carla Corrêa [correa.sintia@gmail.com](mailto:correa.sintia@gmail.com)  
Department of Food Science, Federal University of Lavras,  
Lavras, Brazil.



even though the salt in reduced particles presented bigger salting potency than salt with larger particles, it also presented lower stability in the storage of the shoestring potatoes.

## **2. INTRODUCTION**

The consumer is becoming more aware of the relationship between diet and disease, which has driven research in order to reduce the amount of fat, sugar and salt in food and the development of functional foods and their effects on the body. In general, most of the population is sodium intake well above the recommended level, and there are a large number of studies showing that the sodium intake is associated with increased blood pressure and the risk of cardiovascular disease (He, Feng J ; MacGregor, 2007). In order to meet the needs of consumers and health-conscious population, the Ministry of Agriculture and Health are creating new ordinances, decrees, resolutions, rules and instructions aimed at reducing sodium. Specifically, in accordance with chips or shoestring potato for sodium reduction is 5 % per year until 2016 from 720 mg of sodium in 100 grams of potato chips or shoestring potato to 529 mg of sodium per 100 grams of potato chips or shoestring potato. Reducing the salt content in processed foods presents a major challenge, primarily due to sensory limitations, functional properties and microbiological safety of a foodstuff. Given the above, the objective is evaluate the stability of salting potency of sodium chloride microparticles, common salt in shoestring potatoes.

## **3. MATERIALS AND METHODS**

The experiment was conducted at the Federal University of Lavras (UFLA). The materials used were the commercial shoestring potatoes without added sodium and sodium chloride Cliper®.

### **Grinding and sieving of sodium chloride**

The grinding of sodium chloride (NaCl) was performed using a blender, thereafter the particles obtained were subjected to screening on mesh screens 100, 200, 270 and 325, where the ground portion was placed in a first sieve of 100 mesh. sodium chloride (NaCl) without fragmentation was also used as control. In the last exper-

iment of sodium chloride through a sieve of 325 mesh, which represents the smallest particle salt was used in the experiment.

### **Stability Assessment of shoestring potatoes stored microparticles with sodium chloride (NaCl)**

The experiment consisted of two tests, one in which the salt was shoestring potatoes with 1.6% salt (particles of 610  $\mu\text{m}$ ) and the second was shoestring potatoes salty with 0.78% salt (particles 26  $\mu\text{m}$ ). Then, they were packed in laminated, sealed and stored at room temperature, cool and dry plastic containers, simulating a real condition. The storage times were 15, 30, 45, 60.75 and 90 days, except the time control that was salty at the time of sensory analysis. After this period the test of magnitude estimation with trained panelists was conducted.

### **Magnitude Estimation**

The panelists were selected from the 30 volunteers by means of triangular tests using samples of potato chips using Wald's sequential method (Amerine *et al.* 1965). Thus 12 judges were selected. The selected judges were trained to use magnitude scales according to Souza *et al.* (2011). The optimum concentration of sodium chloride 1.6% was determined based on information about the commercial shoestring potato and pre-testing. For the analysis of magnitude estimation panelists received a reference sample (with ideal concentration of sodium chloride, 1.6%), with a potency called a salinity of 100, followed by several samples of shoestring potatoes according to times 15, 30, 45, 60, 75 and 90 days, which were coded and presented in a balanced way (Macfie *et al.* 1989). Then they were asked to estimate the intensity of salty flavor of the samples of shoestring potato compared with the reference. For example, if the sample is two times saltier than the reference must be given a value of 200; presented half salting was given a value of 50 (Lawless and Heymann, 2010).

### **Determination of Water Activity ( $A_w$ )**

For the evaluation of water activity ( $A_w$  or - Activity water), used the AquaLab device, which uses the technique of determining the dew point

Data were analyzed by ANOVA and regression, to verify the ANOVA calculations and graphics were obtained through SensoMaker program (Nunes & Pinheiro, 2013) and Excel 2010, respectively.

#### **4. RESULTS AND DISCUSSION**

##### **Water activity ( $A_w$ )**

The results of the water activity ( $A_w$ ) of shoestring potatoes are shown in Table 1. According to results, it was found that there were no statistically significant differences between samples unsalted shoestring potatoes and shoestring potatoes salting with 1.6% NaCl, with significant difference between the sample of shoestring potatoes with 0.78% NaCl and others. The shoestring potatoes with 0.78% NaCl, were those had the lowest moisture content and potatoes treated with 1.6% sodium chloride showed up with free water intermediary. Regarding unsalted shoestring potatoes, reductions in activity levels of water were 0.4% and 3.26% with the potatoes to the concentration of 1.6% and 0.78% sodium chloride, respectively. The decrease of water activity of shoestring potatoes may have been provided by preservative effect of salt, since it has dehydrating capacity as well as the property of reducing the partial vapor pressure of the solutions in which it is (Ambiel, 2004).

##### **Shelf life study of shoestring potatoes and stability of sodium chloride (NaCl) microparticles**

Sensory analysis regard to shoestring potatoes shelf life at a concentration of 0.78% sodium chloride, stored for 90 days, panelists took realize the samples 75 and 90 days, the following characteristics: rancid flavor oxidized and change in crispness. Thus, samples that were not accepted by sensory panelists 75 days and 90 days, the tests were taken. The same was not perceived by the panelists in respect shoestring potatoes samples at a concentration of 1.6% sodium chloride. The factors affecting the stability of these samples may be related to the reduction of sodium chloride particles, as compared to the concentration of sodium chloride used as salt concentration decrease and cause organoleptic and technological limitations in foods ultimately affect the preservation of product and decreases drastically by chance, its period of validity (Desmond, 2006).

##### **Salting potency of microparticle Sodium Chloride during the storage time**

Figure 1 shows the results of sensory evaluation shoestring potatoes salting with 1.6% sodium chloride (ideal salting) and Figure 2 presents the results of sensory evaluation of shoestring potatoes salting with 0.78% sodium chloride with re-

duced particles through the test magnitude scale. For shoestring potatoes salting with 1.6 % sodium chloride, it was observed that the maximum magnitude was 123 relating to shoestring potatoes at time zero and after 30 days of storage occurred in a sensitive decrease power values salting. And shoestring potatoes with 0.78 % NaCl with reduced particle size, the maximum magnitude observed by the panelists, was 108 related to time zero. Likewise treatment with 1.6 % NaCl, there was a reduction in salting potency. According to figures 1 and 2, it is observed that there was no significant difference either between the mean values of 1.6 % sodium chloride treatments as to 0.78 % NaCl.

Comparing the storage time of 60 days for the two salting meats, there has been a loss of 8 % salting and 19 % salting to 1.6 % sodium chloride and 0.78 % sodium chloride particles with reduced particle size. The trend toward greater loss of salting capacity treatment with sodium reduction (0.78 % NaCl), may be associated reactions of rancidity, from increased moisture absorption by the sodium chloride present in shoestring potatoes, as can be seen in Table 1, which compares the content of free water present in the shoestring potatoes as a function of salt concentration. Also, another factor determining this reduction is due to lower concentration of sodium chloride solution used, due to the reduction of the particles of sodium.

The reduction of chloride sodium particulate afforded the dissolution of sodium chloride in itself shoestring potatoes, rather than occur in taste cells. For when sodium chloride came into contact with free water present in the composition of shoestring potatoes, for agree or because of the atmospheric moisture absorption, NaCl molecule dissociated into  $\text{Na}^+$  and  $\text{Cl}^-$ , causing the amount of  $\text{Na}^+$  intended to penetrate the gustatory cell through ion channels, which would cause electrical changes within the cells, resulting into electrical impulses which would be issued to the brain and then recognizing the salty taste occurs, it was very low since the molecules of sodium chloride were already dissociated causing a release rate NaCl at reduced saliva.

## 5. CONCLUSIONS

It was found that the samples of shoestring potatoes at a concentration of 1.6 % sodium chloride (NaCl), ie ideal salting, showed storage time of 90 days, as opposed to treatment with 0.78 % sodium chloride with reduced particle size, that showed shelf life of approximately 60 days. The salting stability of shoestring potatoes has

changed during the storage time, causing a reduction salting potency in both tests, whereas salting of shoestring potatoes with sodium chloride reduced particles size was more intense.

## 6. REFERENCES

- DESMOND, E. meat. Reducing salt: A challenge for the meat industry. *Meat Science*, v.74, p.188-196, 2006.
- GRANDI, D.; Freitas, C. Determinação do Equivalente de Salinidade de Sais Substitutos do Cloreto de Sódio. *Comunicado Técnico*, Dezembro, 2011, Rio de Janeiro.
- GREEN, B.G.; Danton, P.; Cowart, B.; Shaffert, G.; Rankin, K. & Higgins, J. Evaluating the Labeled Magnitude Scale for Measuring Sensations of Taste and Smell. *Chemical Senses*, 1996.
- GUINEE, T.P. Salting and the role of salt in cheese. *International Journal of Dairy Trechonology*, v.57, n.2, p. 99-109, 2004.
- HE, F.J.; Macgregor, G.A. A dietary salt, high blood pressure and other harmful effects on health. In *Reducing Salt in Foods*; Kilcast, D., Angus, F.; Eds.; Woodhead Publishing: Cambridge, UK, 2007; p. 18-54.
- LAWLESS, H. T.; Heymann, H. *Sensory Evaluation of Food: Principles and Practices*. 2 Ed., Springer, 2010.
- MACFIE, H.J., Bratchell, N., Greenhoff, K. & Vallis, L.V. (1989). Designs to balance the effect of order of presentation and first-order carry-over effects in hall tests. *J. Sensory Studies*, 4, 129-148.
- NUNES, C. A.; Pinheiro, A. C. M. *SensoMaker*, version 1.7. UFLA, Lavras, 2013.

## 7. TABLES AND FIGURES

**TABEL 1.** Water activity ( $A_w$ ) of shoestring potato at time zero

| TRATAMENTO                      | ATIVIDADE DE ÁGUA ( $A_w$ ) |
|---------------------------------|-----------------------------|
| Shoestring potato - unsalted    | 0,522 (0,003) a             |
| Shoestring potato - 1,6% NaCl   | 0,520 ( 0,007) a            |
| Shoestring potato - 0,78 % NaCl | 0,505 (0,002) b             |
| General average                 | 0,520                       |
| CV (%)                          | 0,97                        |

Means followed by same letter in columns do not differ statistically by Tukey test ( $\alpha = 0.05$ ). Inside the parentheses are standard deviation.

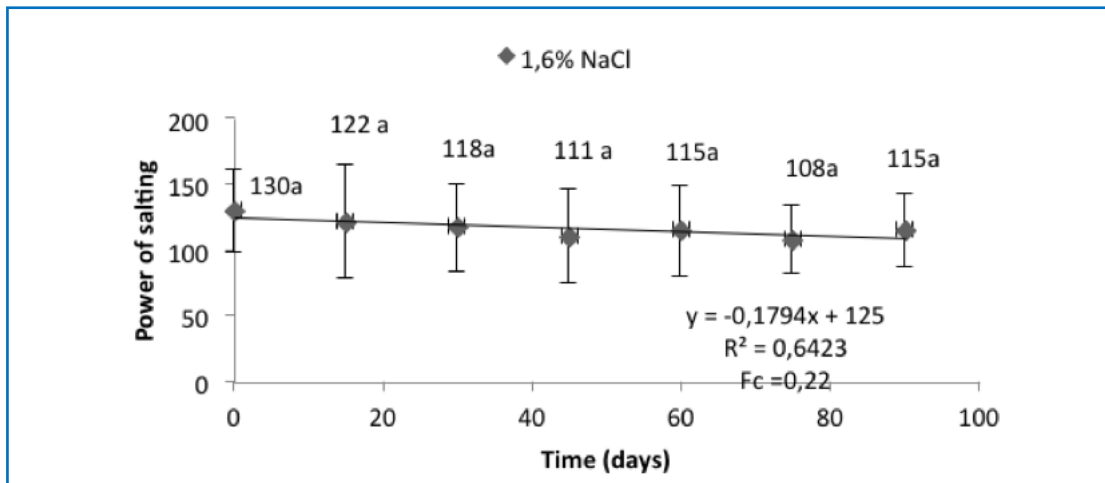


FIGURA 1. Potential shoestring potato salting with 1.6% sodium chloride

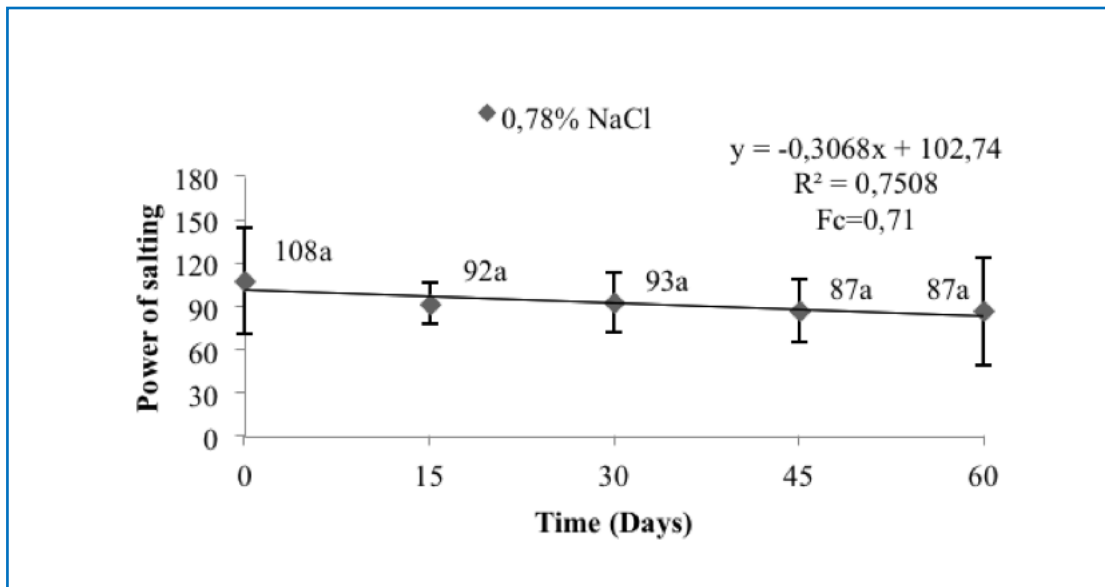


FIGURA 2. Salting Potency of shoestring potatoes salting with 0,78% sodium chloride (reduced particle size)

# USO DE TECNOLOGÍA DE LAVADO PARA MEJORAR LA CALIDAD EXTERNA DE NUEZ PECÁN CON CÁSCARA

Marina Graciela Panozzo

## 1. RESUMEN

La nuez pecán en Argentina se comercializa mayoritariamente entera. Es deseable que los frutos secos se encuentren limpios y posean coloraciones claras. Con los objetivos de evaluar la viabilidad de aplicar un proceso de lavado y probar distintos productos, determinando cuál de ellos da mejores resultados en cuanto a coloración externa de los frutos sin incidir negativamente en la posterior conservación de los mismos, nueces de pecán de la variedad *Starking*, se sometieron a un proceso de lavado con agitación durante 2 minutos en una centrifuga manual, con: agua de pozo, solución de hipoclorito de sodio y con solución de detergente neutro. Se dejó un testigo sin lavar. Las nueces se orearon durante 24h a temperatura ambiente, se secaron a  $32,5 \pm 0,5$  °C y se conservaron durante 9 meses en oscuridad en un recinto cerrado sin control de temperatura. Se determinó la humedad de los pecanes, se midió color y se calcularon el croma y el tono en diferentes momentos del ensayo. También se efectuaron 2 análisis sensoriales. Las nueces inicialmente están asociadas al sabor dulce y a colores claros, sin influencia de los tratamientos efectuados. Durante la conservación las nueces se oscurecieron y perdieron el sabor dulce, tornándose rancias y amargas, no existiendo diferencias significativas entre las variables medidas. La humedad presentó valores estadísticamente iguales para todos los tratamientos. Durante la conservación los valores de  $a^*$ ,  $b^*$  y  $C^*$  aumentan significativamente para todos los tratamientos. La luminosidad no se modifica para tratamiento testigo ni para el lavado con hipoclorito; sin embargo disminuye drásticamente para las nueces lavadas con agua de pozo y detergente neutro. Se concluye

---

CONTACTO: [panozzo.marina@inta.gob.ar](mailto:panozzo.marina@inta.gob.ar)

Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria.

que es posible aplicar un proceso de lavado corto a nueces de pecán sin modificar los tiempos de secado ni alterar la calidad sensorial de la pepita, siendo el lavado con agua el que confiere coloraciones más claras que las hacen más atractivas para la comercialización.

## 2. INTRODUCCIÓN

Las nueces de pecán [*Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch] son nativas de América del Norte. Su producción mundial ronda entre 230.000 y 250.000 toneladas anuales siendo Estados Unidos y México los principales productores con 130.000 y 100.000t de nuez con cáscara respectivamente (USDA-NASS, 2011).

La producción de pecán en Argentina alcanza las 1800t (PortalCoop, 2013). Esta se comercializa mayoritariamente, tanto para el mercado interno como el de exportación, en forma de nuez entera.

Las variedades de cáscara fina como *Stuart*, *Kernodle*, *Starking*, *Mahan* y *Harris Súper* son las más apropiadas para el mercado de la nuez con cáscara (Valentini, 2011) ya que son fáciles de pelar por los consumidores.

Es deseable que durante la conservación y comercialización los frutos secos se encuentren limpios y posean coloraciones claras (USDA, 1997). Esto muchas veces resulta difícil debido a que el método de cosecha más común es la recolección de frutos del suelo, ya sea mecánica o en forma manual. Se hace necesaria entonces la eliminación de la suciedad superficial de las nueces. El presente trabajo tiene como objetivos evaluar la viabilidad de aplicar un proceso de lavado durante los tratamientos postcosecha que favorezca la comercialización de la nuez pecán entera y probar distintos productos en el lavado, determinando cuál de ellos da mejores resultados en cuanto a coloración externa de los frutos sin incidir negativamente en la posterior conservación de los mismos.

## 3. MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un ensayo de lavado y conservación de nuez pecán [*Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch] de la variedad *Starking*, cosecha mayo de 2013. Todas las nueces se cosecharon el mismo día en un campo experimental perteneciente a INTA Concordia.



Las nueces se sometieron a un proceso de lavado con agitación durante 2 minutos en una centrifuga manual para escurrido de vegetales, con diferentes productos: agua de pozo, solución de hipoclorito de sodio 100ppm de cloro activo y solución de detergente neutro 0,33 % v/v con posterior enjuague para eliminar la espuma. Se dejó un testigo sin lavar. Todos los tratamientos contaron con 4 repeticiones de 20 nueces.

Después del lavado las nueces se dejaron orear durante 24h a temperatura ambiente en el galpón de Postcosecha de la EEA Concordia. Posteriormente las nueces se secaron a  $32,5 \pm 0,5$  °C y se conservaron durante 9 meses en oscuridad en un recinto cerrado sin control de temperatura y humedad.

Se midió color antes del lavado, al finalizar el oreo, una semana después del lavado y al finalizar el período de conservación. El color de las nueces se determinó utilizando un colorímetro triestímulo Minolta modelo CR-300 (Minolta, Osaka, Japón) realizando un disparo sobre la parte basal de la nuez entera, de acuerdo con el sistema de evaluación de la CIE Lab (Comission International de l'Eclairage). Se determinaron los parámetros del color proporción rojo/verde ( $a^*$ ), proporción amarillo/azul ( $b^*$ ), claridad ( $L^*$ ) y se calcularon el croma ( $C^*$ ) y tono ( $h^*$ ) según el método CIE Lab de 1976.

Se efectuaron 2 evaluaciones sensoriales con jueces semientrenados que trabajaron en una sala acondicionada según lo establece la Norma IRAM 20003 (1995). La primera se efectuó con 12 evaluadores una semana después de realizado el lavado. Se usaron 2 de las repeticiones de cada tratamiento. Los jueces evaluaron color de la pepita, sabor rancio, amargo y dulce en una escala no estructurada de 10 cm. Además, se les solicitó que describieran cualquier olor o sabor extraño que logaran percibir, de manera de poder identificar si las muestras habían quedado impregnadas con los compuestos con las que fueron lavadas. Para esto se entregaron a los evaluadores en forma monádica y balanceada, las nueces enteras en recipientes codificados con números de 3 dígitos aleatorios, se les solicitó que las rompan y las huelan inmediatamente después de quebrada la cáscara, antes de evaluar las demás variables. La segunda evaluación sensorial se realizó de forma similar a la anterior al finalizar el período de conservación. Participaron 14 jueces.

Se determinó la humedad de los pecanes al ingresar al laboratorio y antes de cada evaluación sensorial, mediante diferencia de peso, secándolos hasta peso constante en estufa a  $105 \pm 0,5$  °C.

## ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Los procedimientos estadísticos fueron realizados utilizando el programa estadístico Minitab versión 16. Los datos de color y humedad se sometieron a un análisis de ANOVA y se utilizó el test de Tukey con un nivel de confianza de  $p < 0,05$ . Para comparar los datos de la evaluación sensorial, debido a que los jueces no habían concluido su entrenamiento, se aplicó un diseño en bloques y se realizó un análisis ANOVA empleando el test de Dunnett para un nivel de confianza de 95 %. Se efectuó un Análisis de Componentes Principales para las variables estudiadas con el programa InfoStat versión 2001.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las alteraciones en el color de las nueces lavadas y almacenadas por 279 días, están expresados en la Figura 1 y Tabla 1. Inicialmente todos los parámetros de color de los 4 tratamientos eran estadísticamente iguales. Otros autores (Ragab Khir *et al.*, 2014) encontraron valores de  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  similares para nueces de pecán con cáscara, de otras variedades con igual contenido de humedad.

Al finalizar el oreado ya se observan diferencias significativas en el tono y en el parámetro  $a^*$  del testigo.  $a^*$  disminuye significativamente tendiendo a una coloración menos rojiza a partir de la cosecha para el testigo, mientras que en las nueces sometidas a lavado el parámetro  $a^*$  permanece inalterado. Contrariamente, el Tono aumenta para el testigo, diferenciándose significativamente de los demás tratamientos.

Luego de que las muestras se sometieron al proceso de secado las coordenadas del valor  $b^*$  de los tratamientos de lavado con agua y detergente aumentan, tornándose las nueces más amarillas. Lo mismo ocurre con  $h^*$ .

Durante la conservación de las nueces los valores de  $a^*$ ,  $b^*$  y  $C^*$  aumentan significativamente para todos los tratamientos. El tono también aumenta significativamente para todos los tratamientos exceptuando el lavado con agua, en el que  $h^*$  se mantiene inalterado luego del proceso de secado. La luminosidad no se modifica para el testigo ni para las nueces lavadas con hipoclorito de sodio; sin embargo disminuye drásticamente para los tratamientos de lavado con agua y detergente.

Al finalizar la conservación se observan mayores valores de  $a^*$  y  $b^*$  en las nueces lavadas con agua, presentando el testigo el comportamiento inverso. Esto se ve reflejado también en el Cromo, donde el lavado con agua muestra la mayor pureza en el color.

Es importante resaltar que el hecho de haber mojado las nueces 24h antes de efectuar el secado, no afectó la humedad final alcanzada por los distintos tratamientos. Esto puede observarse en la Tabla 2.

Los resultados de las evaluaciones sensoriales están resumidos en la Figura 2.

En la primera evaluación ninguno de los jueces percibió olores ni sabores que pudieran haber sido impartidos por las sustancias utilizadas para el lavado. El Análisis de los Componentes Principales indica que las nueces inicialmente están asociadas al sabor dulce y a colores claros, sin influencia de los tratamientos efectuados.

Los resultados del segundo análisis sensorial arrojaron que no existen diferencias significativas entre los atributos medidos para ninguno de los tratamientos realizados. Durante la conservación las nueces se oscurecieron y perdieron el sabor dulce, tornándose rancias y amargas. Estos cambios son normales ya que el almacenamiento a temperatura ambiente puede acelerar la autoxidación y dar lugar a indeseables cambios en el color y el sabor (Erickson *et al.*, 1994). Otros investigadores (Sancho *et al.*, 2005) habían reportado cambios de color en la pulpa de nueces conservadas enteras a temperatura ambiente a partir de los 8 meses. Asimismo, Descalzo *et al.* (2007) reportaron un aumento significativo ( $p < 0,05$ ) en parámetros indicadores de oxidación (hexanal y TBA) a partir del octavo mes de almacenamiento de nueces a temperatura ambiente; mostrando correlación positiva con la detección de rancidez por parte de un panel sensorial. Sozzi *et al.* (2006) reportaron valores significativamente superiores en “sabor amargo”, “flavor rancio” y “aromas extraños” en semillas de pecán conservadas peladas durante 300 días en un envase con aire.

## 5. CONCLUSIONES

Es posible aplicar un proceso de lavado corto a nueces de pecán sin modificar los tiempos de secado ni alterar la calidad sensorial de la pepita.

Si bien el tratamiento de lavado con agua de pozo obtuvo los menores valores de luminosidad, confiere coloraciones más claras (amarillentas y rojizas) que las hacen más atractivas para la comercialización.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se logró con la financiación del Proyecto PNFRU 1105083 y la colaboración del Cluster de la Nuez Pecán de Entre Ríos.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DESCALZO, A., Biolatto, A., Grigioni, G., Rossetti, L., Carduza, F., Sancho, A. 2007. Estabilidad oxidativa y su relación con la vida útil, valor nutricional y aspectos sensoriales de nuez Pecán. Producción de Pecán en Argentina. Ediciones INTA. <http://journal.ashspublications.org/content/132/5/592.full>
- ERICKSON M.C., Santerre, C.R., Malingre, M.E. 1994. Oxidative stability in raw and roasted pecans: chemical, physical and sensory measurements. *Journal of Food Science* 59 (6) 1234-1239.
- ORO, T., Ogliari, P.J., Dias de Mello, R., Amboni, C., Barrera-Arellano, D., Block, J.M. 2008. Evaluación de la calidad durante el almacenamiento de nueces Pecán [*Caryaillinoensis* (Wangenh.) C. Koch] acondicionadas en diferentes envases. *Grasas y Aceites* 59, 0017-3495
- PORTALCOOP, Portal Cooperativo de Noticias. 2013. <http://portalcoop.com.ar/2013/entre-rios-produce-mas-de-la-mitad-de-la-nuez-pecan-de-argentina.html>, verificado 25/feb/2014
- KHIR, R., Griffiths G. A., Pan, Z., Thompson, J. F., Xia, Z. 2014. Moisture-dependent color characteristics of walnuts. *International Journal of Food Properties* 17:4, 877-890
- SANCHO, A., Grigioni, G., Biolatto, A., Irurueta, M., Frusso, E., Madero, E. 2005. Efecto de diversas temperaturas de almacenamiento sobre la evolución del color de la nuez Pecán. Poster presentado en las Jornadas de Análisis Sensorial. Tendencias actuales y aplicaciones "JASLIS 2005".
- SOZZI, G.O., Dabul, M.E., Picallo, A.B., Coste, B., Trincherro, G.D., López, M.V. 2006. Efecto del vacío, CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>O ó irradiación Gamma sobre la semilla descascarada de Pecán (*Caryaillinoensis*) durante la Postcosecha. XXIX Congreso Argentino de Horticultura- I Simposio Internacional de Nogalicultura.
- USDA. United States Standards for Grades of Pecans in the Shell. Effective October 15, 1976 (Reprinted - January 1997)
- USDA. National Agricultural Statistics Service. Noncitrus Fruits and Nuts 2010. Preliminary Summary, January 21, 2011
- VALENTINI, G., Daorden, E., Arroyo, L. 2011. Características de variedades de nogal Pecán en evaluación en la EEA San Pedro.

## 7. TABLAS Y FIGURAS

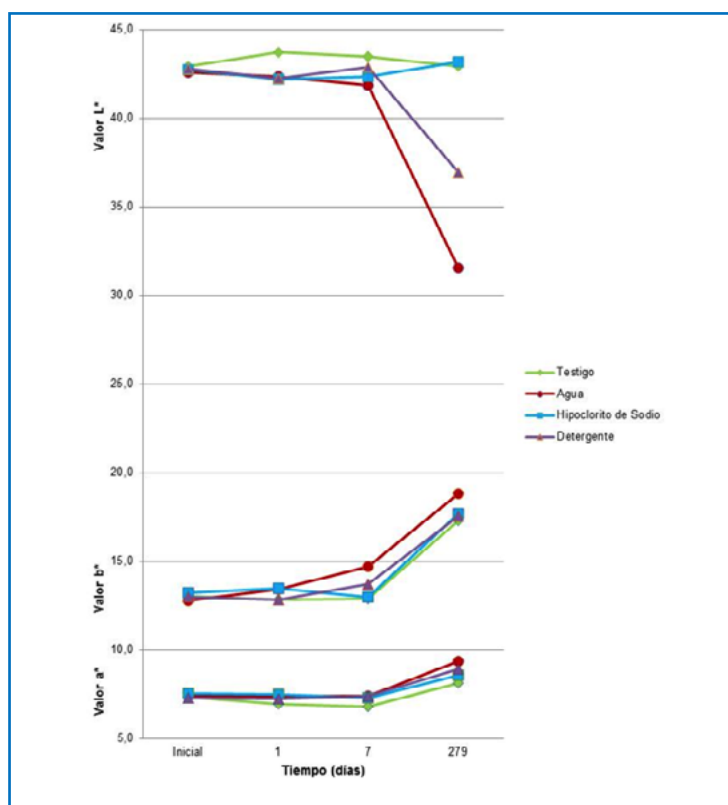


FIGURA 1. Evolución de los valores de  $a^*$ ,  $b^*$  y  $L^*$  en los distintos tratamientos a través del tiempo

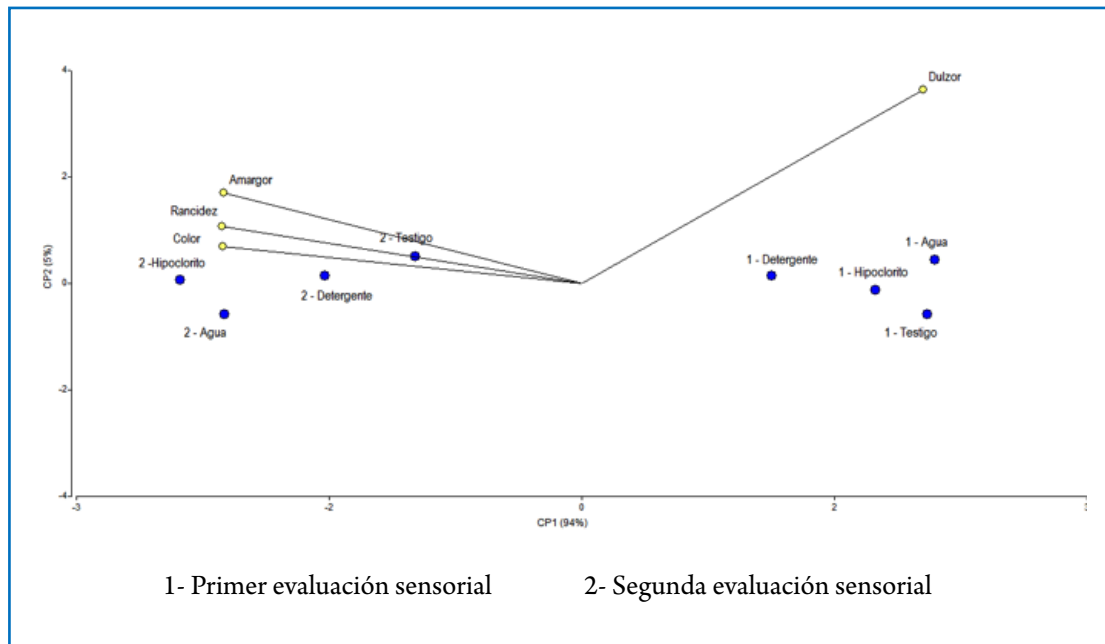
TABLA 1. Evolución de  $C^*$  y  $h^*$  en los distintos tratamientos a través del tiempo. Tukey  $p = 0,05$

|       | Tratamiento          | Inicial            | Día 1              | Día 7               | Día 279             |
|-------|----------------------|--------------------|--------------------|---------------------|---------------------|
| $C^*$ | Testigo              | 15,0 <sup>aA</sup> | 15,2 <sup>aA</sup> | 14,6 <sup>aA</sup>  | 19,1 <sup>aB</sup>  |
|       | Agua                 | 14,8 <sup>aA</sup> | 15,4 <sup>aA</sup> | 16,5 <sup>bB</sup>  | 21,0 <sup>bC</sup>  |
|       | Hipoclorito de Sodio | 15,3 <sup>aA</sup> | 15,4 <sup>aA</sup> | 14,9 <sup>aA</sup>  | 19,7 <sup>aB</sup>  |
|       | Detergente           | 15,2 <sup>aA</sup> | 14,8 <sup>aA</sup> | 15,6 <sup>abA</sup> | 19,7 <sup>aB</sup>  |
| $h^*$ | Testigo              | 60,4 <sup>aA</sup> | 62,5 <sup>bB</sup> | 62,0 <sup>abB</sup> | 64,8 <sup>aC</sup>  |
|       | Agua                 | 59,7 <sup>aA</sup> | 61,1 <sup>aA</sup> | 62,8 <sup>bB</sup>  | 63,6 <sup>bcB</sup> |
|       | Hipoclorito de Sodio | 60,2 <sup>aA</sup> | 60,9 <sup>aA</sup> | 60,6 <sup>aA</sup>  | 64,1 <sup>abB</sup> |
|       | Detergente           | 60,5 <sup>aA</sup> | 60,5 <sup>aA</sup> | 61,6 <sup>abA</sup> | 63,0 <sup>cB</sup>  |

Valores seguidos de letras minúsculas distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos para un mismo día. Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas a través del tiempo para un mismo tratamiento.

**TABLA 2.** Humedad de la nuez entera en distintos momentos del ensayo

| Tratamiento          | Inicial        | 7 días          | 9 meses       |
|----------------------|----------------|-----------------|---------------|
| Testigo              | 13,40 ± 1,11 % | 10,5 % ± 0,45 % | 11,0 ± 0,16 % |
| Agua                 |                | 10,7 % ± 0,20 % | 10,6 ± 0,36 % |
| Hipoclorito de Sodio |                | 9,8 % ± 0,10 %  | 10,1 ± 0,26 % |
| Detergente           |                | 10,7 % ± 0,17 % | 11,2 ± 0,02 % |



**FIGURA 2.** Análisis de los Componentes Principales de las variables evaluadas por jueces semientrenados sobre cuatro muestras durante dos sesiones de evaluación sensorial.

# MODIFICACIÓN DE LA FLORA MICROBIOLÓGICA DURANTE EL SALADO DE ANCHOÍTA (*ENGRAULIS ANCHOITA*)

Silvina Pérez<sup>1</sup>, Silvia Barañano<sup>2</sup>, Silvia Elena Murialdo<sup>1,3</sup>, María Isabel Yeannes<sup>3,4</sup>

## 1. RESUMEN

Durante la etapa de salado en la elaboración de anchoíta salada-madurada, la actividad de agua ( $A_w$ ) de la *Engraulis anchoita* se reduce a valores inferiores a 0,88. El salado es realizado tradicionalmente a temperatura ambiente y consiste en colocar el pescado entero en bachas en solución saturada de NaCl (salmuera), en relación 1:1, durante un período mínimo de 24 horas. El objetivo de este trabajo es analizar la modificación de la flora microbiológica durante la etapa de salado de *Engraulis anchoita* y la influencia de la misma en la inocuidad del producto. Para ello se realizó el seguimiento microbiológico en 19 diferentes tiempos durante 30 hs de presalado. Se realizaron recuentos de bacterias aerobias mesófilas (BAM) y aerobias psicrófilas (BAP), *Staphylococcus* spp., *Staphylococcus aureus*, enterobacterias totales, coliformes totales, *Clostridium* sulfito-reductores (CSR), mohos y levaduras (MyL), *Pseudomonas* spp., *Lactobacillus* spp., bacterias propias de la sal: halófilas al 15 % NaCl (BH15) y al 20 % de NaCl (BH20) y presencia/ausencia de *E. coli*. En la muestra tomada antes de la inmersión ( $t=0$ ) y en las posteriores estuvieron ausentes *E. coli*, *S. aureus*, CSR y *Lactobacillus* spp. A  $t=0$  se detectaron BAM ( $2,9 \times 10^4$  ufc/g), BAP ( $9,4 \times 10^4$  ufc/g), *Staphylococcus* spp. ( $73,6 \times 10^3$  ufc/g), enterobacterias ( $7,5 \times 10^3$  ufc/g), coliformes totales ( $6,0 \times 10^3$  ufc/g), *Pseudomonas* spp. ( $1,3 \times 10^2$  ufc/g) y MyL ( $3,0 \times 10^3$  ufc/g). A partir de  $t=0,5$  hs, no se detectaron

---

CONTACTO: Silvina Pérez [silvinaperez@fi.mdp.edu.ar](mailto:silvinaperez@fi.mdp.edu.ar)

1. Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires (CIC), Argentina.
2. Empresa Pranas S.A., Mar del Plata, Argentina.
3. Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Mar del Plata (UNMDP), Argentina.
4. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina.

microorganismos indicadores de higiene y deteriorantes naturales del pescado (enterobacterias, coliformes totales, *Pseudomona* spp. y MyL). Luego de t=2,5 hs no se detectó *Staphylococcus* spp. y de t=10 hs no se detectaron BAP. A partir de t=0,5 hs se detectan BH15 y BH20, con máximo recuento a t=2,5 hs y manteniendo valores de  $10^4$  ufc/g a  $t \geq 5$  hs, constituyéndose en la flora típica de este producto. Más del 25 % de las cepas halladas poseen capacidad proteolítica, lipolítica o ambas. Este hecho afecta las características sensoriales y fisicoquímicas teniendo función en el proceso de maduración y/o deterioro halofílico, de acuerdo al recuento en que se hallen. Así, es importante conocer los aspectos mencionados a fin de controlar su crecimiento durante la maduración mediante las variables del proceso.

## 2. INTRODUCCIÓN

La *Engraulis* spp. se distribuye ampliamente en los océanos templados. La anchoíta (*Engraulis anchoita*) es un pequeño pez pelágico que habita desde Vitoria, frente a Brasil (20°S), hasta el Golfo San Jorge, frente a Argentina (48°S). Habita en las aguas de la plataforma continental entre profundidades de 10 y 200 metros y a temperaturas entre 8 y 23 °C (Hansen, 2004; Castello, 2007). Los datos más recientes sugieren la presencia de tres efectivos distintos de *E. anchoita* en el Suroeste Atlántico: el efectivo Patagónico (48°-41°S), el efectivo Bonaerense (41°-28°S norte de Argentina, Uruguay y sur de Brasil) y otro en el área entre 28° y 20°S, que se conoce como el efectivo Entrante del Sureste Brasileño (Castello, 1997; Carvalho y Castello, 2013).

La *E. anchoita* es la especie de pescado menos explotada del Atlántico Sudoccidental (SAGPyA, 2005). En Argentina, la *E. anchoita* es empleada como materia prima en la elaboración de anchoíta salada-madurada y es un producto donde el 90 % de la producción es exportada como producto intermedio a países de Europa y Africa, donde se elabora el producto final. Por otro lado, el producto terminado es apreciado en Estados Unidos, México y Brasil, donde es exportado como tal (Madureira *et al.*, 2009). La producción actual de este producto no logra abastecer la demanda (Yeannes, 2006).

El proceso de elaboración de anchoíta salada-madurada consta de las etapas: recepción de materia prima, lavado y descamado, salado (deshidratación osmótica-DO), descabezado y clasificación por tamaño, empaque en tambores y etapa fi-



nal de maduración. Tradicionalmente el salado se realiza a temperatura ambiente sumergiendo el pescado entero en bachas en solución saturada de NaCl (salmuera) en relación 1:1, durante un período mínimo de 24 horas. Durante la etapa de salado en la elaboración de anchoíta salada-madurada, la actividad de agua ( $A_w$ ) de la *E. anchoita* se reduce a valores inferiores a 0,88. Estos valores sólo permiten una actividad microbiana reducida a grupos de bacterias y hongos halófilos ya que el desarrollo de la flora deteriorante o patógena potencialmente presente en éste producto marino no es posible (Huss y Valdimarson, 1990; Czerner y Yeannes, 2010).

Las bacterias halófilas se pueden clasificar de acuerdo al requerimiento de sal: los halófilos débiles crecimiento dentro de una concentración de NaCl entre 2 y 5 %, los moderados entre 5 y 20 % de NaCl, y los extremos de 20 a 30 % de NaCl (Czerner y Yeannes, 2007). Las mismas pueden proceder tanto de la anchoíta (Fuselli *et al.*, 1998; Fuselli *et al.*, 2003) como de la sal. De acuerdo a la procedencia de la sal los recuentos y especies en estos microorganismos podrán variar y su presencia tiene importancia desde el punto de vista del proceso ya que pueden provocar deterioro y en algunos casos toxicidad (Yeannes, 2006).

El objetivo del presente trabajo fue analizar la modificación de la flora microbiológica durante la etapa de salado de la anchoíta salada-madurada y la influencia de dicha flora en la inocuidad del producto.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### MATERIA PRIMA Y MUESTREO

Se utilizó *Engraulis anchoita* con 8 hs de capturada por barcos fresqueros acondicionada en cajones con hielo en escama, que se transporto a la planta elaboradora en camión refrigerado. El rango del largo de furca de los ejemplares fue 12-16 cm. Los ejemplares fueron inmersos en contenedor con salmuera a 25°B en relación 1:1.

Se tomaron las siguientes muestras:

- 1 kg de anchoíta previo al proceso de salado.
- 1 kg de anchoíta en cada diferente tiempo. Los tiempos muestreados fueron (hs): 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0, 10.0, 11.0, 12.0, 24.0, 30.0.

En cada toma de muestra se realizó la medición de la temperatura de la salmuera del contenedor y el control del contenido de sal a través de los grados Baumé. A los

ejemplares muestreados se les efectuó determinación de contenido de agua, sal y actividad de agua ( $A_w$ ).

#### **PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS**

Una vez extraídas las muestras del contenedor, se realizó el descabezado y fileteado de las anchoítas en el Laboratorio de la Planta. Se separaron aproximadamente 50 gr de filetes para realizar los estudios microbiológicos, de los cuales se utilizaron, por un lado, 10 gramos de muestra que fueron homogeneizados con 90 ml de agua peptonada para diluciones estéril (peptona, 1 g/L) y por otro lado, 10 gr para determinar los recuentos de bacterias halófilas moderadas y extremas. homogeneizando con 90 ml de caldo sal estéril (NaCl, 150 g/L; Peptona de carne, 3 g/L; Extracto de carne, 3 g/L). En ambos casos, se dejó en reposo durante 30 min como etapa de enriquecimiento para favorecer el desarrollo de las células estresadas. Se traslado al Laboratorio del GIPCAL (Grupo de Investigación Preservación y Calidad de Alimentos) donde se realizaron diluciones  $10^{-2}$  y  $10^{-3}$  con agua peptonada y  $10^{-2}$  con caldo sal, respectivamente (ICMSF, 1983).

#### **FLORA DETERIORANTE Y/O PATÓGENA POTENCIALMENTE PRESENTE EN *E. ANCHOITA***

A partir de las diluciones  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  y  $10^{-3}$  en agua peptonada se realizaron las siguientes determinaciones por duplicado de acuerdo a los métodos ICMSF (1983):

Recuentos de:

- Bacterias aerobias mesófilas (BAM): Se sembró 1 ml por placa vertida en Agar para Recuento en Placa y se incubó a  $35 \pm 0,5$  °C por 48 hs.
- Bacterias aerobias psicrófilas (BAP): Se sembró 1 ml por placa vertida en Agar para Recuento en Placa y se incubó a  $7 \pm 0,5$  °C por 7 días.
- *Staphylococcus* spp.: Se sembró 0,1 ml en superficie en Agar Baird-Parker y se incubó a  $35 \pm 0,5$  °C por 48 hs. Se realizó el recuento de colonias características.
- *Staphylococcus aureus*: Se realiza a partir de la placa anterior, viendo las características morfológicas de las colonias y verificando mediante la prueba de la coagulasa.
- Enterobacterias totales: Se sembró 1 ml por placa vertida en Agar Violeta Rojo Bilis Glucosa y se incubó a  $35 \pm 0,5$  °C por 24 hs.

- Coliformes totales: Se sembró 1 ml por placa vertida en Agar Violeta Rojo Bilis Neutro y se incubó a  $35\pm 0,5$  °C por 24 hs.
  - *Clostridium* sulfito-reductores (CSR): Se sembró 1 ml en tubos de Millier, se colocó posteriormente Agar SPS y se generó anaerobiosis mediante el agregado de vaselina líquida.
  - Mohos y levaduras (MyL): Se sembró 0,1 ml en superficie en Agar HyL y se incubó a  $25\pm 0,5$  °C por 5 días.
  - *Pseudomona* spp.: Se sembró 1 ml por placa vertida en Agar Cetrimida y se incubó 48 hs a  $35\pm 0,5$  °C.
  - *Lactobacillus* spp.: Se sembró 1 ml por placa vertida en Agar MRS, se envasó al vacío y se incubó a  $35\pm 0,5$  °C por 48 hs.
- Presencia/Ausencia de:
- *Escherichia coli*: Se sembró 1 ml en tubo con Caldo Verde Brillante y se incubó a  $35\pm 0,5$  °C por 48 hs.

#### **FLORA HALÓFILA MODERADA O EXTREMA**

A partir de las diluciones  $10^{-1}$  y  $10^{-2}$  de anchoíta en caldo salino se realizaron los siguientes ensayos por duplicado:

- Recuento de Bacterias Halófilas con 15 % NaCl (BH15): Se sembró 0,1 ml en superficie en Agar Gibbons (NaCl, 150 g/L;  $\text{SO}_4\text{Mg} + 7\text{H}_2\text{O}$ , 20 g/L; KCl, 2 g/L; Citrato trisódico, 3 g/L; Peptona ácida de caseína, 7,5 g/L; Extracto de levadura, 10 g/L; Agar, 20 g/L,  $\text{Fe}^{2+}$ , 10 ppm;  $\text{Mn}^{2+}$ , 0,1 ppm) y se incubó a  $35\pm 0,5$  °C por 21 días (Holt, 1989).
- Recuento de Bacterias Halófilas con 20 % NaCl (BH20): Se sembró 0,1 ml en superficie en Agar Gibbons, utilizando 200 gNaCl/L, y se incubó a  $35\pm 0,5$  °C por 21 días (Holt, 1989).

A continuación, se observaron las características morfológicas de las colonias BH15 y BH20. Luego de diferenciarlas, se realizaron las pruebas de actividad proteolítica y lipolítica.

- Actividad proteolítica: Se determinó mediante siembra en agar leche (extracto de levadura, 3 g/L; peptona de carne, 5 g/L; solución de leche descremada, 10 g/L; agar, 15 g/L) (FIL IDF 73, 1974), al cual se le agregó NaCl, KCl y sal de  $\text{Mg}^{2+}$ . Las placas fueron incubadas a  $35\pm 0,5$  °C por 7 días, considerando el ensayo positivo cuando fue posible observar aureolas o zonas claras alrededor de las colonias desarrolladas.

- Actividad lipolítica: Se utilizó un medio sólido conteniendo tributirina (FIL IDF 73, 1974), suplementado con NaCl, KCl y sal de  $Mg^{2+}$ . Se sembraron por estriado en superficie y fueron incubadas a  $35 \pm 0,5$  °C por 7 días. Se consideró el ensayo positivo con la aparición de un halo más claro alrededor de las colonias.

#### CONTROLES FÍSICO-QUÍMICOS DEL PROCESO

Se efectuó la homogeneización de muestra de músculo de anchoíta para determinar: Aw y contenido de agua y sal.

- Actividad de agua (aw): La medición fue realizada con el higrómetro digital Aqualab, modelo CX-2T (Decagon, Pulman, WA, USA), por triplicado.

- Contenido de agua: Fue determinado por secado en estufa a  $105 \pm 1$  °C hasta llegar a peso constante (AOAC, 1990). La determinación se realizó por triplicado.

- Penetración de sal (contenido de cloruros): Se partió de la muestra secada en estufa a  $105 \pm 1$  °C hasta llegar a peso constante. Estas muestras se diluyeron con agua destilada hasta volumen de 100 ml. Para el resto de las muestras se continuó de la muestra seca y se llevaron a volumen de 250 ml con agua destilada. Todas las muestras se calentaron a ebullición por 5 min, se dejaron enfriar y se titularon frente a una solución de Nitrato de Plata utilizando como indicador Cromato de Potasio. Esta determinación en la muestra fresca se determinó a partir de cenizas (Kirk *et al.*, 1996).

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la materia prima fresca se obtuvieron los siguientes resultados físico-químicos:  $Aw=0,999 \pm 0,001$ , contenido de agua  $77,59 \pm 0,29$  %p/p y contenido de sal  $0,18 \pm 0,01$  %p/p.

Los resultados microbiológicos obtenidos revelan que en la muestra fresca sin ningún tratamiento, tomada antes de la inmersión ( $t=0$ ) y en las posteriores estuvieron ausentes *E. coli*, *S. aureus*, Clostridios Sulfito-Reductores (CSR) y *Lactobacillus* spp. En la misma, se detectaron BAM ( $2,9 \times 10^4$  ufc/g), BAP ( $9,4 \times 10^4$  ufc/g), *Staphylococcus* spp. ( $73,6 \times 10^3$  ufc/g), enterobacterias ( $7,5 \times 10^3$  ufc/g), coliformes totales ( $6,0 \times 10^3$  ufc/g), *Pseudomonas* spp. ( $1,3 \times 10^2$  ufc/g) y MyL ( $3,0 \times 10^3$  ufc/g). A partir de  $t=0,5$  hs, no se detectaron microorganismos indicadores de higiene y deteriorantes naturales del pescado (enterobacterias, coliformes totales, *Pseudomo-*

na spp. y MyL). Luego de  $t=2,5$  hs no se detectó *Staphylococcus* spp. y de  $t=10$  hs no se detectaron BAM (Figura 1).

Por otro lado, se determinó que a partir de  $t=0,5$  hs se detectan BH15 y BH20, con máximo recuento a  $t=2,5$  hs y manteniendo valores de  $10^4$  ufc/g a  $t \geq 5$  hs (Figura 2), constituyéndose así las bacterias halófilas moderadas y extremas en la flora típica de este producto.

El proceso de salazón y maduración implica una proteólisis y las bacterias halófilas moderadas y extremas, que son la flora predominante desde la etapa de salado hasta el final del proceso de maduración, encuentran un sustrato adecuado para su desarrollo. Estas bacterias se desarrollan en los medios lentamente a diferencia de la mayoría de las bacterias y forman colonias de color naranja a rojo debido a los carotenoides que protegen a las células de los efectos de la luz que les ha valido la denominación de “bacterias halofílicas rojas” (Huss y Valdimarson, 1997; Ramirez y *et al.*, 1997; Ramirez y *et al.*, 2000; Félix *et al.*, 2007). A partir de las características morfológicas de las colonias BH15 y BH20, se aislaron 30 cepas durante la etapa de salado del producto. Se encontró que el 80 % poseían pigmentos (presencia de carotenoides: bacteriorrodopsinas y bacteriorruberas) observándose colonias de color amarillo, rosa, rojo y marrón, dando en el producto y la salmuera circundante una típica coloración.

Por otro lado, se determinó que del total de 30 cepas analizadas, un 3 % de las bacterias halófilas halladas tienen actividad solamente proteolítica, un 13 % actividad solamente lipolítica y un 33 % tanto capacidad proteolítica como lipolítica, y el resto no presentaron actividad. La capacidad proteolítica de las mismas se sumaría a la proteólisis natural de estos productos modificando las características sensoriales y fisicoquímicas del producto, acelerando el fin de su vida útil. Se ha determinado sensorialmente que la presencia de las bacterias halófilas proteolíticas en recuentos que superan el  $10^5$  UFC/g determina en el producto un fuerte olor a putrefacción (sulfhídrico-amoniaco) (Gram y Huss, 1996) siendo necesario mantener el control del crecimiento durante la maduración mediante las variables del proceso.

Asimismo la capacidad lipolítica colaboraría con el aumento de los ácidos grasos y la rancidez dado que este producto de acuerdo a su  $A_w$  se encuentra en un rango de gran actividad oxidante.

La importancia de la limitación de la vida útil por estos grupos bacterianos estará dada por el número, las características de las mismas y las condiciones de almacenamiento del producto.

Los parámetros físico-químicos controlados en el músculo de anchoíta al cabo de las 30 hs de salado fueron  $A_w=0,866\pm 0,002$ , contenido de agua  $61,91\pm 0,03$  %p/p y contenido de sal  $=13,71\pm 0,02$  %p/p.

## 5. CONCLUSIONES

Se determinó que la flora deteriorante o patógena potencialmente presente en *E. anchoita* se ve inhibida durante las primeras horas del salado del producto constituyéndose así las bacterias halófilas moderadas y extremas en la flora típica de la anchoíta salada-madurada.

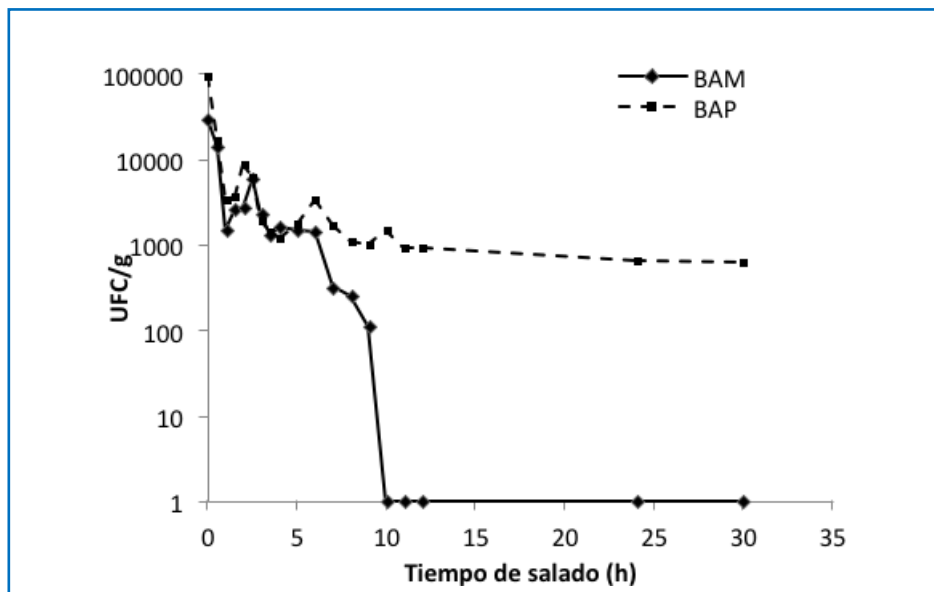
El hecho de encontrar bacterias halófilas con actividad proteolítica y lipolítica afecta las características sensoriales y fisicoquímicas teniendo función en el proceso de maduración y/o deterioro halofílico, de acuerdo al recuento en que se hallen. Así, es importante conocer los aspectos mencionados a fin de controlar su crecimiento durante la maduración mediante las variables del proceso.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

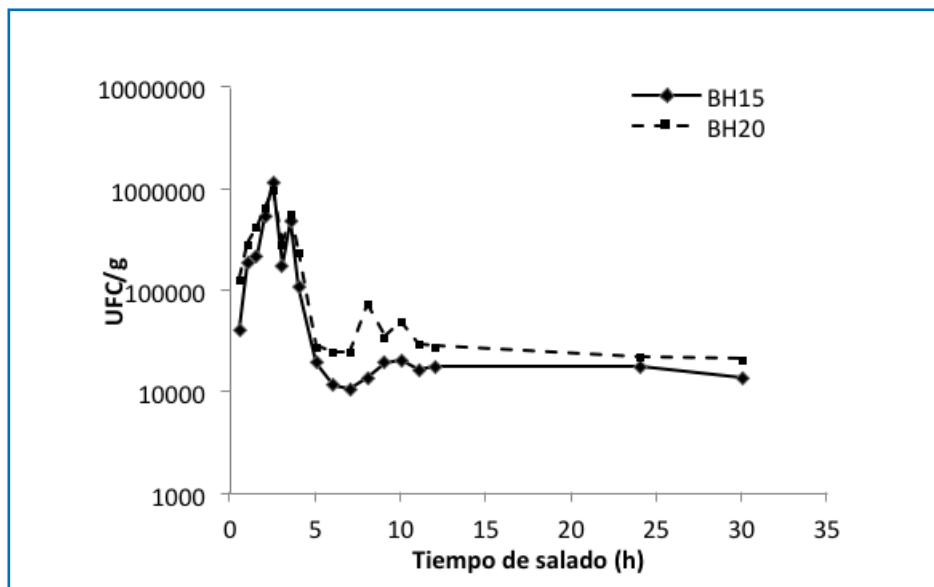
- AOAC(1990). *Official Methods of Analysis*, 15th edn. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.
- AOAC(1993). *Official Methods of Analysis*, 16th edn. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.
- CZERNER, M; Yeannes, M. I. (2007). Evolución de la microflora presente durante el madurado de anchoíta (*E. anchoita*). Congreso; XI Congreso Argentino de Ciencias y Tecnología de Alimentos y 2do Simposio Internacional de Nuevas Tecnologías.
- CZERNER, Marina; Yeannes, María I. (2010). Brining kinetics of different cuts of anchovy (*Engraulis anchoita*). *Int. J. Food Sci. Technol.* 45: 2001-2007.
- FÉLIX, M. M.; Ramirez E. E.; Yeannes M. I. (2007). Bacterias halofilas extremas deteriorantes en anchoíta salada y su vida útil. *Revista de Ciencias Agrarias y de Tecnología de Alimentos*. Buenos Aires. Argentina. Vol 24. ISSN impresa 1666-2016; ISSN en línea: 1668-1940.
- F.I.L. I.D.F. 73. (1974). Determinación de microorganismos lipolíticos de la manteca.
- FUSELLI, S.R.; Casales, M. R.; Fritz, R.; Yeannes, M. I. (1998). Isolation and characterization of microorganisms associated with marinated anchovy (*Engraulis anchoita*). *Journal of Aquatic Food Product Technology*, Vol. 7(3).

- FUSELLI, S.R.; Casales, M. R.; Fritz, R.; Yeannes, M. I. (2003). Typical microorganisms in cold marinated anchovies (*Engraulis anchoita*) filled with corn oil and spices. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, Vol. 12(1).
- GRAM, L. y HUSS, H. H. (1996). Microbiological spoilage of fish and fish products. *International J. of Food Microbiol.* 33,121-137.
- HOLT, J.G. 1989. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* Vol. III, Sec. 25, Archaeobacteria (pp. 2171-2233). Baltimore: Williams & Wilkins.
- HUSS, H. H. y Valdimarson, G. (1990). *Microbiology of salted fish*. *Fish Tech News*. Vol. 10. N°1. P.: 3-5.
- ICMSF. 1983. *Microorganismos de los alimentos. Técnicas de análisis microbiológico*. Volume I. Editorial Acribia. Zaragoza, España.
- KIRK, R., Sawyer, R. & Egan, H. (1996). *Composición y Análisis de Alimentos de Pearson*, 2<sup>da</sup> edición. México: Editorial Continental S.A.
- MADUREIRA, L.S.; Castello, J.P.; Prentice-Hernández, C.; Queiroz, M.I.; Espírito Santo, M.L.; Ruiz, W.A.; RaggiAbdallah, P.; Hansen, J., Bertolotti, M.I.; Manca, E.; Yeannes, M.I.; Avdalov, N.; Fernández Amorín, S. (2009). Current and potential alternate food uses of the Argentine anchoita (*Engraulis anchoita*) in Argentina, Uruguay and Brazil. In: *Fish as Feed Inputs for Aquaculture. Practices, Sustainability and Implications*. Hasan, MR; Halwart, M. (Eds.) FAO Fisheries Technical Paper: Rome, Italy.
- SAGPyA. (2005). Datos estadísticos de capturas de anchoíta (*Engraulis anchoita*). Disponible en: [www.sagpya.gov.ar](http://www.sagpya.gov.ar)
- YEANNES, M. I. (2006). Aspectos Científicos y Tecnológicos en Preservas de Productos Pesqueros. Editado en CD por: Facultad de Ciencias Agrarias. UCA. Centro de Altos Estudios "Jorge Gándara". ISBN: 987-05-1523. Octubre de 2006.

## 7. TABLAS Y FIGURAS



**FIGURA 1.** Evolución de la flora aerobia total a lo largo de la etapa de salado (BAM: Bacterias Aerobias Mesófilas, BAP: Bacterias Aerobias Psicrófilas)



**FIGURA 2.** Evolución de la flora halófila a lo largo de la etapa de salado (BH15: Bacterias Halófilas con 15 % NaCl, BH20: Bacterias Halófilas con 20 % NaCl)



# EFFECTO DE LA TEMPERATURA DEL AIRE EN LA CINÉTICA DE SECADO Y EN LAS PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DE LA REMOLACHA (*BETA VULGARIS*)

Roque Masciarelli, Héctor Lucero, Estefanía Sterpi, María Victoria Pazo

## 1. RESUMEN

Se secaron remolachas (*Beta vulgaris*) utilizando las siguientes temperaturas de secado: 40, 70 y 100 °C a velocidad constante del aire de secado, en una estufa de tiro forzado. Se utilizaron tres modelos matemáticos (Exponencial, Logarítmico y Ley de potencia), para ajustar los datos experimentales. El mayor valor del coeficiente de determinación ( $R^2$ ) indica que el modelo Exponencial presenta el mejor ajuste a los datos experimentales. Se observa que el incremento de la temperatura del aire acorta los tiempos de secado. El coeficiente de difusividad efectiva se incrementó con el aumento de la temperatura.

El material seco fue utilizado para las determinaciones de la relación de rehidratación (RR), la capacidad de interacción con el agua (CIA) y el índice de pardeamiento no enzimático (IPNE), mientras que se prepararon extractos a partir de ese mismo material molido para la determinación de la capacidad antioxidante mediante la evaluación del DPPH\* residual. El valor más alto de RR se obtuvo para la temperatura de 100 °C, el de CIA resultó mayor para 40 °C; en tanto que para el IPNE fue para 100 °C. Por otra parte los valores del DPPH\* residual para 30 miligramo de masa seca / mL de solvente estuvieron cercanos al 0 %, para todos los tratamientos.

## 2. INTRODUCCIÓN

La remolacha (*Beta vulgaris*) de color rojo es el cultivo betalaínico comercialmente explotado más importante. Su interés se ha incrementado en los últimos años, ya

---

CONTACTO: Roque Masciarelli [mascia@netcoop.com.ar](mailto:mascia@netcoop.com.ar)  
Centro de Investigaciones y Desarrollo de Tecnología en Alimentos  
(CIDTA). Universidad Tecnológica Nacional. Facultad Regional  
Rosario. E. Zeballos 1341- (2000) Rosario. Argentina.

que los resultados la clasifican entre las diez verduras antioxidantes más potentes (Halvorsen *et al.*, 2002). La capacidad antioxidante de la remolacha se ha asociado con la presencia constitutiva de compuestos fenólicos, que permiten beneficios nutracéuticos en la promoción de la salud humana y en la prevención de enfermedades degenerativas y cáncer (Arroz-Evans; Miller; Paganga, 1996.) Contiene dos pigmentos principales, constituyentes de las betalainas: betanina (betacianina roja) y vulgaxanthina I (betaxantina amarilla). Vega-Gálvez y col. (2009) estudiaron el efecto de la temperatura de secado sobre la capacidad antioxidante de pimientos rojos, determinando que dicha capacidad se reduce con el aumento de la temperatura, pero se incrementa a partir de 85 °C; debido a la formación de compuestos de Maillard, que poseen actividad antioxidante. El efecto de secado en el contenido de polifenoles y la actividad antioxidante de la remolacha no está claramente explicado todavía. El estudio de la cinética de secado es esencial para diseñar un correcto proceso de secado que permita además obtener un producto de calidad.

Un buen modelo matemático del proceso de secado puede considerarse como una herramienta muy eficiente para salvar obstáculos, tales como daños al producto, consumo excesivo de energía, desgaste del equipo o la disminución del rendimiento (Olivas *et al.*, 1999).

El objetivo del presente trabajo es modelar la cinética de secado de remolacha (*Beta vulgaris*) para distintos tratamientos térmicos. Esta meta implica el análisis de la influencia de los tratamientos térmicos sobre los parámetros de los modelos propuestos así como la determinación de la difusividad efectiva. Asimismo, se estudia que influencia ejercen las diferentes técnicas de secado sobre determinadas propiedades fisicoquímicas y de la capacidad antioxidante de las muestras en estudio.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### MATERIALES

##### *Materias primas. Procesamiento*

Las remolachas se adquirieron a un productor cercano a la ciudad de Rosario. Se lavaron con una solución acuosa de detergente neutro y enjuagaron con agua corriente tres veces. En la proporción sólido / líquido: 1/10, se hirvieron durante 30 min a partir de alcanzar el punto de ebullición. Esta operación se realizó a los efectos de reducir la carga microbiana y facilitar los procesos extractivos posteriores (Delga-

do-Vargas y Paredes Lopez, 2003). Se enfriaron a temperatura ambiente, se pelaron y se cortaron en cubos de  $1 \pm 0,2$  cm. Se colocaron en baño de solución de cloruro de sodio al 4 %, calentándose por 30 min (Raupp *et al.*, 2011). Se enfriaron, se escurrió el líquido, se embolsaron en film de polietileno y se guardaron en el freezer a  $-18$  °C hasta su uso. Luego se sometieron a tratamientos de secado mediante estufa de tiro forzado con aire a velocidad constante a las temperaturas: 40, 70 y 100 °C. Los tiempos de secado resultaron: 1595; 735 y 370 min, obtenidos cuando el peso se mantuvo constante. Las humedades finales fueron: 16,8; 15,3 y 14,3 % (en base húmeda), respectivamente. Las determinaciones de humedades en cada tiempo se realizaron mediante la técnica de A.O.A.C. (2000).

### ***Reactivos químicos***

Los siguientes reactivos químicos fueron provistos por Sigma comercial Co. (St. Louis, USA): metanol; etanol, isopropanol; ácido acético; 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH); catequina. Todos los reactivos químicos y solventes utilizados fueron de grado reactivo analítico.

## **MÉTODOS**

### ***Preparación de los extractos***

El material seco obtenido en cada tratamiento fue molido con molino de cuchillas hasta que el material pasó por tamiz malla 40, obteniéndose harina de remolacha. 5 g de la misma se extrajeron con 25 ml de metanol por agitación, durante 4 h a temperatura ambiente y al abrigo de la luz. Luego, los sólidos se separaron mediante filtración (Whatman n.º 40). A partir del filtrado (solución madre), se prepararon soluciones para cada uno de los tratamientos de secado desde 0.5 a 30 mg de ms/ml de solvente, las que se denominaron extractos. Estos se conservaron a  $-18$  °C en frascos herméticos de vidrio hasta su utilización en la determinación de la capacidad antioxidante. Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

### ***Modelado matemático de las curvas de secado***

En base a los pesos obtenidos experimentalmente, se calculó el contenido de humedad para cada tiempo, y luego estos valores se convierten a relación de humedades, según la ecuación (1).

$$RH = \frac{H - H_e}{H_0 - H_e} \quad (1)$$

Dónde:  $H$ ,  $H_0$  y  $H_e$  son el contenido de humedad en un tiempo dado, inicial y de equilibrio (en g agua/g materia húmeda), respectivamente.

Las relaciones de humedades se ajustaron a distintos modelos de secado, con la meta de seleccionar aquel modelo que mejor describa las curvas de secado de las remolachas.

Los modelos que se utilizaron para ajustar los datos experimentales, utilizando el programa STATGRAPHICS plus 5.1, fueron:

$$RH = Ae^{-Bt} \quad (\text{modelo exponencial}) \quad RH = A + B \ln(t) \quad (\text{modelo logarítmico})$$

$$RH = At^B \quad (\text{modelo ley de potencia})$$

Donde  $t$  en minutos,  $A$  y  $B$  son parámetros de diseño.

Para todos los modelos propuestos se evaluó la bondad de ajuste de los datos experimentales mediante el coeficiente de regresión ( $R^2$ ) y la raíz cuadrada del error cuadrático medio (ECM).

### ***Determinación del coeficiente de difusividad efectiva***

El proceso de secado de productos alimenticios en general ocurre en estado no estacionario (Wang y Brennan, 1992). Crank (1975) propuso la ecuación, utilizando la segunda ley de Fick, para modelar la difusividad efectiva.

$$RH = \frac{8}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{(2n-1)^2} \exp\left(-\frac{(2n-1)^2 \pi^2 D_{ef} t}{4L^2}\right) \quad (3)$$

Donde  $RH$  es la relación de humedad (fuerza impulsora),  $n=1,2,3\dots$  es el número de términos que se consideran,  $t$  es el tiempo de secado en segundos,  $D_{ef}$  es el coeficiente de difusividad efectiva en  $m^2/s$  y  $L$  es el espesor de la muestra en metros. Para tiempos de secado largos solamente se utiliza el primer término de la ecuación (3), obteniéndose la ecuación (4). El coeficiente de difusividad efectiva se calculó a partir de la representación gráfica de  $\ln(RH)$  en función del tiempo, para cada uno de los tratamientos. Luego, se obtuvo una línea recta de cuya pendiente se obtiene el coeficiente difusional para cada tratamiento de deshidratación.

$$RH = \frac{8}{\pi^2} \exp\left(-\frac{\pi^2 D_{ef} t}{4L^2}\right) \quad (4)$$

$$k_0 = \frac{\pi^2 D_{ef}}{4L^2} \quad (5)$$

El coeficiente de difusividad efectiva ( $D_{ef}$ ) engloba todos los fenómenos que pueden intervenir en la pérdida de agua. La difusividad varía según cambien las condiciones de secado (temperatura y velocidad del aire), por lo que no es una propiedad intrínseca del material.

### **Análisis de rehidratación**

#### *Relación de rehidratación (RR)*

Los trozos de material seco se colocaron en agua destilada a 40 °C durante 6 horas, empleando una relación solido-liquido de 1:50. Luego se drenaron durante 30 segundos y se pesan. Se realizaron las determinaciones por triplicado.

La relación de rehidratación (RR) se calculó de acuerdo a la ecuación (6), según Vega-Gálvez *et al.* (2008).

$$RR = \frac{W_{reh} * X_{reh} - W_{seca} * X_{seca}}{W_{seca} * (1 - X_{seca})} \quad (6)$$

Donde  $W_{reh}$  es el peso del material rehumectado;  $W_{seco}$  es peso de material seco, luego del proceso de secado;  $W_{reh}$ , la humedad del material rehumectado;  $W_{seco}$ , humedad del material seco, luego del proceso de secado.

#### *Capacidad de interacción con el agua (CIA)*

Las muestras rehidratadas según la determinación de RR, se centrifugaron a 3500×g durante 15 minutos a 20 °C, previamente se tararon los tubos de plástico utilizados; luego se escurrió el líquido sobrenadante y se pesó ( $W_l$ ). Los tubos con solido rehumectado se volvieron a pesar y por diferencia de peso se obtuvieron los pesos del material rehumectado. Luego el CIA se obtuvo a partir de la ecuación (7).

$$CIA = \frac{W_{reh} * X_{reh} - W_l}{W_{reh} * X_{reh}} * 100 \quad (7)$$

Donde  $W_{reh}$  es el peso del material rehumectado,  $W_l$  es el peso del líquido escurrido luego de la centrifugación,  $H_{reh}$  es la humedad del material rehumectado.

### ***Determinación del índice de pardeamiento no enzimático (IPNE)***

Se aplicó el método propuesto por Vega-Galvez *et al.* (2009). El agua de la rehidratación anterior se clarificó por centrifugación a 3500×g durante 15 minutos. El sobrenadante se diluyó con igual volumen de etanol al 95 % y se centrifugó nuevamente a 3500×g durante 15 minutos. El IPNE (absorbancia a 420 nm) de los extractos se determinó en espectrofotómetro Jasco model 7800. Todas las mediciones se realizaron por triplicado.

### ***Determinación de capacidad antioxidante***

La capacidad antioxidante se determinó mediante el ensayo DPPH\*, expresando los resultados como % de DPPH\* residual.

$$\% \text{ DPPH* residual} = 100 - \% \text{ DPPH*}$$

Se utilizó el método espectrofotométrico de Shimada *et al.* (1992) para determinar DPPH\*. Se mezcló 1 mL de los extractos con 5 mL de una solución metanólica 0,1 mM de DPPH\*. Luego, se midió la absorbancia a 517 nm mediante un espectrofotómetro Jasco Modelo 7800 UV-Vis (JapanSpectroscopic Co., Tokio, Japón). El estándar catequina se utilizó como comparación. El % DPPH\*, se calculó según:

$$\% \text{ DPPH*} = 1 - \frac{\text{Absorbancia muestra}}{\text{Absorbancia blanco de reactivo}} \times 100$$

## **4. RESULTADOS Y DISCUSIONES**

### **CINÉTICA DE SECADO**

El efecto de la temperatura de secado influye en la RH durante todo el proceso, como se observa en la Figura 1, Figura 2 y Figura 3. El incremento en la temperatura de secado, disminuye el tiempo del proceso e incrementa la velocidad de secado. Como se observa los tiempos de secado fueron de 1510, 750 y 370 minutos para los secados a 40, 70 y 100 °C, alcanzándose humedades de equilibrio en base húmeda de  $3.3 \pm 0.1 \%$ ;  $0.51 \pm 0.08 \%$  y de  $0.35 \pm 0.05 \%$  respectivamente.

## **VALIDACIÓN DE LOS MODELOS**

La comparación de la aplicabilidad de los modelos empleados sobre la base del coeficiente de regresión ( $R^2$ ) y la raíz cuadrada del error cuadrático medio (RCM); se muestra en la Tabla 1.

De acuerdo a la Tabla 1, el modelo Exponencial es el que mejor se ajusta a los 3 tratamientos. El modelo de potencia fue el que presentó la menor calidad de ajuste para los tratamientos de 40 y 100 °C, mientras que para el de 70 °C, el que presentó menor ajuste fue el Logarítmico.

En la Tabla 2, se muestran los valores de los parámetros pertenecientes a los modelos empíricos obtenidos para cada uno de los tratamientos. Se observa que los valores de los parámetros A y B de los modelos exponencial generalizado y potencial tienden a aumentar con la temperatura del secado. Esto coincide con los trabajos realizados por Vega-Gálvez *et al.* (2007) y Azzouz *et al.* (2002).

Los valores obtenidos de los coeficientes de difusión se muestran en la Tabla 3.

## **ANÁLISIS DE REHIDRATACIÓN**

En la Figura 4 se muestran los valores de RR en gramos absorbido de agua/gramos de masa seca, mientras que en la Figura 5 se muestran los valores de CIA en gramos retenidos de agua /100 gramos de agua, para los tratamientos de 40,70 y 100 °C, respectivamente. Se observa que el tratamiento a 70 °C, es el que presenta los menores valores del RR y la CIA.

## **ÍNDICE DE PARDEAMIENTO NO ENZIMÁTICO**

Los valores de IPNE se muestran en la Figura 6 para los tratamientos de 40, 70 y 100 °C, respectivamente. Se observa que se produce un incremento del IPNE, para todos los tratamientos con el aumento de temperatura de secado.

## **CAPACIDAD ANTIOXIDANTE**

Los valores del DPPH\* residual obtenidos a partir de las soluciones de extracto entre 25 y 30 mg de ms/ml, estuvieron cercanos al 0 %, para todos los tratamientos de secado.

## 5. CONCLUSIONES

La cinética del secado estuvo influenciada por el método de secado. Además los valores del coeficiente de difusividad efectiva dependen de la temperatura de secado; aunque el mismo se incrementa con el aumento de la temperatura. El modelo Exponencial presentó una mejor calidad de ajuste con los datos experimentales para los 3 tratamientos de secado.

Con referencia a los parámetros de calidad observamos que se produce un incremento del IPNE, para todos los tratamientos con el aumento de temperatura de secado; esto coincide en alguna medida con la evaluación del DPPH\* residual, cuyos valores fueron cercanos a cero, nos señalan la formación de compuestos de Maillard con manifiesta capacidad antioxidante en particular a 100 °C. Con respecto a los otros tratamientos, los menores valores del IPNE y los valores análogos del DPPH\* residual, estimamos, se atribuye a la escasa la formación de los compuestos de Maillard, prevaleciendo aquellos compuestos antioxidantes naturalmente presentes en la remolacha.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARROZ-EVANS, C. A.; Miller, N. J.; Paganga, G. (1996). Structure antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biological Medicine*, 20:933-956.
- AZZOUZ S, Guizani A, Jomaa W, Belghith A. 2002. Moisture diffusivity and drying kinetic equation of convective drying of grapes. *Journal of Food Engineering*, 55(4): 323-330.
- CRANK J. 1975. *The mathematics of diffusion*. 2nd ed. Oxford University Press, Oxford, 104-106.
- DELGADO-VARGAS, F., Jimenez, A. R. and Paredes -López, O. (2003). Natural pigments: carotenoids, anthocyanins and betalains, characteristics, biosynthesis, processing and stability. *Critical Reviews in food Science and Nutrition*, 40: 173-289.
- HALVORSEN, B.L., Holte, K., Myhrstad, M.C.W. *et al.*, (2002). A systematic screening of total antioxidants in dietary plants. *Journal of Nutrition*, 132:461-471.
- OLIVAS, R., Molina, F.J., Pérez, A. y Ortega, E. (1999), Development of mathematical model for drying of jalapeño peppers in batch process, Conference in Annual Meeting of AIChE, New York, U.S.A.
- RAUPP DA SILVA, Rodrigues, E., Rockenbach, I. I., Carbonar, A., Faber de Campos, P., Borsato A., V.,



- FETT, R. (2011). Effect of processing on antioxidant potential and total phenolics content in beet (*Beta vulgaris L.*). *Ciencia. Tecnol. Aliment., Campinas*, 31(3):688-693.
- SHIMADA K, Fujikawa K, Yahara K, and Nakamura T. 1992. Antioxidant properties of xhantan on the antioxidant of soybean oil in cyclodextrin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40: 945-948.
- VEGA-GÁLVEZ A, Tello Ireland C, Lemus-Mondaca R. 2007. Simulación matemática del proceso de secado de la gracilaria Chilena (*gracielariachilensis*), *Ingeniare. Revista chilena de ingeniería*, 15: 55-64.
- VEGA-GÁLVEZ A, Di Scala K, Rodríguez K, Lemus-Mondaca R, Miranda M, Loez J, Pérez-Won M. 2009. Effect of air-drying temperature on physico-chemical properties, antioxidant capacity, colour and total phenolic content of red pepper (*Capsicum annuum*, L. var. Hungarian). *Food Chemistry*, doi: 10.1016/j.foodchem.04.066.
- WANG N., Brennan J.G. 1991. Moisture sorption isotherm characteristics of potatoes at four temperatures, *Journal of Food Engineering*, 14 (4): 269-287.

## 7. TABLAS Y FIGURAS

**TABLA 1.** Parámetros estadísticos para los modelos

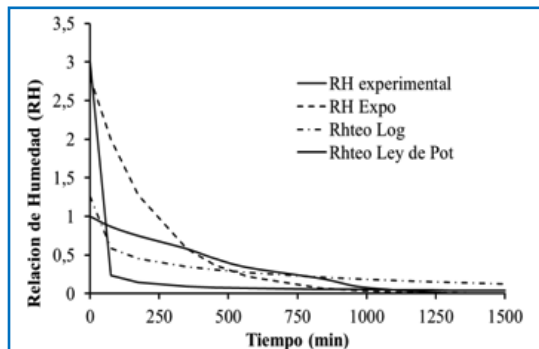
| Modelo          | Temperatura de secado |         |                |        |                |        |
|-----------------|-----------------------|---------|----------------|--------|----------------|--------|
|                 | 40 °C                 |         | 70 °C          |        | 100 °C         |        |
|                 | R <sup>2</sup>        | ECM     | R <sup>2</sup> | ECM    | R <sup>2</sup> | ECM    |
| Exponencial     | 0.95                  | 0.61033 | 0.99           | 0.019  | 0.98           | 0.1673 |
| Logarítmico     | 0.8614                | 0.17625 | 0.92           | 0.1216 | 0.96           | 0.0807 |
| Ley de potencia | 0.697                 | 0.63646 | 0.985          | 0.6146 | 0.704          | 0.1874 |

**TABLA 2.** Coeficientes de los modelos de ajuste

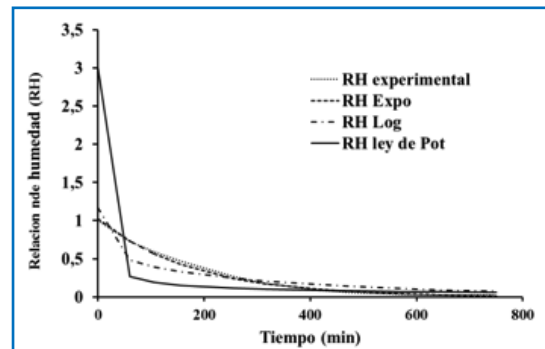
| MODELO          | TEMPERATURA | PARÁMETROS |          |
|-----------------|-------------|------------|----------|
|                 |             | A          | B        |
| EXPONENCIAL     | 40 °C       | 1.02937    | -0.00448 |
|                 | 70 °C       | 0.02558    | -0.00564 |
|                 | 100 °C      | 0.3638     | -0.01597 |
| LOGARÍTMICO     | 40 °C       | 1.26018    | -0.15578 |
|                 | 70 °C       | 1.16596    | -0.16633 |
|                 | 100 °C      | 1.09774    | -0.17879 |
| LEY DE POTENCIA | 40 °C       | 12.6176    | -0.7934  |
|                 | 70 °C       | 1.2021     | -0.43403 |
|                 | 100 °C      | 1.50893    | -0.84147 |

**TABLA 3.** Difusividad efectiva

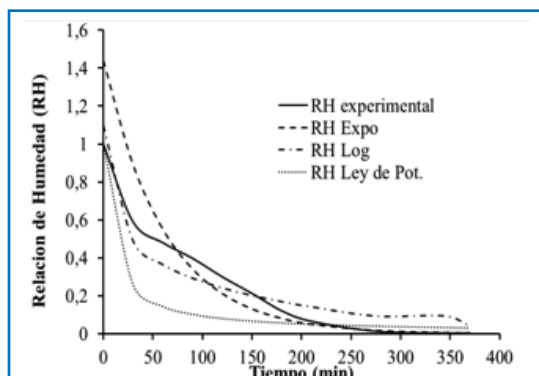
| Temperatura | $D'_{ef} (m^2/s)$         |
|-------------|---------------------------|
| 40 °C       | $1,1053417 \cdot 10^{-6}$ |
| 70 °C       | $1,3915 \cdot 10^{-6}$    |
| 100 °C      | $3,94024 \cdot 10^{-6}$   |



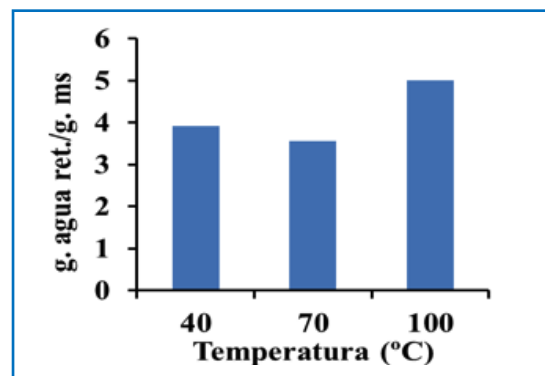
**FIGURA 1.** RH vs tiempo de secado a 40 °C



**FIGURA 2.** RH vs tiempo de secado a 70 °C



**FIGURA 3.** RH vs tiempo de secado a 100 °C



**FIGURA 4.** RR para los tratamientos de 40, 70 y 100 °C

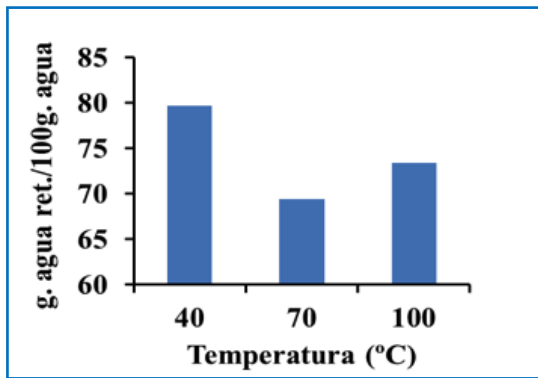


FIGURA 5. CIA para tratamientos de 40, 70 y 100 °C

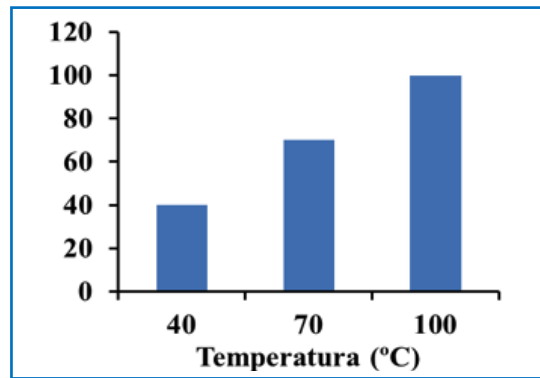


FIGURA 6. IPNE para tratamientos de 40, 70 y 100 °C

# EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE HARINA DE REMOLACHA OBTENIDA LUEGO DE SECADO A DIFERENTES TEMPERATURAS Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL EC50

Roque Masciarelli, Héctor Lucero, Silvia A. Silvester, Mónica Bonfigli

## 1. RESUMEN

Se estudió la influencia de la temperatura de secado sobre las propiedades antioxidantes de la remolacha. El secado se realizó en una estufa de tiro forzado de laboratorio con aire a velocidad constante, a temperaturas de: 40, 70 y 100 °C. Se molió el material seco y se prepararon extractos metanólicos para cada uno de los tratamientos de secado. Los extractos metanólicos se utilizaron para evaluar el DPPH\* residual y la absorbancia a 710 nm. La evaluación estadística de los valores del EC50 con las temperaturas resultaron de 11,28; 8,44 y 10,32 mg ms/mL para el DPPH\* residual y de 15; 14,8 y 13,6 mg ms/mL para la absorbancia a 710 nm para las temperaturas de secado de 40; 70 y 100 °C, respectivamente. El estudio realizado muestra que la harina de remolacha es una buena fuente de compuestos antioxidantes y que la temperatura de secado incide en los parámetros utilizados para evaluar la capacidad antioxidante.

## 2. INTRODUCCIÓN

La remolacha es una fuente importante de antioxidantes que además posee propiedades antiinflamatorias, hepato-protectivas y anticancerígenas. Se encuentra posicionada dentro de los 10 vegetales más poderosos con respecto a su capacidad antioxidante, dado que posee un contenido fenólico promedio de 50-60 µmol/g ms. El extracto de betalaina obtenido de la remolacha es ampliamente usado como

---

CONTACTO: Roque Masciarelli [mascia@netcoop.com.ar](mailto:mascia@netcoop.com.ar)  
Centro de Investigaciones y Desarrollo de Tecnología en  
Alimentos (CIDTA). Universidad Tecnológica Nacional. Facultad  
Regional Rosario. E. Zeballos 1341- (2000) Rosario. Argentina.

colorante natural en varios productos lácteos, jugos, golosinas y algunos embutidos cocidos. Las betalainas están formadas por dos clases de pigmentos: betacianinas (pigmentos de color rojo-violeta) y betaxiantinas (pigmento de color amarillo-anaranjado). Las betalainas y otros compuestos fenólicos presentes en las remolachas disminuyen el daño oxidativo de lípidos y mejoran el estado antioxidante de los humanos. Se ha reportado que la capacidad antioxidante enriquece a las lipoproteínas de baja densidad dado que las betalainas aumentan su capacidad antioxidante (Tesoriere *et al.*, 2004b). Durante el proceso de extracción de betalaina obtenido de las remolachas, tanto el procesamiento y en particular la temperatura durante la etapa previa de secado, puede afectar el contenido de betalainas, y en consecuencia el color y la capacidad antioxidante. Rockenbach *et al.* (2008) en sus estudios sobre extractos de orujos de uva obtuvieron buenos resultados utilizando distintas concentraciones de solvente. Vega-Gálvez y col. (2009) estudiaron el efecto de la temperatura de secado sobre la capacidad antioxidante de pimientos rojos, determinando que dicha capacidad se reduce con el aumento de la temperatura, pero se incrementa a partir de 85 °C; debido a la formación de compuestos de Maillard, que poseen actividad antioxidante. El efecto de secado en el contenido de polifenoles y la actividad antioxidante de la remolacha no está claramente explicado todavía. Por lo tanto, el objetivo de este estudio es la obtención de harinas de remolacha y la investigación de la influencia de las temperaturas de secado sobre la capacidad antioxidante.

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **MATERIAS PRIMAS. PROCESAMIENTO**

Las remolachas se adquirieron a un productor cercano a la ciudad de Rosario. Se lavaron con una solución acuosa de detergente neutro y enjuagaron con agua corriente tres veces. En la proporción sólido /líquido: 1/10, se hirvieron durante 30 min a partir de alcanzar el punto de ebullición. Esta operación se realizó a los efectos de reducir la carga microbiana y facilitar los procesos extractivos posteriores (Delgado-Vargas y Paredes Lopez, 2003). Se enfriaron a temperatura ambiente, se pelaron y se cortaron en cubos de  $1 \pm 0,2$ cm. Se colocaron en baño de solución de cloruro de sodio al 4 %, calentándose por 30 min (Raupp *et al.*, 2011). Se enfriaron, se escurrió el líquido, se embolsaron en film de polietileno y se guardaron en freezer

a  $-18^{\circ}\text{C}$  hasta su uso. Luego se sometieron a tratamientos de secado mediante estufa de tiro forzado con aire a velocidad constante a las temperaturas: 40, 70 y  $100^{\circ}\text{C}$ . Los tiempos de secado resultaron: 1595; 735 y 370 min, obtenidos cuando el peso se mantuvo constante. Las humedades finales fueron: 16,8; 15,3 y 14,3 % (en base húmeda), respectivamente. Las determinaciones de humedades en cada tiempo se realizaron mediante la técnica de A.O.A.C. (2000).

### REACTIVOS QUÍMICOS

Los siguientes reactivos químicos fueron provistos por Sigma comercial Co. (St. Louis, USA): metanol; etanol; ácido acético; 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH\*); cloruro férrico; hexaciano ferrato de potasio; ácido tricloroacético; catequina. Todos los reactivos químicos y solventes utilizados fueron de grado reactivo analítico.

### PREPARACIÓN DE LOS EXTRACTOS

El material seco obtenido en cada tratamiento fue molido con molino de cuchillas hasta que el material pasó por tamiz malla 40, obteniéndose harina de remolacha. 5 g de la misma se extrajeron con 25 mL de metanol por agitación, durante 4 h a temperatura ambiente y al abrigo de la luz. Luego, los sólidos se separaron mediante filtración (Whatman n.º 40). A partir del filtrado (solución madre), se prepararon soluciones para cada uno de los tratamientos de secado desde 0.5 a 30 mg de ms/mL de solvente, las que se denominaron extractos. Estos se conservaron a  $-18^{\circ}\text{C}$  en frascos herméticos de vidrio hasta su utilización en las determinaciones analíticas. Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

### DETERMINACIONES ANALÍTICAS

#### *DPPH\* residual*

Se utilizó el método espectrofotométrico de Shimada *et al.* (1992). Se mezcló 1 mL de los extractos con 5 mL de una solución metanólica 0,1 mM de DPPH\*. Luego, se midió la absorbancia a 517 nm mediante un espectrofotómetro Jasco Modelo 7800 UV-Vis (JapanSpectroscopic Co., Tokio, Japón). El estándar catequina se utilizó como comparación. El % DPPH\*, se calculó según:

$$\% \text{ DPPH}^* = 1 - \frac{\text{Absorbancia muestra}}{\text{Absorbancia blanco de reactivo}} \times 100$$

### ***Absorbancia a 710 nm***

Se aplicó el método propuesto por Duh y Yen (1997): a 1 mL del extracto se le adicionaron: 0,5 mL de buffer fosfato (0,2M, pH 6,6) y 2,5 mL de hexaciano ferrato de potasio al 1 %. Se enfrió 20 min y se adicionaron 0,5 mL de ácido tricloroacético al 10 %. Se centrifugó a 3000 g durante 10 min; a 1 mL del sobrenadante se lo mezcló con 1 mL de agua bidestilada y 0,1 mL de cloruro férrico (0,1 %), se dejó reaccionar por 10 minutos y se midió la absorbancia a 710 nm con espectrofotómetro. Se utilizó el estándar ácido ascórbico como comparación.

### ***Análisis estadístico del EC50***

EC50 se define como la concentración media efectiva, es decir, la concentración de extracto necesario para disminuir en 50 % el valor de los parámetros en estudio, en este caso %DPPH\* y la Absorbancia a 710 nm (Navarro, A. *et al.*, 2006). Los valores del EC50 se obtuvieron de las gráficas correspondientes, medidos en mg de ms/mL (C).

Con los valores experimentales obtenidos del DPPH\*residual en función de las concentraciones y para cada temperatura de procesamiento, se obtuvieron las siguientes correlaciones, las cuales solo difieren en el valor del término independiente; el resto corresponde a la siguiente función que depende de la temperatura y la concentración, que definimos:

$$F(T,C) = -0.35794 \times T - (0.10603 + 0.10211 \times T - 0.000686 \times T^{**2}) \times C$$

Luego para cada temperatura surgen las siguientes expresiones:

$$40 \text{ }^\circ\text{C: DPPH}^*\text{res.} = 101.073 - F(T,C)$$

$$70 \text{ }^\circ\text{C: DPPH}^*\text{res.} = 88.146 - F(T,C)$$

$$100 \text{ }^\circ\text{C: DPPH}^*\text{res.} = 87.34 - F(T,C)$$

Con respecto a la absorbancia la función genérica obtenida en función de la temperatura y la concentración es la siguiente:

$$\text{Abs} = (0.0354 - 0.00233 \times T + 0.0000256 \times T^{**2}) + (0.0478 + 0.000983 \times T - 0.0000872 \times T^{**2}) \times C$$

Luego se aplicaron las correlaciones anteriores del DPPH\*res. y la Absorbancia a 710 nm, con respecto a la temperatura y la concentración de extractos en mg de ms/mL (C): a los efectos de comparar los valores experimentales con los teóricos.

De modo análogo, los valores de los valores del EC50 se obtuvieron de las gráficas experimentales correspondientes, medidos en mg de ms/mL (C) y se correlacionaron con los valores del EC50 en función de la temperatura considerando, distintas funciones matemáticas, lineales, polinómicas y exponenciales, tales como las realizadas por Shih –ChuanLiu *et al.* (2009) y Aliakbarian B. *et al.* (2008).

Los datos fueron procesados mediante el software Origin Pro 8 y para establecer las diferencias significativas de los parámetros en estudio, se empleó el análisis ANOVA. El nivel de significación se estableció para un valor  $p < 0,05$ .

#### **4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

##### **DPPH\* RESIDUAL**

La Figura 1 muestra que el DPPH\* residual, decrece cuando aumentan las concentraciones de extracto para cada temperatura; además se observa que entre 0 y 5 mg de ms/mL, no existen diferencias significativas en los valores del DPPH\*res., los que oscilan entre 70.7 y 78.2. A partir de 7.5 y hasta 25 mg de ms/mL, los valores a 40 °C, varían desde 66.8 hasta 1.1 % siendo significativamente superiores a los de las otras temperaturas. Por otra parte a 70 °C entre 5 y 17.5 mg de ms/mL el DPPH\*residual, es significativamente inferior al de las otras temperaturas de secado. Entre 6 y 20 mg de ms/mL, los valores a 70 y 100 °C decrecen entre 68 y 0.3 % y desde 50 a 0.5 % respectivamente y además entre 20 y 30 mg de ms/mL no presentan diferencias significativas con valores entre 0.3 y 1.2 %. A partir de 25 mg de ms/mL, los valores del DPPH\*residual para las tres temperaturas de procesamiento no presentaron diferencias significativas y oscilaron entre 0.3 y 1.2 %.

##### **ABSORBANCIA A 710 nm**

La Figura 2, muestra que los valores de absorbancia crecen a medida que se aumentan las concentraciones de los extractos para cada temperatura. Además para concentraciones de hasta 12 mg de ms /mL, no existen diferencias significativas entre los valores de la absorbancia para los tres tratamientos de secado. Así para 40 y 70 °C no se manifiestan diferencias significativas, entre 12 y 30 mg de ms/mL; alcanzando a dicha con-



centración valores de 2.29 y 2.35 respectivamente. Por otra parte en el tratamiento a 100 °C la absorbancia ente 12 y 18 mg de ms/mL, presenta diferencias significativas respecto a los otros tratamientos, haciéndose no significativas hasta 21 mg de ms/mL pero a partir de este último valor y hasta 30 mg de ms/mL, se hacen significativamente diferentes con respecto a las de 40 y 70 °C, alcanzando el valor de 1.75 a esta última concentración, resultando un 30-34 % inferior a los de 40 y 70 °C respectivamente.

#### **VALORES DEL EC50 PARA LOS PARÁMETROS ESTUDIADOS**

Con referencia al DPPH\* residual, los valores menores alcanzados del EC50, se produjeron a 70 y 100 °C; ya sea para el DPPH\* residual como para la absorbancia resultando de 8.44 y 10.32 mg de ms/mL para el primero y de 14,9 y 13,6 mg de ms/mL para el segundo. En tanto que los obtenidos a 40 °C fueron de 11,28 y 15 mg de ms/mL respectivamente.

Al analizar los resultados y las correlaciones matemáticas del EC50 con las temperaturas, que se muestran en las tablas 1, 2 y 3.

#### **5. CONCLUSIONES**

El efecto de la temperatura del aire de secado en los parámetros de DPPH\* residual y Absorbancia a 710 fue investigado. Los menores valores del DPPH\* residual a 70 y 100 °C en prácticamente todo el rango de concentraciones utilizado con respecto a 40 °C, estimamos se atribuye que en esta última condición por tratarse de un temperatura relativamente baja, se forman menores porcentajes de radicales libres y productos de Maillard, predominando los polifenoles naturales presentes sobre los anteriores. En tanto que a 70 y 100 °C, ocurre a la inversa, ya que, según (Masciarelli. *et al.* 2013) el CPT (contenido de polifenoles presentes), para las harinas de remolachas prácticamente se mantienen sin variación a las temperaturas de tratamiento utilizadas.

Los valores de absorbancia de los extractos de las harinas obtenidas a distintas temperaturas de secado crecen con el aumento de la concentración, los mayores valores correspondieron a 40 y 70 °C; estuvieron cercanos a 2.3 para 30 mg de ms/ml y superaron en un 30% al obtenido a 100 °C.

Para el análisis del EC50 con la temperatura realizamos correlaciones con funciones: lineal, polinómica de segundo orden, exponencial y con la ecuación ge-

nérica. Algunos autores sólo consideran la regresión lineal (Shih-ChuanLiu *et al.* 2009). Para el DPPH\* residual y la Absorbancia, los mejores ajustes se obtuvieron con la función polinómica que produjeron errores cuadráticos medios de 0.022 y 0.058 respectivamente, en tanto que los mayores errores alcanzados fueron de 1.1 en las regresiones lineales y exponencial y de 0.97 aplicando la ecuación genérica en el DPPH\* residual y para las mismas correlaciones de la Absorbancia, resultaron 0.288 para la lineal y la exponencial y de 0.729 para la genérica. Como los valores del EC50 para las mediciones de la absorbancia, no presentaron diferencias significativas, estimamos que dicho parámetro no resulta recomendable para evaluar la calidad de las harinas obtenidas luego del secado a distintas temperaturas.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOAC. Association of Official Analytical Chemist. (2000). Official Methods of analysis. 14 editions. A.O.A.C. Herrick K. Editor. Washington, D. C., vol. 1, chapter 3
- ALIAKBARIAN B., De Faveri D., Converti A., Perego, P. (2008). Optimisation of olive oil extraction by means of enzyme processing aids using response surface methodology using response surface methodology. 42:34-40.
- DELGADO-VARGAS, F., Jimenez, A. R. and Paredes -López, O. (2003). Natural pigments: carotenoids, anthocyanins and betalains, characteristics, biosynthesis, processing and stability. Critical Reviews in food Science and Nutrition, 40: 173-289.
- DUH P. D.; Yen G. C. (1997). Antioxidant activity of three herbal water extracts. Food Chemistry, 60(4):639-645.
- MASCIARELLI, R.; Tosi, E.; Lucero, H.; Silvester, S.A. (2013). Influencia del tratamiento térmico sobre la capacidad antioxidante de la remolacha (*beta vulgaris*). XIV Congreso Argentino de Ciencias y Tecnología de los Alimentos. CYTAL. Rosario. Argentina.
- NAVARRO, A.; Pinotti, A; Garcia, A.; Martino, M. (2006). Correlación entre la capacidad antioxidante y el contenido de polifenoles de extractos vegetales bajo diferentes condiciones de conservación. Congreso Internacional de Ciencia y tecnología de los alimentos. Córdoba/Argentina. ISBN: 987-22457-9-7.
- RAUPP DA SILVA, Rodrigues, E., Rockenbach, I. I., Carbonar, A., Faber de Campos, P., Borsato A., V., Fett, R. (2011). Effect of processing on antioxidant potential and total phenolics content in beet (*Beta vulgaris* L.). Ciencia. Tecnol. Aliment., Campinas, 31(3):688-693.

- ROCKENBACH, I. I., Da Silva, G. L., Rodrigues, E., Kuskoski, E. M. y Fett, R. (2008), Solvent influence on total polyphenol content, anthocyanins, and antioxidant activity of grape (*Vitisvinifera*) bagasse extracts from Tanta and Ancelota-differents varieties of *Vitisvinifera* varieties, *Ciencia e Tecnología de Alimentos, Campinas*, Vol. 28 (Supl.), pp. 238-244.
- SHIH-CHUAN LIU; Jau-Tien Lin, Chin-Kun Wang; Hsin-Yi Chen, Deng-Jye Yang (2009). Antioxidant properties of various solvent extracts from lychee (*Lichichinenensis*Sonn.) flowers. *Food Chemistry* 114-577-581.
- SHIMADA, K.; Fujikawa, K.; Yahara, K.; Nakamura, T. (1992). Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *Journal of Agricultural Food Chemistry*,40(6): 945-948.
- TESORIERE, L., Allegra, M., Butera, D., Livrea, M.A. (2004b) Absorption, excretion, and distribution in low density lipoproteins of dietary antioxidant betalains. Potential health effects of betalains in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 80:941-945.
- VEGA-GALVEZ A., Di Scala, K., Rodríguez, K., Lemius-Mondaca, R., Miranda, M., López, J., Perez-Won, M. (2009). Effect of air drying temperature on physico-chemical properties, antioxidant capacity, color and total phenolic content of red pepper. (*Capsicum annum*, L. var. Hungarian). 1-7

## 7. TABLAS Y FIGURAS

**TABLA 1.** Valores de EC50 para DPPH\* residual

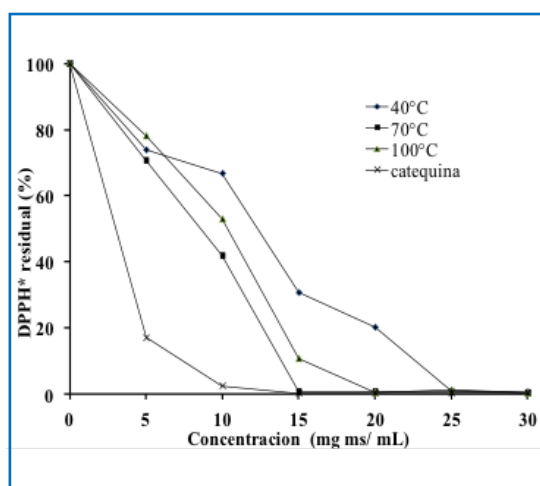
| T °C | EC50 experimental | EC50 para n=1 | EC50 para n=2 | EC50 para Función exponencial | EC50 para Ecuación genérica |
|------|-------------------|---------------|---------------|-------------------------------|-----------------------------|
| 40   | 11.28             | 10.49         | 11.27         | 10.39                         | 12.65                       |
| 70   | 8.44              | 10.013        | 8.42          | 9.94                          | 9.05                        |
| 100  | 10.32             | 9.53          | 10.29         | 9.5                           | 11.08                       |

**TABLA 2.** Valores de EC50 para Absorbancia

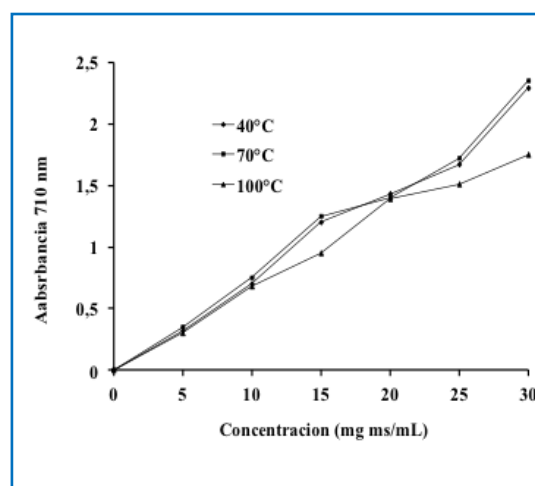
| T ( °C) | EC50 experi-<br>mental.<br>mg de ms/ml | EC50 , para<br>n=1<br>mg de ms/ml | EC50 para<br>n=2<br>mg de ms/ml | EC50 para<br>Función<br>exponencial<br>mg de ms/ml | EC50 para<br>Ec. genérica<br>mg de ms/ml |
|---------|--|-----------------------------------|---------------------------------|--|--|
| 40      | 15                                     | 15.21                             | 15                              | 15.2   | 15.79                                    |
| 70      | 14.9                                   | 14.46                             | 14.89                           | 14.48  | 15.87                                    |
| 100     | 13.6                                   | 13.71                             | 13.5                            | 13.78  | 13.6                                     |

**TABLA 3.** Correlaciones matemáticas de EC50 con la Temperatura

| DPPH* RESIDUAL  | ABSORBANCIA  |
|---|--|
| Lineal $EC50 = 11.133 - 0.016 \times T$<br>R=0.332; SD=1.93 ;N=3; p=0.784   | $EC50 = 16.21667 - 0.025 \times T$<br>R=0.89;SD0.54;N=3; p=0.295       |
| Polin. $EC50 = 22.40889 - 0.38311 \times T + 0.00262 \times (T)**2 - 0.000722 \times (T)**2$<br>R=1; SD=1;N=3;p< 0.0001 | $EC50 = 13.11 + 0.07611 \times T$<br>R=1;SD=0;N=3;p<0.0001             |
| Exponencial $LnEC50 = 2.40043 - 0.00148 \times T$<br>R=0.29;SD=0.2;N=3;p=0.8066   | $LnEC50 = 2.78747 - 0.00163 \times T$<br>R=0.89;SD=0.03454;N=3;p=0.294 |



**FIGURA 1.** DPPH\* residual vs concentración



**FIGURA 2.** Absorbancia a 710 nm vs concentración

# MODELADO DE LA CINÉTICA DE TRANSFERENCIA DE MASA EN FUNCIÓN DE LA TEMPERATURA DURANTE LA DESHIDRATACIÓN OSMÓTICA DE PULPA DE MEMBRILLO

Daniel Bermejo<sup>1</sup>, Sandro Ariel Faner<sup>1,2</sup>, Gerardo Alberto Calvo<sup>1</sup>

## 1. RESUMEN

Se planteó un modelo matemático que simula el proceso de deshidratación osmótica de cilindros de pulpa de membrillo utilizando glucosa y sacarosa como solutos osmodeshidratantes. El modelo tiene en cuenta la estructura celular para plantear los mecanismos de transferencia de masa. A medida que aumenta la temperatura del proceso se observa un incremento en la velocidad de deshidratación, aunque la misma no afecta las condiciones finales de equilibrio. Los datos experimentales validan el modelo de forma satisfactoria, el cual puede ser empleado como una herramienta de diseño.

## 2. INTRODUCCIÓN

La deshidratación osmótica es una técnica que permite eliminar parcialmente el agua de los tejidos de los alimentos por inmersión en una solución hipertónica, sin dañar el alimento y afectar desfavorablemente su calidad (Rastogi *et al.*, 2002). Usualmente, la deshidratación osmótica se emplea como etapa de pretratamiento para un ulterior proceso de secado convencional, tal como pueden ser el secado con aire caliente o el liofilizado, debido principalmente a la mejor conservación de colores, aromas y otras características organolépticas del alimento (Chiralt *et al.*, 2001). El objetivo del presente trabajo fue desarrollar un modelo matemático que prediga la cinética de deshidratación osmótica en pulpa de membrillo, teniendo en cuenta

---

CONTACTO: Daniel Bermejo [dbermejou6@gmail.com](mailto:dbermejou6@gmail.com)

1. Instituto de Tecnología Agroindustrial, Universidad Nacional de La Rioja, La Rioja, Argentina.

2. Departamento de Ciencias Básicas y Tecnológicas, Universidad Nacional de Chilecito, La Rioja, Argentina.

la temperatura como principal variable del proceso. Si bien numerosos autores han modelado la cinética de transferencia de masa durante el proceso de deshidratación osmótica, son muy escasos los modelos que tienen en cuenta la temperatura como variable (Erasmus Herman *et al.*, 2013; Seguí *et al.*, 2012). El modelo arroja los perfiles de concentraciones en grados Brix ( $^{\circ}\text{Bx}$ ), pérdida de peso y ganancia de sólidos por parte del alimento en función del tiempo y la temperatura. El modelo contempla las características de los solutos empleados a través del cálculo de su difusividad (Wilke y Chang, 1955). Se plantearon los flujos máscicos de agua y soluto dentro de la fruta y en la solución osmótica, mediante un modelo de aproximación celular o microscópico-estructural (Spiazzi y Mascheroni, 1997; Seguí *et al.*, 2012) que tiene en cuenta los procesos de transferencia de masa entre las regiones intracelulares y extracelulares (flujos simplástico y plasmalemmático, respectivamente). El sistema de ecuaciones diferenciales y complementarias se resolvió numéricamente empleando la herramienta Simulink del software Matlab. Se utilizaron datos experimentales obtenidos en trabajos anteriores para validar el modelo.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

Como materia prima se utilizó membrillo de la variedad Champion, adquiridos en la zona. Se extrajeron muestras cilíndricas de 10 mm de diámetro y 10 mm de longitud, empleando un sacabocado de acero inoxidable, bisturí y calibre vernier. Se utilizó la región de la pulpa en dirección paralela al eje del fruto, evitando la zona cercana a las semillas, debido a la alta concentración de células pétreas. Se utilizaron soluciones osmóticas de glucosa y sacarosa de grado alimentario, siendo las concentraciones empleadas en los ensayos de 35°, 45°, 55° y 65° Bx. Las muestras de membrillo se sumergieron en la solución osmótica correspondiente a una proporción máscica de solución a pulpa de 20:1, a presión atmosférica (Gómez y Corzo, 2002). Los ensayos se llevaron a cabo a temperaturas de 20°, 30° y 40 °C. Se realizaron determinaciones cada 30, 60, 90, 120, 180, 240 y 300 minutos. Se realizó el seguimiento del peso de la pulpa por gravimetría. Una vez seleccionada la fruta, libre de picaduras y mal estado, se midió la concentración inicial de la fruta por refractometría. Se pesaron los cilindros extraídos (peso inicial de la fruta), arrojando las muestras un peso promedio de  $0,6504 \pm 0,063$  gramos. Las muestras se colocaron en vasos de precipitado de 100 ml y se les agregó la solución hipertónica,

cubriendo perfectamente los cilindros, quedando éstos sumergidos por una malla de acero inoxidable. Se controló el tiempo con cronometro digital y se llevaron los vasos a estufa con control de temperatura, fijándose la misma a 20°, 30° y 40 °C. Las bocas de los vasos de precipitado se cubrieron con un film plástico, a los efectos de evitar su evaporación. Una vez concluido el tiempo de ensayo se retiró la muestra, se la enjuagó, se la secó suavemente con papel absorbente y se la pesó con balanza analítica de 0,0001 gramos de precisión (peso final de la fruta).

### **MODELADO MATEMÁTICO**

Con el propósito de plantear un modelo bien fundado y de fácil aplicación, en este trabajo se adoptará como punto de partida el Modelo Osmótico Difusional desarrollado por Spiazzi y Mascheroni (Spiazzi y Mascheroni, 1997), el cual está inspirado en el trabajo de Toupin y Marcotte (Toupin *et al.*, 1989; Marcotte *et al.*, 1991). Una de las modificaciones más importantes que posee el modelo aquí planteado, es la de tener en cuenta la dependencia de la cinética de deshidratación osmótica con la temperatura del proceso, a través de su inclusión en las expresiones para el cálculo de los coeficientes de transporte difusivos y de membrana. Los parámetros del modelo serán adaptados en función de las propiedades de la pulpa de membrillo. El modelo está diseñado para ser aplicado bajo las condiciones más usuales utilizadas en la deshidratación osmótica de productos vegetales, las cuales corresponden a las ensayadas experimentalmente en este trabajo y que pueden ser utilizadas como punto de partida para el diseño de un proceso a escala industrial o bien para control de un proceso existente. El modelo tiene en cuenta las distintas concentraciones de la solución osmótica, la influencia del tipo de soluto empleado (por medio de su masa y tamaño molecular), la geometría y la dimensión de las muestras, la proporción de masa de fruta a masa de solución, el encogimiento de las piezas de alimento sufrido durante el proceso, la dilución de la solución osmótica por medio del balance de masa global del proceso y la temperatura a la cual se lleva a cabo el mismo. La transferencia de masa que tiene lugar a nivel del tejido tisular en vegetales durante la deshidratación osmótica, puede ser interpretada de acuerdo al esquema presentado en la Figura 1.

A los fines del análisis matemático, hemos discretizado la muestra cilíndrica en N cilindros concéntricos de igual volumen, como si fuesen anillos, de manera tal que los respectivos radios se calculan mediante:

$$R_i = \sqrt{i \frac{R^2}{N}} \quad i = 1, 2, 3, \dots, N \quad (1)$$

El balance de masa para el agua presente en el volumen celular  $V^i$  es:

$$\frac{d m_{H_2O_c}^i}{dt} = n_{H_2O_s}^{i-1} A_{cs}^{i-1} - n_{H_2O_s}^i A_{cs}^i - n_{H_2O_p}^i A_{cp}^i \quad (2)$$

Donde  $A_{cp}$  y  $A_{cs}$  son las áreas de transferencia plasmalemática y simplástica, respectivamente, mientras que  $n_{H_2Op}$  y  $n_{H_2Os}$  son los flujos de agua plasmalemático y simplástico, respectivamente. Los balances de masa para agua y soluto en el volumen extracelular son:

$$\frac{d m_{H_2O_o}^i}{dt} = n_{H_2O_p}^i A_{cp}^i + n_{H_2O_o}^{i-1} A_o^{i-1} - n_{H_2O_o}^i A_o^i \quad (3)$$

$$\frac{d m_{solute_o}^i}{dt} = n_{solute_o}^i A_o^i - n_{solute_o}^{i-1} A_o^{i-1} \quad (4)$$

El flujo másico transmembrana entre volúmenes celulares (flujo simplástico) se modeló teniendo en cuenta la presencia de plasmodesmatas, que constituyen una serie de tubos microscópicos que comunican los citoplasmas de dos células vecinas. El flujo de agua y solutos a través de los mismos se genera por la diferencia de presión osmótica existente a ambos extremos, lo que responde a la ecuación de Hagen-Poiseuille.

$$n_{H_2O_s}^i = \frac{\pi R_p^4 \rho_{H_2O} N_{plas} (\Pi^{i+1} - \Pi^i)}{1,6 \times 10^{-11} \mu_{water} L_{plas}} \quad (5)$$

Donde  $R_p$  y  $L_{plas}$  son el radio y la longitud de los plasmodesmatas, respectivamente, mientras que  $N_{plas}$  y  $\Pi^i$  son el número de plasmodesmatas por unidad de área de membrana celular y las presiones osmóticas a ambos lados de la misma, respectivamente. Por otra parte, el flujo plasmalemático de agua desde el interior de las células hacia el espacio extracelular se modela a través de la siguiente expresión:

$$n_{H_2O_p}^i = L_{H_2O} R T \ln \left( \frac{a_{w_c}^i}{a_{w_o}^i} \right) \quad (6)$$



Donde  $L_{H_2O}$  es la permeabilidad de la membrana plasmática y  $a_w^i$  la actividad de agua dentro y fuera del espacio celular. Un parámetro muy importante dentro del modelo es la difusividad, tanto del agua como del soluto, que gobierna el flujo de ambos componentes entre los espacios extracelulares. La correlación que se utilizó es la propuesta por Wilke y Chang (1955):

$$D_{H_2O} = \frac{8,67916 \times 10^{-12} T}{\mu_{water}} \quad D_{solute} = \frac{5,0624 \times 10^{-12} T}{(V_{solute})^{0,6} \mu_{water}} \quad (7, 8)$$

Los flujos máxicos entre volúmenes extracelulares se calcular mediante:

$$n_{H_2O_o}^i = \frac{D_{H_2O} (\rho_{H_2O_o}^i - \rho_{H_2O_o}^{i+1})}{R_i - R_{i-1}} \quad (9)$$

$$n_{solute_o}^i = \frac{D_{solute} (\rho_{solute_o}^{i+1} - \rho_{solute_o}^i)}{R_i - R_{i-1}} \quad (10)$$

El área de transferencia de masa entre el espacio celular y la región extracelular (plasmalemtica),  $A_{cp}$ , así como el área de transferencia entre células (simplástica),  $A_o$ , se calculan respectivamente:

$$A_{cp}^i = a_v^i V_c^i \quad A_o^i = 2\pi R_i L \varepsilon^i \quad (11, 12)$$

Donde  $a_v$  es el factor área-volumen de las células, un parámetro de caracterización geométrica que involucra la esfericidad de las mismas.  $\varepsilon^i$  es la fracción del volumen total de la muestra que ocupa el espacio extracelular. El cálculo de la actividad de agua se llevó a cabo aplicando el modelo de Guggenheim, Anderson and De Boer (GAB) para el caso particular de deshidratación osmótica de manzanas (Prothon y Ahrné, 2004). En dicha expresión  $X^i$  es el contenido de agua en base seca.

$$a_w^i = \frac{0,278 X^i - 0,115 + \sqrt{(0,278 X^i - 0,115)^2 + 5,2 (X^i)^2}}{2,6 X^i} \quad (13)$$

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 2 puede observarse el comportamiento del porcentaje de pérdida de peso de la fruta en función del tiempo de deshidratación con sacarosa, para distintas condiciones experimentales. Para una mejor visualización de las curvas y comparación de los valores arrojados por el modelo contra los datos experimentales, se tomaron las dos concentraciones de solución osmótica más extremas y representativas (35 y 65 °Bx) y las temperaturas mínima y máxima de los ensayos (20 y 40 °C).

Como es de esperar, a mayor concentración de la solución osmótica mayor es la pérdida de peso final de la fruta (condición de equilibrio). Un aumento de temperatura no cambia las condiciones de equilibrio pero acelera el proceso, lo cual es un factor muy interesante desde el punto de vista del diseño a escala industrial del proceso. A 65 °Bx y 40 °C se alcanza el equilibrio una hora antes que a 35 °Bx y 20 °C, mientras que para el caso de 35 °Bx y 40 °C el tiempo se amplía en aproximadamente dos horas con respecto a 35 °Bx y 20 °C. El modelo matemático reproduce los datos experimentales con aceptable fidelidad. Resultados similares se obtienen para el caso del empleo de glucosa como soluto osmodeshidratante (Figura 3).

En el caso de la glucosa, si bien la pérdida de agua por parte de la fruta es similar que con sacarosa, la mayor difusividad de la primera aumenta la ganancia de soluto, por lo cual la pérdida de peso global es menor.

La Figura 4 muestra el tiempo necesario para alcanzar el equilibrio, es decir el máximo grado de deshidratación osmótica, en función del tipo de soluto, de la concentración de la solución osmótica y de la temperatura. Los datos fueron obtenidos del modelo matemático. Como es de esperar, a medida que aumentan tanto la temperatura como la concentración de la solución osmótica, disminuye notablemente el tiempo de deshidratación. La glucosa sigue un comportamiento similar al de la sacarosa, aunque los tiempos de deshidratación son menores, debido al menor peso molecular y mayor coeficiente de difusión de la misma, lo que la convierte en un óptimo agente osmodeshidratante. Sin embargo, y por las mismas razones precedentes, en el caso de la glucosa nos encontramos con una mayor ganancia de soluto por parte de la fruta que compensa la masa de agua que la abandona, lo que resulta en una menor pérdida de peso global.

## 5. CONCLUSIONES

Se desarrolló un modelo matemático que simula el proceso de transferencia de masa que ocurre durante la deshidratación osmótica de pulpa de membrillo. La sacarosa produjo la máxima pérdida de peso por parte de la fruta con un mínimo de ganancia de soluto, mientras que la glucosa provocó una mayor reducción del contenido de agua pero mayor ganancia de soluto. La temperatura aumenta la cinética de deshidratación de manera notable aunque no afecta las condiciones finales de equilibrio.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- WILKE C.R., Chang P. (1955). Correlation of diffusion coefficients in dilute solutions. *AIChE Journal*, 1, 264-270.
- CHIRALT, A., Martínez-Navarrete, N., Martínez-Monzó, J., Talens, P., Moraga, G., Ayala, A. (2001). Changes in mechanical properties throughout osmotic processes. Cryoprotectant effect. *Journal of Food Engineering*, 49, 129-135.
- HERMAN-Lara E., Martínez-Sánchez C.E., Pacheco-Angulo H., Carmona-García R., Ruiz-Espinosa H., Ruiz-López I. (2013). Mass transfer modeling of equilibrium and dynamic periods during osmotic dehydration of radish in NaCl solutions. *Food and Bioprocess Technology*, 91, 216-224.
- GÓMEZ, E. y Corzo, O. (2002). Deshidratación osmótica óptima del melón cortado en forma cilíndrica. *Anales - Universidad Metropolitana de Venezuela*, 2, 75-89.
- SEGUÍ L., Fito P.J., Fito P. (2012). Understanding osmotic dehydration of tissue structured foods by means of a cellular approach. *Journal of Food Engineering*, 110, 240-247.
- MARCOTTE, M., Toupin, C. J. y Le Maguer, M. (1991). Mass transfer in cellular tissues. Part I: The mathematical model. *Journal of Food Engineering*, 13, 199-220.
- PROTHON F., Ahrné L. (2004). Application of the Guggenheim, Anderson and De Boer model to correlate water activity and moisture content during osmotic dehydration of apples. *Journal of Food Engineering*, 61, 467-470.
- RASTOGI N., Raghavarao K., Niranjan K., Knorr D. (2002). Recent developments in osmotic dehydration: methods to enhance mass transfer. *Trends in Food Science and Technology*, 13, 48-59.

SPIAZZI, E., Mascheroni, R., (1997). Mass transfer model for osmotic dehydration of fruits and vegetables - I. Development of the simulation model. Journal of Food Engineering, 34, 387-410.

TOUPIN, C. J., Marcotte, M. y Le Maguer, M. (1989). Osmotically induced mass transfer in plant storage tissues: a mathematical model - Part 1. Journal of Food Engineering, 10, 13-38.

## 7. TABLAS Y FIGURAS

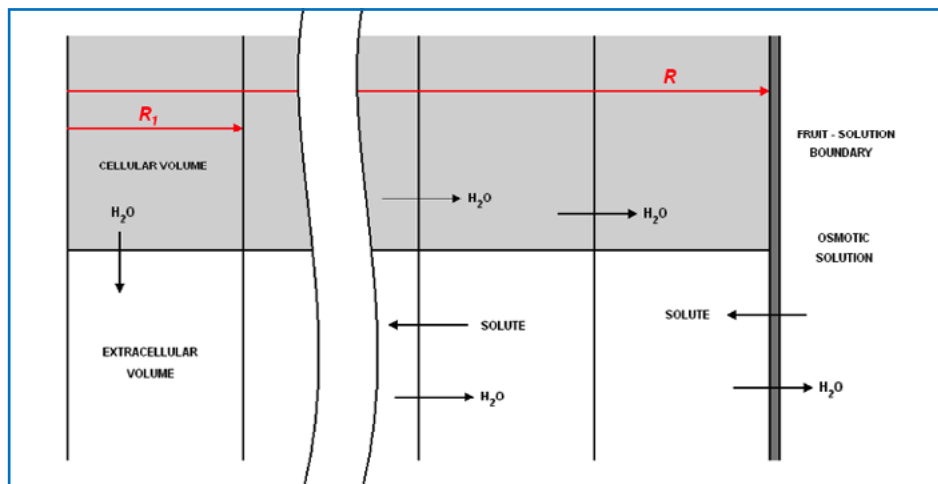


FIGURA 1

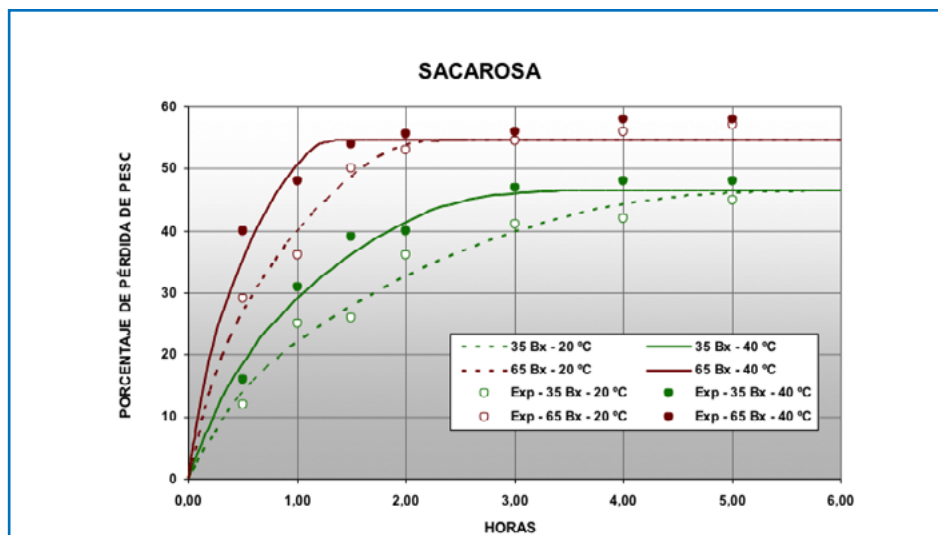


FIGURA 2

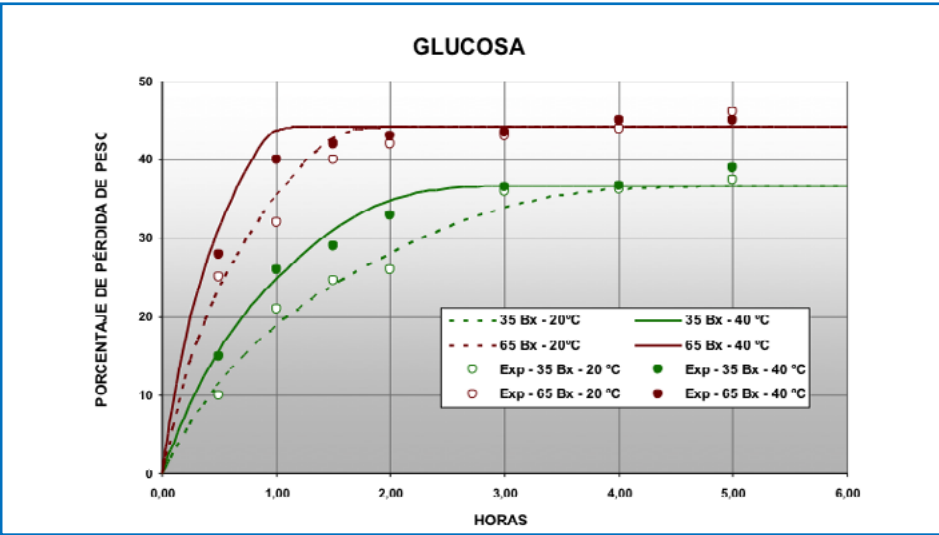


FIGURA 3

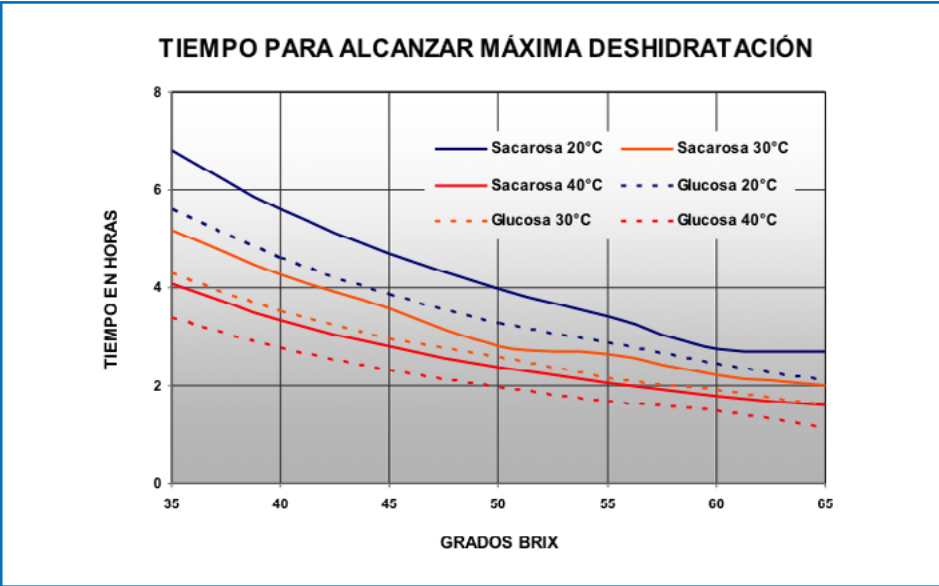


FIGURA 4

# EVALUACIÓN DE MATRICES POLIMÉRICAS PARA LA ELABORACIÓN DE RECUBRIMIENTOS ACTIVOS CON BACTERIOCINAS

Carolina Iburguren<sup>1,2</sup>, María Virginia Guitián<sup>1</sup>, Aníbal Marcelo Slavutsky<sup>1,3</sup>, Mónica Silvina Chávez<sup>4</sup>, María Alejandra Bertuzzi<sup>1,3</sup>, Marcela Carina Audisio<sup>1,3,5</sup>

## 1. RESUMEN

La utilización de recubrimientos biopoliméricos ha ganado interés debido a su biodegradabilidad y propiedades funcionales en el envasado y conservación de alimentos; constituyendo una alternativa al uso de plásticos. Las películas se elaboran a partir de biopolímeros que forman una matriz continua, que a su vez puede actuar como soporte de otras sustancias (antimicrobianos, antioxidantes, etc.), convirtiéndose en “películas activas”. La biodisponibilidad del agente soportado en la película claramente dependerá de su interacción con la matriz. El objetivo de este trabajo fue evaluar distintas matrices poliméricas de grado alimenticio como soportes de bacteriocinas con actividad anti-*Listeria monocytogenes*. El propósito final es seleccionar el biopolímero que mejor se adapte a la aplicación de estos antimicrobianos como recubrimientos activos para quesos de cabra, como una alternativa al grave problema de listeriosis asociado a estos productos. Se prepararon películas a base de pectina (5 % p/v), alginato (2 % p/v), almidón (4 % p/v), agar (5 % p/v) y carboximetilcelulosa (CMC) (1 % p/v) con la incorporación de glicerol como plastificante (20 % p/p polímero). A cada solución formadora de película se agregó una solución de

---

CONTACTO: Carolina Iburguren [cibar@unsa.edu.ar](mailto:cibar@unsa.edu.ar)

1. Instituto de Investigaciones para la Industria Química, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Universidad Nacional de Salta, Argentina.
2. Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Salta, Argentina.
3. Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Salta, Argentina.
4. Estación Experimental Agropecuaria Salta, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Argentina.
5. Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de Salta, Argentina.

bacteriocinas de *Enterococcus avium* DSMZ17511 (800 UA/mL) (Concentración final=63 UA/cm<sup>2</sup>). Además, se prepararon películas control sin agregado de bacteriocinas. La actividad antimicrobiana de las películas se evaluó según la técnica de difusión en agar y contacto directo frente a *L. monocytogenes* 01/155. La técnica de difusión mostró halos de inhibición alrededor de las películas de pectina, alginato y agar; mientras que las películas de almidón y CMC, no tuvieron actividad. Además, se observó una disminución gradual de la viabilidad del patógeno luego de 24 h de contacto directo con películas activas de pectina, que inclusive fue mayor a la disminución en la viabilidad del patógeno en contacto con un volumen de solución de bacteriocinas “libre” equivalente a 63 UA/cm<sup>2</sup>. Así, pectina, alginato y agar resultarían soportes adecuados para la vehiculización de las bacteriocinas ensayadas en recubrimientos antimicrobianos activos, favoreciendo una liberación gradual respecto a la aplicación de las bacteriocinas no inmovilizadas.

## 2. INTRODUCCIÓN

*Listeria monocytogenes* es un patógeno oportunista que puede causar listeriosis, una enfermedad con índice de mortalidad elevado (McLauchlin, 2004). La principal vía de infección es generalmente la ingestión de alimentos contaminados (<10<sup>3</sup> ufc/mL) (FAO/OMS, 2004). Si bien existe una política de tolerancia cero a *L. monocytogenes*; las modificaciones recientes en la producción y procesamiento de alimentos, los cambios en los hábitos alimenticios de los consumidores (con tendencia a ingerir alimentos mínimamente procesados, listos para consumo (LPC), refrigerados o congelados) han afectado la incidencia de listeriosis en los últimos años (Luber, 2011). Además, este patógeno es capaz de vencer las barreras microbiológicas más comunes que se aplican durante la elaboración de alimentos (bajos valores de pH, temperaturas de refrigeración, desecación ( $a_w$  ca. 0,90)) lo que dificulta su control (Luber, 2011). Es por ello que el uso de bacteriocinas de bacterias lácticas constituye una de las alternativas naturales para la vigilancia de este patógeno.

Las bacteriocinas son péptidos extracelulares sintetizados por algunas bacterias que inhiben o detienen el crecimiento de especies relacionadas (Jack, 1995; Cleveland, 2001). Entre las bacteriocinas sintetizadas por bacterias lácticas, consideradas de carácter GRAS (Generally Recognized As Safe); las sintetizadas por cepas del género *Enterococcus*, denominadas enterocinas, son de particular interés debido a su

fuerte efecto listericida. Esta característica potencia su aplicación como biopreservantes naturales y seguros en la industria alimenticia (Deegan, 2006; Gálvez, 2007).

Las películas comestibles son capas finas de material autosoportadas o directamente aplicadas sobre la superficie de un alimento, que actúan como barreras, mejorando y prolongando su calidad y vida útil. Se forman preferentemente a partir de sustancias de origen natural (polisacáridos, proteínas, poliésteres, lípidos) que actúan como matrices continuas, que además pueden actuar como soportes de sustancias como antimicrobianos, antioxidantes, colorantes, saborizantes, etc., convirtiéndose en “películas activas” (Cagri, 2004). Sumado a la biodegradabilidad de sus componentes, entre sus beneficios se encuentran la retención superficial de los agentes activos, su difusión controlada hacia el interior del alimento, el mantenimiento de una alta concentración del aditivo en donde hace falta y la posibilidad de actuar conjuntamente con otros métodos de conservación (refrigeración, atmósfera controlada, etc.). La biodisponibilidad del agente soportado claramente dependerá de su interacción con la matriz (Realini, 2014).

Finalmente, diversas investigaciones han demostrado que *L. monocytogenes* capaz de sobrevivir durante la elaboración, maduración, fermentación y almacenamiento de diversos productos lácteos (Bhatti, 2009). Entre los microorganismos patógenos que preocupan particularmente a los fabricantes de queso, *L. monocytogenes* representa el de riesgo más alto (Cao-Hoang, 2010). En el caso de la elaboración artesanal de quesos de cabra, el peligro aumenta, ya que en algunos casos se emplea leche no pasteurizada para lograr un mejor sabor en los quesos, debido a la acción lipolítica y proteolítica de la microbiota autóctona presente en la leche cruda (Oliszewski, 2007).

Teniendo en cuenta todo lo expuesto, es que se propone en este trabajo evaluar distintas matrices poliméricas de grado alimenticio como soportes de bacteriocinas con actividad anti-*Listeria monocytogenes*. El propósito final es seleccionar el biopolímero que mejor se adapte a la aplicación de estos antimicrobianos como recubrimientos activos para quesos de cabra, como una alternativa al grave problema de listeriosis asociado a estos productos.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

*Cepas bacterianas y condiciones de cultivo:* Se empleó como productora de enterocinasa la cepa *E. avium* DSMZ17511, aislada de pan de abeja (Audisio, 2005). Como



cepa indicadora se utilizó *Listeria monocytogenes* 01/155 (MCA, INIQUI-CONICET, Salta, Argentina). Los cultivos fueron activados por repiques sucesivos en caldo infusión-cerebro corazón (BHI, Britania, Argentina) e incubados a 37 °C durante 16-20 h. Cuando se requirió el empleo de medios agarizados, se adicionó 1,5 % p/v de agar (Britania) a los medios de cultivo. Todas las cepas fueron mantenidas a -20 °C en caldo BHI con el agregado de 10 % v/v de glicerol.

*Obtención de la solución de enterocinas:* Se recuperó el sobrenadante libre de células (SLC) de un cultivo de 16 h (37 °C) de la bacteria láctica en caldo BHI. Las células fueron removidas por centrifugación (20 min, 8500g, 10 °C) y filtración (0,22 µm). El SLC resultante fue considerado la solución madre de enterocinas (SE) y se utilizó para llevar a cabo los experimentos que se describen más adelante. El título de la SE se determinó por el método de las diluciones seriadas con *L. monocytogenes* 01/155 como cepa indicadora. Alícuotas de 20 µL de cada dilución fueron sembradas en pocitos de 5 mm de diámetro hechos en una placa de BHI agar inoculada con 100 µL de un cultivo activo de la cepa sensible. La placa se incubó a 25 °C durante 20 h. El título de la solución en UA/mL queda definido por el recíproco de la mayor dilución que aún inhibe el desarrollo de la cepa sensible (Daba, 1991). El título final de la SE fue de 800 UA/mL.

*Elaboración y caracterización de las películas:* Las películas se prepararon disolviendo pectina (5 % p/v), alginato (2 % p/v), almidón (4 % p/v), agar (5 % p/v) y carboximetilcelulosa (CMC) (1 % p/v) en agua caliente con la incorporación de glicerol como plastificante en un 20 % p/p respecto del polímero. A cada solución formadora de película se agregó una SE de *E. avium* DSMZ17511 (800 UA/mL) hasta una concentración final de 63 UA/cm<sup>2</sup> de película. Se usaron como control películas de cada matriz elaboradas con solvente puro (agua). Una vez secas, las películas se caracterizaron funcionalmente en cuanto a su espesor, permeabilidad al vapor de agua, y propiedades mecánicas. El espesor de las películas se midió empleando un espesímetro con una precisión de 1 µm (Diggimer, Argentina). La permeabilidad al vapor de agua se determinó mediante la técnica ASTM E-96 a través de mediciones continuas de la pérdida de peso, empleando una balanza de precisión conectada a una computadora, en un rango de humedad de 0 a 100 %. La permeabilidad se corrigió de acuerdo a la metodología propuesta por Gennadios (1994). Las propiedades mecánicas se determinaron siguiendo la norma ASTM D882 utilizando un equipo Brookfield Texture Analysis (USA). Las muestras fue-

ron almacenadas durante 48h en un desecador con una humedad relativa del 53 %, previo a cada análisis. Cada muestra se ensayo por triplicado.

*Actividad antimicrobiana de las enterocinas soportadas:* La actividad inhibitoria de los antimicrobianos soportados en las películas se evaluó según dos métodos:

*Difusión en agar (Cualitativo):* Se usó una adaptación de la técnica de difusión en agar (Ibarguren, 2010). Fragmentos de 1 cm<sup>2</sup> de cada película (activas y controles sin SE), se esterilizaron bajo luz UV y se colocaron sobre un césped de *L. monocytogenes* 01/155 en agar BHI. Luego de 24 h incubación a 37 °C se determinó la presencia de halos de inhibición.

*Contacto directo en microplaca (Cuantitativo):* Se emplearon microplacas estériles de cultivos celulares de 12 pocillos (BD Falcon™). En cada pocillo, se colocaron fragmentos de 1cm<sup>2</sup> de las películas, previamente esterilizadas bajo luz UV, en contacto con suspensiones de ca. 10<sup>6</sup>ufc/mL de la cepa indicadora en agua peptona. Se siguió la viabilidad del patógeno durante 24 h de contacto (0, 2, 4, 6 y 24 h) por recuento en placa usando agar BHI. Las placas se incubaron a 37 °C durante 24 h. Como controles del crecimiento del patógeno, se utilizó una suspensión de la cepa indicadora en agua peptona y en contacto con películas elaboradas sin adición de bacteriocinas. Además, se determinó la viabilidad de la misma suspensión del patógeno en contacto con una concentración de SE equivalente a la cantidad soportada en el fragmento de 1 cm<sup>2</sup> (ca. 63 UA/m<sup>2</sup>), para comparar la acción del antimicrobiano inmovilizado y “libre”.

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se obtuvieron películas a base de diferentes matrices poliméricas de grado comestible: pectina, almidón, agar, alginato y carboximetilcelulosa (CMC); adicionadas con enterocinas, sintetizadas por *E. avium* DSMZ17511, con actividad anti-*Listeria monocytogenes*. La intención fue seleccionar el polímero más adecuado para ser aplicado como soporte de estos antimicrobianos en películas activas en quesos de cabra de elaboración artesanal, como una alternativa natural al grave problema de listeriosis asociado a estos productos.

En la Tabla 1 se presenta los resultados de los ensayos de caracterización de las películas, con y sin el agregado de enterocinas. Los resultados indican que en las concentraciones utilizadas, los aditivos no producen modificaciones en la estruc-

tura de la matriz que permitan alterar su comportamiento funcional, situación que favorece su posible aplicación. Se observa que las películas obtenidas, poseen espesores similares, lo que indica que las propiedades obtenidas, dependen exclusivamente de las características del polímero que se utilizó en su formulación. Los análisis de permeabilidad, muestran que las películas que presentaron menor permeabilidad al vapor de agua, fueron las formuladas a partir de CMC y las que presentaron mayor permeabilidad, fueron las películas de almidón, mientras que en las muestras restantes, los resultados no presentaron diferencias estadísticamente significativas. Las propiedades mecánicas de los films, mostraron dependencia con el contenido de humedad de las muestras y de las características del polímero empleado. Como se observa, hubo una mayor variabilidad en los resultados observados, obteniéndose un mayor % de elongación en las películas de almidón, mientras que el mayor esfuerzo de ruptura, se obtuvo en los films de alginato. Los resultados indican que dependiendo del tipo de polímero empleado, se pueden obtener películas con características funcionales diferentes, con permeabilidades que varían entre  $3$  y  $10 \times 10^{-11}$  g/m.s.Pa, y propiedades mecánicas con un amplio rango de valores, lo cual favorece sus posibles aplicaciones en un mayor espectro de alimentos con diferentes requerimientos para su embalaje o recubrimiento.

En cuanto a la actividad antimicrobiana de las enterocinas soportadas en las distintas matrices, los resultados de la técnica de difusión pueden verse en la Figura 1. Se observan halos de inhibición definidos alrededor de las películas activas de pectina, alginato y agar; mientras que el crecimiento de *L. monocytogenes* se vio menos afectado cuando creció en contacto con las películas de almidón. Las películas de CMC, por su parte, no mostraron actividad inhibitoria frente al patógeno. Este primer ensayo cualitativo evidencia las diferentes interacciones entre la matriz y las enterocinas soportadas.

Con el fin de estudiar cuantitativamente este efecto, se evaluó el contacto directo entre el patógeno y las películas activas en un medio líquido (Figura 2).

El mejor efecto inhibitorio se observó para las enterocinas soportadas en la matriz de pectina, con una disminución gradual de la viabilidad del patógeno que alcanzó una diferencia de 5 unidades logarítmicas con respecto al crecimiento del control luego de 24 h de contacto (Figura 2A). Esta inhibición inclusive fue mayor a la disminución en la viabilidad del patógeno en contacto con un volumen de SE "libre" equivalente a  $63 \text{ UA/cm}^2$  (Figura 2A). Las películas de alginato y agar mos-

traron una inhibición inicial del patógeno, pero ésta fue disminuyendo y luego de 24 h de contacto el efecto inhibitorio fue similar o menor al de las enterocinas libres (Figura 2B y 2C). Así, cuando el patógeno creció en presencia de películas activas de alginato, la disminución en la viabilidad alcanzó un mínimo de *ca.* 5,5 log ufc/mL a las 4 h, que luego de 24 h incrementó a *ca.* 7 log ufc/mL, con una diferencia de un orden respecto a la viabilidad de los controles de crecimiento del patógeno (*ca.* 8 log ufc/mL) (Figura 2B). Las películas activas de agar, en cambio, inhibieron durante las primeras 4 h a *L. monocytogenes* 01/155 con una diferencia de un orden logarítmico entre la viabilidad de las células en contacto con las película activas y los controles; pero esta inhibición no se mantuvo luego de 24 h (Figura 2C). Por su parte, las enterocinas inmovilizadas en las matrices de almidón y CMC no mostraron efecto inhibitorio, con un perfil de crecimiento del patógeno similar a los controles en agua peptona o las películas elaboradas sin agregado de SE (Figura 2D y 2E).

## 5. CONCLUSIONES

Pectina resultaría un soporte adecuado para la vehiculización de las enterocinas de *E. avium* DSMZ17511 en recubrimientos antimicrobianos activos ya que favorecería una liberación gradual respecto a la aplicación de las bacteriocinas no inmovilizadas. Por su parte, alginato y agar muestran una actividad antimicrobiana más pobre de las enterocinas soportadas, de manera que habría que optimizar la composición de las películas a fin de controlar la liberación de las mismas. Finalmente, almidón y CMC no resultaron soportes adecuados para la inmovilización de las enterocinas ensayadas.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

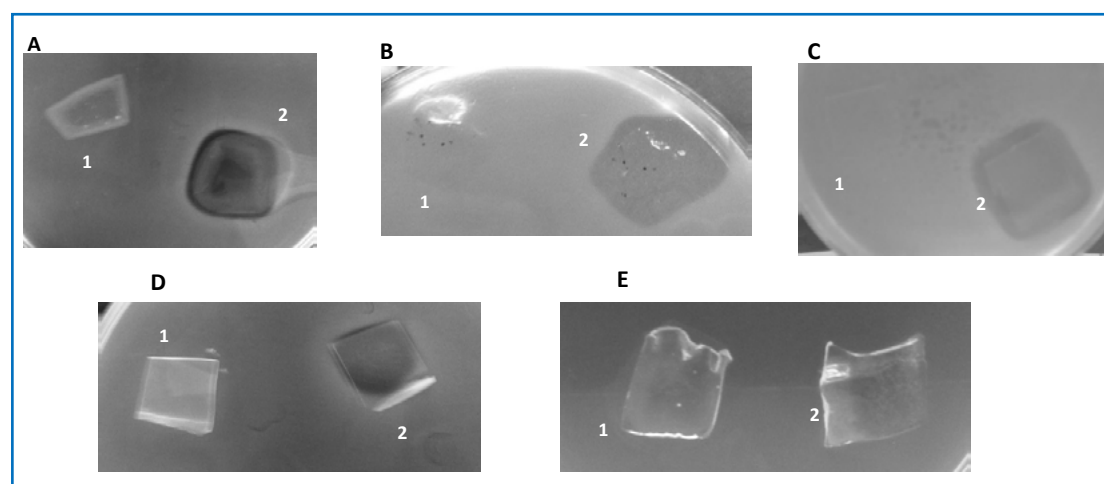
- AUDISIO, M.C., Terzolo, H.R., Apella, M.C. (2005). Bacteriocin from honeybee beebread *Enterococcus avium*, active against *Listeria monocytogenes*. *Applied Environmental Microbiology*, 71, 3373-3375.
- BHATTI, M., Veeramachaneni, A., Shelef, L.A. (2004). Factors affecting the antilisterial effects of nisin in milk. *International Journal of Food Microbiology*, 97, 215-219.
- CAGRI, A., Ustunol, Z., y Ryser, E.T. (2004). Antimicrobial edible films and coatings. *Journal of Food Protection*, 67(4), 833-848.

- CAO-HOANG, L., Chaine, A., Grégoire, L., Waché, Y. (2010). Potential of nisin-incorporated sodium caseinate films to control *Listeria* in artificially contaminated cheese. *Food Microbiology*, 27, 940-944.
- CLEVELAND, J., Montville, T.J., Nes, I.F., Chikindas, M.L. (2001). Bacteriocins: safe, natural antimicrobials for food preservation. *International Journal of Food Microbiology*, 71, 1-20.
- DEEGAN, L.H., Cotter, P.D., Hill, C., Ross, P. (2006). Bacteriocins: Biological tools for bio-preservation and shelf-life extension. *International Dairy Journal*, 16, 1058-1071.
- FAO/OMS.(2004). Evaluación de riesgos de *Listeria monocytogenes* en alimentos listos para el consumo, ISBN 92-5-305126-4, Roma, Italia.
- GÁLVEZ, A., Abriouel, H., López, R.L., Omar, N.B.(2007). Bacteriocin-based strategies for food biopreservation. *International Journal of Food Microbiology*, 120, 51-70.
- GENNADIOS, A., Weller, C. L., Gooding, C. H. (1994). Measurement errors in water vapor permeability of highly permeable, hydrophilic edible films. *Journal of Food Engineering*, 21(4): 395-409.
- IBARGUREN, C., Vivas, L., Bertuzzi, M.A., Apella, M.C., Audisio, M.C. (2010). Edible films with anti-*Listeria monocytogenes* activity. *International Journal of Food Science and Technology*, 45 (7), 1443-1449.
- JACK, R.W., Tagg, J.R., Ray, B.(1995). Bacteriocins of Gram-positive bacteria. *Microbiological Reviews*, 59, 171-200.
- LUBER P, S Crerar, C Dufour, J Farber, A Datta, ECD Todd. Controlling *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods: Working towards global scientific consensus and harmonization- Recommendations for improved prevention and control. *Food Control*, 2011, 22: 1535-1549
- MCLAUCHLIN, J., Mitchell, R.T, Smerdon, W.J., Jewell, K. (2004). *Listeria monocytogenes* and listeriosis: a review of hazard characterization for use in microbiological risk assessment of foods. *International Journal of Food Science and Technology*, 92, 15-33.
- OLISZEWSKI, R., Cisint, J.C., Núñez de Kairúz, M.(2007). Manufacturing characteristics and shelf life of Quesillo, an Argentinean traditional cheese. *Food Control*, 18(6), 736-741.
- REALINI, C.E., Begonya, M.(2014). Active and Intelligent Packaging Systems for a Modern Society. *Meat Science*, doi: 10.1016/j.meatsci.2014.06.031.

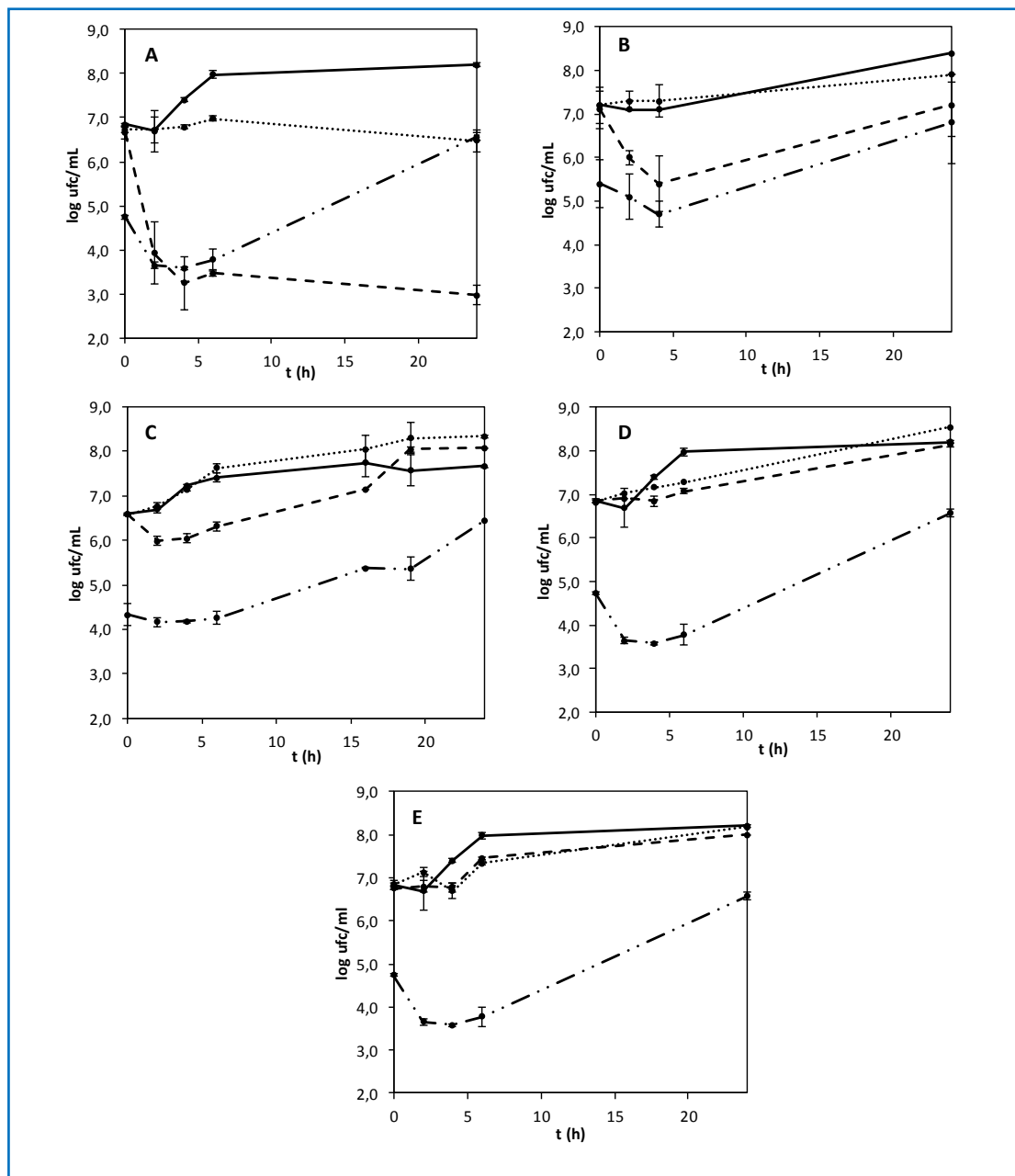
## 7. TABLAS Y FIGURAS

**TABLA 1.** Permeabilidad al vapor de agua y propiedades mecánicas de las películas formuladas con diferentes polímeros, con y sin la incorporación de enterocinas

|                           | Espesor (μm) | Permeabilidad al vapor de agua (10 <sup>-11</sup> .g/m.s.Pa) | PROPIEDADES MECÁNICAS     |              |
|---------------------------|--------------|--|---------------------------|--------------|
|                           |              |  | Esfuerzo de Ruptura (Mpa) | % Elongación |
| PELÍCULAS CONTROL         |              |  |                           |              |
| Pectina                   | 42           | 7,05   | 10,72                     | 12,88        |
| Alginato                  | 49           | 8,40   | 35,03                     | 8,60         |
| Agar                      | 47           | 5,90   | 11,98                     | 3,46         |
| CMC                       | 40           | 3,17   | 6,21                      | 12,17        |
| Almidón                   | 44           | 9,90   | 2,81                      | 44,91        |
| PELÍCULAS CON ENTEROCINAS |              |  |                           |              |
| Pectina                   | 43           | 7,11   | 10,32                     | 13,98        |
| Alginato                  | 50           | 7,96   | 36,57                     | 7,96         |
| Agar                      | 44           | 6,03   | 12,01                     | 3,06         |
| CMC                       | 39           | 3,27   | 6,81                      | 11,77        |
| Almidón                   | 48           | 9,80   | 2,71                      | 45,91        |



**FIGURA 1.** Efecto sobre *Listeria monocytogenes* 01/155 de las enterocinas sintetizadas por *Enterococcus avium* DSMZ17511 (2) soportadas en películas de A) pectina, B) alginato, C) agar, D) almidón y E) carboximetilcelulosa, según la técnica de difusión en agar. (1) Control de películas elaboradas sin agregado de enterocinas



**FIGURA 2.** Viabilidad de *L. monocytogenes* 01/155 en contacto con películas de (A) pectina, (B) alginato, (C) agar, (D) almidón y (E) carboximetilcelulosa elaboradas con agregado de bacteriocinas de *E. avium* DSMZ17511 (ca.63 UA/cm<sup>2</sup>) (---). Control de crecimiento del patógeno en contacto con películas elaboradas sin agregado de bacteriocinas (...), en agua peptona (líneas continuas) y con solución de bacteriocinas libre (equivalente a 63 UA/cm<sup>2</sup>) (dos puntos y barras) según el bioensayo de contacto directo

# ANTIOXIDANT CAPACITY AND TOTAL PHENOLIC CONTENT OF CHIA SEEDS (*SALVIA HISPÁNICA* L.) OBTAINED BY CONVENTIONAL SOLVENT EXTRACTION (METHANOL AND HEXANE) AND THEIR INFLUENCE DURING STORAGE

Edith Corona-Jiménez<sup>1</sup>, José Benedito Fort<sup>2</sup>, Irving Ruiz-López<sup>1</sup>,  
Héctor Ruiz-Espinoza<sup>1</sup>, José Carranza-Concha<sup>3</sup>

## 1. ABSTRACT

Chia seed (*Salvia hispanica* L.) has been described as a good source of bioactive components, which could contribute to the prevention of diseases caused by oxidative stress. The bioactive compounds yield is influenced by the extraction process. The seeking of the best combination process variables (type of solvent, level of agitation or storage time) that improve the extraction is of interest. In this study, the feasibility of using two different solvents (methanol and hexane) to improve the phenolic extraction from Chia was evaluated, as well as the influence of the storage. For that purpose, conventional solid-liquid maceration was carried out using 30 g of sample mixing with 50 mL of methanol or hexane. The samples were centrifuged during 10 minutes and 4000 rpm at 4 °C, then, the total phenolic content (TPC) was determined by the Folin-Ciocalteu method and the antioxidant capacity (AC) was determined through the Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay. Finally, experiments were conducted to assess the influence of time storage (0, 4, 7, 14 and 21 days at 0 °C) on the extraction and to evaluate the viability of using the two different solvents. The TPC was significantly ( $p < 0.05$ ) greater in metha-

---

CONTACTO: Edith Corona-Jiménez [ecoronaj@hotmail.com](mailto:ecoronaj@hotmail.com)

1. Facultad de Ingeniería Química, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Av. San Claudio y 18 Sur S/N, Col. San Manuel, Puebla, Puebla. C. P. 72570, México.

2. Universidad Autónoma de Zacatecas, Programa Académico de Nutrición, Carretera Zacatecas-Guadalajara Km. 6, Ejido "La Escondida", Zacatecas, Zacatecas. C.P. 98160, México.

3. Grupo de Análisis y Simulación de Procesos Agroalimentarios, Departamento Tecnología de Alimentos, Universidad Politécnica de Valencia, 46022, Valencia, Spain.



nol than in hexane samples ( $43.78 \pm 3.21$  and  $12.47 \pm 0.09$  mg gallic acid/100g of Chia, respectively). For the AC of the samples, a significant ( $p < 0.05$ ) difference was observed. Thus, methanol samples showed an average of 9.89 mg Trolox/100g of Chia, while the hexane samples were 0.94 mg Trolox/100 g of Chia. Lastly, the influence of storage time was significant ( $p < 0.05$ ) on samples with hexane, thus, the longer the storage time, the higher the antioxidant capacity. However, no significant differences were observed in methanol samples, which could be explained by the fact that methanol carried out the total extraction from the first day. Therefore, the methanol solvent polarity showed an increase on TPC and in the AC in comparison with the hexane, which could be related with the high octanol-water-partition-coefficient and therefore their high affinity with the bioactive components.

## 2. INTRODUCTION

Chia (*Salvia hispanica* L.) is an herbaceous plant that belongs to the Lamiaceae family, native from the southern of Mexico and northern of Guatemala. The Aztecs used the Chia seeds for medicine and food (Marinel et al., 2014). It has been demonstrated that Chia seed is rich source of oil, fiber and natural antioxidants, the main ones being the tocopherols, phytosterols, carotenoids, phenolic compounds, such as chlorogenic acid, caffeic acid, myricetin, quercetin and kaempferol (Capitani et al., 2012; Rocha Uribea et al., 2011; Vázquez-Ovando et al., 2009). The presence of these compounds promote beneficial effects in the nutrition of consumers and therefore, protect of many stress-related diseases, improving in this way the biological markers related to cardiovascular diseases, diabetes, among others (Vuksan et al., 2010).

Antioxidants are compounds that delay the oxidation process by inhibiting the initiation or propagation of oxidizing chain reactions, preventing and treating many oxidative stress-related diseases. Nowadays, there is a considerable interest in determining total phenolic contents and antioxidant capacities of medicinal plants, by-products of fruits and/or vegetables and seeds. Thus, for the extraction of these bioactive components, several methods have been utilized, such as the enzymatic extraction, extraction with supercritical fluids, microwave-assisted and solvent extraction. In all cases the search of adequate process variables for increase the yield and enhance the quality of the extracted product is increasing. Particularity, for the conventional extraction with solvents, the extraction rate is improved by choosing the best combination of process

variables, such as the level of agitation, time of maceration, temperature and type of solvents (Rodríguez-Bernaldo de Quirós, Lage-Yusty, & López-Hernández, 2010). Several works had used different solvents to obtain the oil content of Chia, as well as, to extract their phenolic content of the non-oil fraction. In the first case, petroleum ether and methanol was used to obtain the oil fraction which has high concentrations of polyunsaturated fatty acids (PUFA) (Taga, Miller, & Pratt, 1984), also, industrial grade CO<sub>2</sub> was used in the extraction of oil from Chia seeds with supercritical method (Rocha Uribe *et al.*, 2011; Ixtaina *et al.*, 2009) and a solvent extraction of oil fraction was performed with n-hexane in a Soxhlet apparatus with a thermal cycles, while for the non-oil fraction, different authors performed the extraction with hydrochloric acid in ethanol and using only ethanol (Reyes-Caudillo, Tecante & Valdivia-López, 2008; Marineli *et al.*, 2014). Usually, the characterization of the total phenolic content is carried out by the separate study of the oil and non-oil fraction. Moreover, there is a little information about Chia seed extraction of total phenolic compounds comparing the use of different solvents using only one extraction method. Thus, the aim of this work was to address the solvent extraction of bioactive compounds from Chia seeds by evaluating the influence of the use of two different solvents (Methanol and Hexane) on the extraction kinetics and the influence of the storage.

### **3. MATERIALS AND METHODS**

#### **RAW MATERIAL**

Chia seeds (*Salvia hispanica* L.) (1 Kg) were obtained from a local market in Zacatecas, Mexico. The sample was manually cleaned, homogenized and packed in hermetic plastic bags and stored at room temperature (25 °C) under darkness to avoid possible oxidation of compounds, until further use.

#### **REAGENTS AND STANDARDS**

As extraction solvents, Methanol and Hexane were used. As reagents in this study were used Folin–Ciocalteu reagent (2N), 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS), 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid (Trolox), gallic acid, Potassium persulphate, sodium carbonate were purchased from Reyma-Merck. All chemicals used in the experiments were of analytical grade, and deionized water was used.

## CONVENTIONAL EXTRACTION

The conventional solid-liquid maceration was carried out using 30 g of Chia seeds, mixed with the solvents (50 mL), thus, the first batch was obtained using methanol and second one with hexane. Three macerations were carried out per batch. The samples were homogenized and milled (15 min) with an Ultraturrax (Utc 280/KT, Ika-Werke,Staufen, Germany). Then, samples were centrifuged during 10 minutes and 4000 rpm at 4 °C. On the other hand, other two batches (Batch 1 and 2 with Methanol and Hexane, respectively) were carried out as previously was described, but in this case, samples were stored (0 °C) at different times (0, 4, 14 and 21 days) with the minimal presence of light to avoid possible degradation of the bioactive compounds.

## DETERMINATION OF TOTAL PHENOLIC COMPOUNDS (TPC)

Total phenolic content was analyzed using the Folin–Ciocalteu method described by Sekhon-Loodu *et al.*, (2013), with some modifications. Briefly, 250 µL of sample was mixed with 15 mL deionized water and 1.25 mL of Folin–Ciocalteu phenol reagent. After 5min, 3.75 mL of Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (7.5 %) and 10 mL of deionized water were added to the mixture. Absorbance was measured at 765 nm in spectrophotometer (Spectrostar Omega, BMG Labtech, Offenburg, Germany). The response variable was the amount of total phenolic compounds in the extracts which was expressed as mg gallic acid equivalents (GAE)/g of plant material using a regression equation and a gallic acid calibration curve. Three replicates were carried out for each extract.

## ABTS\* SCAVENGING ABILITY

The ABTS\* scavenging ability was determined according to the method described by Fu *et al.*, (2011). The ABTS\* was generated by reacting an (7 mmol/l) ABTS aqueous solution with K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> (2.45 mmol/l, final concentration) in the dark for 16 h and adjusting the Abs734 nm (Spectrostar Omega, BMG Labtech, Offenburg, Germany) to 0.700 with ethanol. Then, 100 µL of appropriate dilution of the extract was added to 900 µL ABTS\* solution and the absorbance were measured at 734 nm. The Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) was subsequently calculated. The results were expressed as mg Trolox/g sample. At least 3 replicates were made for each extract.

#### 4. RESULTS AND DISCUSSION

The results (Table 1) showed that the significant ( $p < 0.05$ ) highest values of TPC were obtained for samples with methanol than in hexane ( $43.78 \pm 3.21$  and  $12.48 \pm 0.09$  mg gallic acid/100g of Chia, respectively), which corresponded to an increment of 71.49%. This fact could be related with the affinity of the polarity of methanol with those phenolic compounds. González-Jiménez *et al.* (2010), mentioned that the content of total phenols in the Chia seed are of hydrophilic nature and the methanol solvent have a high octanol-water-partition-coefficient, which may made that exist an interaction and a high affinity between these hydrophilic compounds and methanol, which correspond with the results obtained in this work. In the literature, similar behavior happened in samples obtained with ethanol which are more affinity with water when is compare with methanol. TPC of Chia extracted with this solvent, presented values of 88.00 mg per 100g of Chia from Mexico (Reyes-Caudillo *et al.*, 2008), while the Chilean Chia had a mean of 94 mg per 100g of sample (Marineli *et al.*, 2014). On the other hand, hexane solvent, have a more affinity with lipid compounds for their low octanol-water-partition-coefficient, therefore, the values obtained with hexane could be corresponded with that phenolic compounds presents in the oil-fractions of Chia, which are in low level in the Chia composition (Marineli *et al.*, 2014) when the oil and non-oil fractions are compared.

For the AC of samples, a significant ( $p < 0.05$ ) difference was observed (Table 1). Thus, methanol samples showed an average of  $9.90 \pm 0.21$  mg Trolox/100g of Chia, while the hexane samples were  $0.94 \pm 0.67$  mg Trolox/100 g of Chia (increment of 90.51%). The high AC obtained with methanol is related with the high content of phenolic compounds. However, for the AC with hexane, may a high oil-fraction of Chia, rich on polyunsaturated fatty acids (PUFA) is extracted and in spite of the presence of antioxidant compounds, the high of PUFAs makes a Chia seed oil very instable (González Jiménez *et al.*, 2010), obtained the lowest values of AC. These results are in agreement with those obtained by González Jiménez *et al.* (2010), who reported that the oil fractions of Chia showed a minor antioxidant capacity, which can be related to the low content of total phenols and the high PUFAs content.

Finally, the influence of the storage on the TPC is shown in Figure 1A. As can be observed, samples extracted with methanol showed a significant ( $p < 0.05$ ) highest contents that samples with hexane, however, there are not exist an influence

( $p < 0.05$ ) of the storage in the phenolic content. Whereas in the results observed in AC, the longer the storage, the higher ( $p < 0.05$ ) the AC in samples with hexane (Figure 1B). This effect was mainly due to the presence of the polyphenolic compounds and lipophilic compounds, such as tocopherols, polyphenols, carotenoids and phospholipids already found in Chia seed oils (Marineli *et al.*, 2014), that increase their antioxidant activity with the time, in spite of containing fewer totalphenols than the non-oil fractions.

## 5. CONCLUSIONS

The methanol solvent polarity showed an increase on TPC and in the AC in comparison with the hexane in shorted times of storage, which could be related with the high octanol-water-partition-coefficient and therefore their high affinity with the bioactive components. Therefore, methanol could be the adequate solvent used in the lowest antioxidant extraction process when is compared with the hexane solvent.

## ACKNOWLEDGEMENTS

The authors acknowledge financial support from the “Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT)” in Mexico (Project207279 and 580569).

## 6. REFERENCES

- CAPITANI, M. I., Spotorno, V., Nolasco, S. M., Tomás, M. C. (2012). Physicochemical and functional characterization of by-products from Chia (*Salvia hispanica L.*) seeds of Argentina. *LWT-Food Science and Technology*, 45, 94-102.
- FU, L., Xu, B. T., Xu, X. R., Gan, R. Y., Zhang, Y., Xia, E. Q., Li, H. B. (2011). Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. *Food Chemistry*, 129, 345-350.
- GONZÁLEZ JIMÉNEZ, F. E., Beltrán-Orozco, M. C., Vargas, M. G. (2010). The antioxidant capacity and phenolic content of Chía's (*Salvia hispánica L.*). Integral seed and oil. *Journal of Biotechnology*, 150, 315.
- IXTAINA, V. Y., Vega, A., Nolasco, S. M., Tomas, M. C., Gimeno, M., Barzana, E., Tecante, A. (2009). Supercritical carbon dioxide extraction of oil from Mexican Chia seed (*Salvia hispanica L.*): characterization and process optimization. *Journal of Supercritical Fluids*, 55, 192-199.

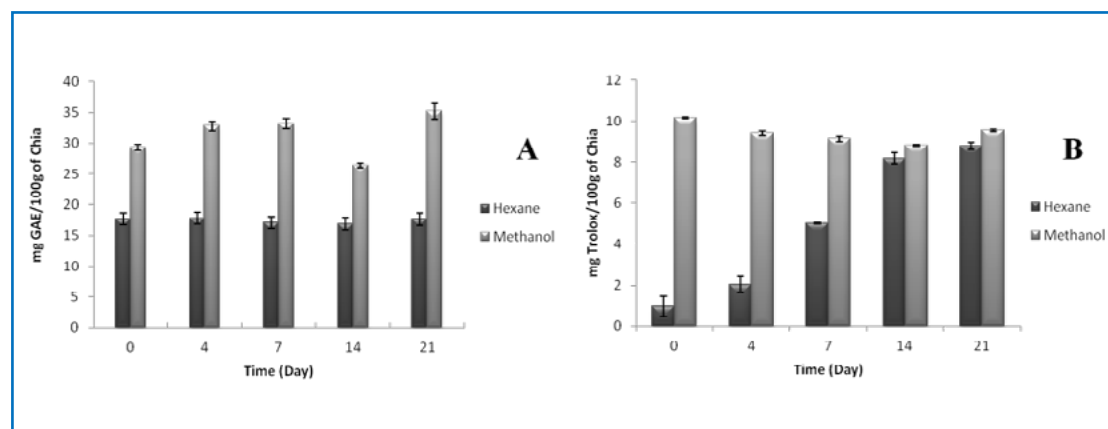
- MARINELLI, R. S., Aguiar Moraes, É., Alves Lenquiste, S., Teixeira Godoy, A., Nogueira Eberlin, M., Maróstica Jr, M. R. (2014). Chemical characterization and antioxidant potential of Chilean chia seeds and oil (*Salvia hispanica L.*). *LWT - Food Science and Technology*, 59, 1304-1310.
- REYES-CAUDILLO, E., Tecante, A., Valdivia-López, M. A. (2008). Dietary fibre content and antioxidant activity of phenolic compounds present in Mexican chia (*Salvia hispanica L.*) seeds. *Food Chemistry*, 107, 656-663.
- ROCHA URIBE, J. A., Novelo Perez, J. I., Castillo Kauil, H., Rosado Rubio, G., Alcocer, C. G. (2011). Extraction of oil from Chia seeds with supercritical CO<sub>2</sub>. *The Journal of Supercritical Fluids*, 56, 174-178.
- RODRÍGUEZ-BERNALDO de Quirós, A., Lage-Yusty, M. A., López-Hernández, J. (2010). Determination of phenolic compounds in macroalgae for human consumption. *Food Chemistry*, 121, 634-638.
- SEKHON-LOODU, S., Warnakulasuriya, S. N., Rupasinghe, H. P. y Shahidi, F. (2013). Antioxidant ability of fractionated apple peel phenolics to inhibit fish oil oxidation. *Food chemistry*, 140, 189-196.
- TAGA, M. S., Miller, E. E., Pratt, D. E. (1984). Chia Seeds as a Source of Natural Lipid Antioxidants. *Journal of the American Oil Chemist Society*, 61, 928-931.
- VÁZQUEZ-OVANDO, A., Rosado-Rubio, G., Chel-Guerrero L., Betancur-Ancona, D. (2009). Physicochemical properties of a fibrous fraction from Chia (*Salvia hispanica L.*). *LWT - Food Science and Technology*, 42, 168-173.
- VUKSAN, V., Jenkins, A. L., Dias, A. G., Lee, A. S., Jovanovski, E., Rogovik, A. L., et al. (2010). Reduction in postprandial glucose excursion and prolongation of satiety: possible explanation of the long-term effects of whole grain Salba (*Salvia Hispanica L.*). *European Journal of Clinical Nutrition*, 64, 436-438.

## 7. TABLES AND FIGURES

**TABLE 1.** Increment of the TPC and AC of three macerations samples of Chia with two different solvents (methanol and hexane)

| MACERATIONS  | Total phenolic content (mg GAE/100g of sample) |            | Increment (%) | Antioxidant capacity (mg Trolox/100g of sample) |           | Increment (%) |
|--------------|--|------------|---------------|---|-----------|---------------|
|              | METHANOL                                       | HEXANE     |               | METHANOL  | HEXANE    |               |
| MACERATION 1 | 41.48±5.80                                     | 13.29±0.59 | 67.96         | 10.10±0.21                                      | 1.71±0.90 | 83.09         |
| MACERATION 2 | 44.02±0.90                                     | 12.06±0.43 | 72.61         | 9.93±0.20                                       | 0.53±0.15 | 94.67         |
| MACERATION 3 | 45.85±6.94                                     | 12.09±0.45 | 73.64         | 9.67±0.19                                       | 0.59±0.19 | 93.9          |
| MEAN BATCH   | 43.78±3.21                                     | 12.48±0.09 | 71.49         | 9.90±0.21                                       | 0.94±0.67 | 90.51         |

Data are means ± standard deviation (n = 3).



**FIGURE 1.** Influence of the storage on the average TPC (A) and AC (B) in samples of Chia.

Average±LSD (p<0.05)

# ULTRASONIC ASSISTED ANTIOXIDANT EXTRACTION FROM MEXICAN AVOCADO CREOLE (*PERSEA AMERICANA* VAR. *DRYMIFOLIA*) PEELS

Tania Martínez-Ramos<sup>1</sup>, José Carranza-Concha<sup>2</sup>, Irving Ruiz-López<sup>1</sup>, Héctor Ruiz-Espinoza<sup>1</sup>, Lorena Luna-Guevara<sup>1</sup>, Edith Corona-Jiménez<sup>1</sup>

## 1. ABSTRACT

Avocado Creole peels (*Persea americana* var. *drymifolia*) present high amount of phenolic compounds with antioxidant properties. The extraction of these compounds may be considered a way to increase in value of the fruit and the agro-food by-products. Ultrasound is widely applied in extraction due to its effects (cavitation, microstirring or sponge effect) over the process. The goal of this work was provide information on the influence of ultrasound (US) on the antioxidant extraction of avocado creole peels, in comparison with conventional extraction (CVE). For that purpose, the extraction of antioxidant compounds from avocado creole peels, previously dried at 35 °C, were carried out using an ethanolic solution (80 % v/v) at 25 °C. Extractions were carried out with US at different electric power (40 %, 60 %, 80 % and 100 %) while CVE was agitated with a stirrer (1000 rpm). Samples were obtained at different extraction times (5, 10 and 20 min) and their antioxidant capacity (AC) was measured using TEAC method and the total phenolic content (TPC) was determined by Folin-Ciocalteu method. The results showed that the electric power applied had a significant influence ( $p < 0.01$ ) on the extracts obtained after 5, 10 and 20 min of extraction, when it was above a certain threshold, which was 40 % electric power for TPC and AC. However, no influence of the ultrasound application was observed when a high power electric was applied (100 % electric

---

CONTACTO: Edith Corona-Jiménez [ecoronaj@hotmail.com](mailto:ecoronaj@hotmail.com)

1. Facultad de Ingeniería Química, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Av. San Claudio y 18 Sur S/N, Col. San Manuel, Puebla, Puebla. C. P. 72570, México.

2. Universidad Autónoma de Zacatecas, Programa Académico de Nutrición, Carretera Zacatecas-Guadalajara Km. 6, Ejido "La Escondida", Zacatecas, Zacatecas. C.P. 98160, México.



power), which could be related with the degradation of phenolic compounds to a high electric power. When the US technique was compared with conventional extraction, the ultrasound assisted extraction can be considered a more efficient procedure, because it showed an increase on TPC and AC with a significant difference ( $p < 0.01$ ) for all extraction times. Therefore, the use of ultrasounds at low electric power could be considered an interesting alternative to improve the extraction process of phenolic compounds from avocado creole.

## 2. INTRODUCTION

Mexico is the main producer and consumer of avocado around the world (*Persea americana*) (FAO, 2013). Therefore, this fruit is of great importance in Mexico from the economic and nutritional point of view. The avocado has valuable nutritious properties, one of its outstanding characteristics is the high lipid content (oleic, palmitic, linoleic, and palmitoleic acids) which varies from 3 to 30 % of its weight (Villa-Rodriguez *et al.*, 2011). Furthermore, avocado contains high levels of bioactive phytochemicals including vitamin E, carotenoids, and sterols, among others, which have shown to possess antioxidant and radical scavenging activities (Lee, Koo, & Min, 2004).

Epidemiological studies indicated that the frequent consumption of bioactive phytochemicals is associated with a lower risk of chronic diseases. Due to the potential health risks of some synthetic antioxidants (Ito *et al.*, 1986, Safer & Al-Nughamish, 1999), increasing attention is being paid to identify natural and possibly more economic and effective antioxidants. In recent studies, the antioxidant potency and the content of bioactive compounds were found to be high in the peel and seed of some fruits (Deng *et al.*, 2012). The use of natural antioxidants from peels avocado in food products could represent an interesting means of increasing the value of these by-products.

The conventional extraction methods of bioactive compounds from by-products have some limitations regarding the high solvent consumption, the long extraction time required, the improvement of yield and quality of the extracts. Actually, ultrasound-assisted extraction (UAE) is widely used for extracting plant compounds (Vilkhu *et al.*; 2008) in order to overcome these drawbacks. When solid-liquid extraction is assisted by ultrasounds the possible benefits of their application in

extraction are an intensification of mass transfer, improved solvent penetration into the plant tissue and capillary effects. All of these effects make an easier access of the solvent to the plant cell. The collapse of cavitation bubbles near the cell walls is expected to produce the cell disruption together with a good penetration of the solvent into the cells, through the ultrasonic jet (Toma *et al.*; 2001). The extraction rate may be improved by choosing the best combination of process variables, such as the type of solvent or level of agitation (Rodríguez-Bernaldo de Quirós, Lage-Yusty, & López-Hernández, 2010).

Thereby, the aim of this work was to compare the effects of the conventional extraction (solvent extraction) with ultrasound-assisted extraction of peels avocado on yield and content of bioactive compounds and, to evaluating the influence of some process parameters (electric amplitude) in the extract composition.

### **3. MATERIALS AND METHODS**

#### **PLANT MATERIAL**

Creole avocado fruit (*Persea americana* var. *Drymifolia*) was obtained from a local market in Puebla, Puebla, Mexico, during the month of March 2014. The peels were dried until constant weight, peels avocado were milled and sieved (0.8 mm particle size), fine powder was kept in a sealed plastic bag and stored at room temperature, under darkness to avoid possible oxidation of compounds.

#### **REAGENTS AND STANDARDS**

As extraction solvents, ethanol-water 80:20 (v/v) mixture was used. As reagents in this study were used Folin–Ciocalteu reagent (2N), 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS), 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid (Trolox), gallic acid, Potassium persulphate, sodium carbonate were purchased from Reyma-Merck. All chemicals used in the experiments were of analytical grade, and deionized water was used.

#### **CONVENTIONAL EXTRACTION**

The avocado peels flour was extracted with a mixed ethanol-water 80:20(v/v). Thus, 5 g of avocado peels flour were placed in a 200 mL beaker flask to which 100 mL of solvent was added. The mixture was stirred at 1000 rpm for different times

(5, 10 and 20 min) and filtered through Whatman No.1 filter paper. The extracts were stored at 4 °C until analysis.

#### **ULTRASOUND-ASSISTED EXTRACTION (US)**

For the ultrasound experiments an ultrasonic probe system (UP400S, Hielscher, Teltow, Germany) was used. The avocado peels flour (5 g) was mixed with 100 mL ethanol-water 80:20 (v/v) in glass flow cell for UP100H. The UP100H its contents were maintained at constant temperature (25 °C). The probe, submerged about 1 cm under the surface of the mixture, worked at 24 kHz. The experiments were carried out supplying different levels of electric power to the transducer (40, 60, 80 and 100% of the total power of the system, 400 W) using an emitter surface of 12.6 cm<sup>2</sup>, for 5, 10, and 20 min. After being extracted, the mixture was filtered under vacuum through Whatman No.1 paper and stored in opaque vials at 4 °C until analyzed.

#### **DETERMINATION OF TOTAL PHENOLIC COMPOUNDS (TPC)**

Total phenolic content was analyzed using the Folin–Ciocalteu method described by Sekhon-Loodu *et al.* (2013), with some modifications. Briefly, 250 µL of sample was mixed with 15 mL deionized water and 1.25 mL of Folin–Ciocalteu phenol reagent. After 5min, 3.75 mL of Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (7.5 %) and 10 mL of deionized water were added to the mixture. Absorbance was measured at 765 nm in aspectro- photometer (Spectrostar Omega, BMG Labtech, Offenburg, Germany). The response variable was the amount of total phenolic compounds in the extracts which was expressed as mg gallic acid equivalents (GAE)/g of dry matter using a regression equation and gallic acid calibration curve.

#### **ABTS\* SCAVENGING ABILITY**

The ABTS\* scavenging ability was determined according to the method described by Fu *et al.*, (2011). The ABTS\* was generated by reacting an (7 mmol/l) ABTS aqueous solution with K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> (2.45 mmol/l, final concentration) in the dark for 16 h and adjusting the Abs<sub>734 nm</sub> to 0.700 with ethanol. 100 µL of appropriate dilution of the extract was added to 900 µL ABTS\* solution and the absorbance were measured at 734 nm. The Trolox equivalent antioxidant capacity was subsequently calculated.

#### 4. RESULTS AND DISCUSSION

Different percentages of electric power, from 40 to 100 % of the total, were tested using an ultrasonic probe with a 3.8 cm<sup>2</sup> emitter. Thus, as is shown in Table 1, the effective ultrasonic power applied was in the range from 31.6 to 42.9 W.

From previous studies (Ahmad-Qasem *et al.*, 2013), the ultrasonic power applied was considered one of the important factors that can affect the efficiency of phenolic compounds extraction. The intensity reached in the ultrasonic field during the different tests was measured by means of calorimetry (Cárcel *et al.*, 2007). Thus, it was possible to assess the effective power transferred by the transducer into the medium (ethanol–water 80:20, v/v) and choose the proper combination of electric power supplied to the transducer and emitter surface.

From experimental results, it was observed that the greater the supply of electric power to the transducer, the more the ultrasonic power applied to the medium (Table 1). This relationship was linear ( $R^2 = 0.984$ ) for all tests.

##### OPTIMIZATION OF THE EXTRACTION PROCESS WITH ULTRASONIC ASSISTED

As can be observed, the less the electric power supplied, the higher the TPC (Figure 1A) and AC (Figure 1B) of the extract. Thereby, the best results were obtained supplying 40 % of the total electric power to the ultrasound transducer, which corresponded with the lower ultrasonic power applied ( $31.6 \pm 0.6$  W) to the medium (Table 1).

The statistical analysis confirmed that the electric power applied only had a significant influence ( $p < 0.01$ ) on the final extracts, those obtained after 15 min of extraction, when it was above a certain threshold, which was  $31.6 \pm 0.5$  W (40 % electric power) for TPC and AC. No influence ( $p < 0.01$ ) of the ultrasound application was observed when more power was applied, which correspond to  $42.9 \pm 0.7$  W (100 % electric power).

The results showed that with the electric power applied of 40 %, the extracts obtained after 15 min of sonication, increased 26.4 % content of TPC in comparison with those obtained after 5 min of treatment. The 60 % of electric power applied for 15 min, there was an increase of 41 % over 5 min of sonication. While for the 80 % and 100 % of electric energy applied there was a decrease of 8.48 % and 6.03 %, respectively. These results agree with the ones reported by Zhao, Kwok, & Liang

(2007), who also found that the ultrasound effect on mass transfer during the osmotic treatment of saikosaponins from *Radix Bupleuri* was only significant when the ultrasonic power applied was above 21 W, after 21 W, the curve for power effect on the yield of extraction became plain. A power too high would cause an increase in the bubble numbers in the solvent during cavitation, which might reduce the efficiency of the ultrasound energy transmitted into the medium (Filgueiras, Capelo, Lavilla, & Bendicho, 2000).

On the one hand, in the results obtained of AC, it was observed that for the longer the time, the higher the AC for the electric power at 40, 60 and 80 %, obtaining an increase of 0.11 %, however, for the maximum electric power (100 %) it was observed an AC decrease (decreased 0.20 %). On the other hand, the highest values of AC were obtained for the electric power at 40 %. Although the results of the TPC, show a degradation of phenolic compounds, the AC, is not affected significantly, since the values of this remain almost constant in all electrical power applied.

#### **COMPARISON ULTRASOUND ASSISTED EXTRACTION (US) WITH CONVENTIONAL EXTRACTION (CV)**

Once the best choice of process parameters for ultrasound application was identified ( $31.6 \pm 0.5$  W, 40 % of electric power) based on the above results, an overall study was conducted comparing US with CV processes. The statistical analysis confirmed that the US had a significant influence ( $p < 0.01$ ) on the final extracts, those obtained after 5, 10 and 20 min of treatment, in comparison with those obtained in the CV.

TPC and AC extract from avocado peels by US and CV is shown on Figure 2. The TPC (Figure 2A) and AC (Figure 2B) obtained by US during 5 min had increased (22 % and 0.4 %, respectively) in comparison with the obtained by CV. For the extracts obtained at 10 min there was an increase of 21.44 % and 0.1 %, while for 20 min, only an increase of 12.95 % and 0.17 %, respectively. Therefore, the US permits higher extraction yields in shorter periods of time, thereby reducing the energy input.

#### **5. CONCLUSIONS**

The application of ultrasound energy could be considered an interesting alternative as a means of intensifying the extraction process of phenolic compounds from

avocado peels. The ultrasound effect was dependent on the effective ultrasonic power applied to the medium. Thereby, it was highlighted that the improvement of phenolic compounds extraction was achieved by supplying 40 % of the total electric power to the ultrasonic. Therefore, compared with conventional techniques, ultrasound assisted extraction can be considered a more efficient procedure. The ultrasonic assisted extraction is still a challenge on an industrial scale, then, further research is necessary in order to develop efficient ultrasonic transducers and thus improve the extraction processes.

## ACKNOWLEDGEMENTS

The authors acknowledge financial support from the “Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT)” in Mexico (Project 207279 and 580569).

## 6. REFERENCES

- AHMAD-QASEM, M. H., Cánovas, J., Barraji3n-Catal3n, E., Micol, V., C3rcel, J. A., Garc3a-P3rez, J. V. (2013). Kinetic and compositional study of phenolic extraction from olive leaves (var. Serrana) by using power ultrasound. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 17, 120-129.
- C3RCEL, J. A., Benedito, J., Bon, J., Mulet, A. (2007). High intensity ultrasound effects on meat brining. *Meat science*, 76, 611-619.
- DENG, G. F., Shen, C., Xu, X. R., Kuang, R. D., Guo, Y. J., Zeng, L. S., Li, H. B. (2012). Potential of fruit wastes as natural resources of bioactive compounds. *International journal of molecular sciences*, 13, 8308-8323.
- FILGUEIRAS, A. V., Capelo, J. L., Lavilla, I., Bendicho, C. (2000). Comparison of ultrasound-assisted extraction and microwave-assisted digestion for determination of magnesium, manganese and zinc in plant samples by flame atomic absorption spectrometry. *Talanta*, 53, 433-441.
- FU, L., Xu, B. T., Xu, X. R., Gan, R. Y., Zhang, Y., Xia, E. Q., Li, H. B. (2011). Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. *Food Chemistry*, 129, 345-350.
- ITO, N., Hirose, M., Fukushima, S., Tsuda, H., Shirai, T., Tatematsu, M. (1986). Studies on antioxidants: their carcinogenic and modifying effects on chemical carcinogenesis. *Food and Chemical Toxicology*, 24, 1071-1082.
- LEE, J., Koo, N., Min, D. B. (2004). Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 3, 21-33.

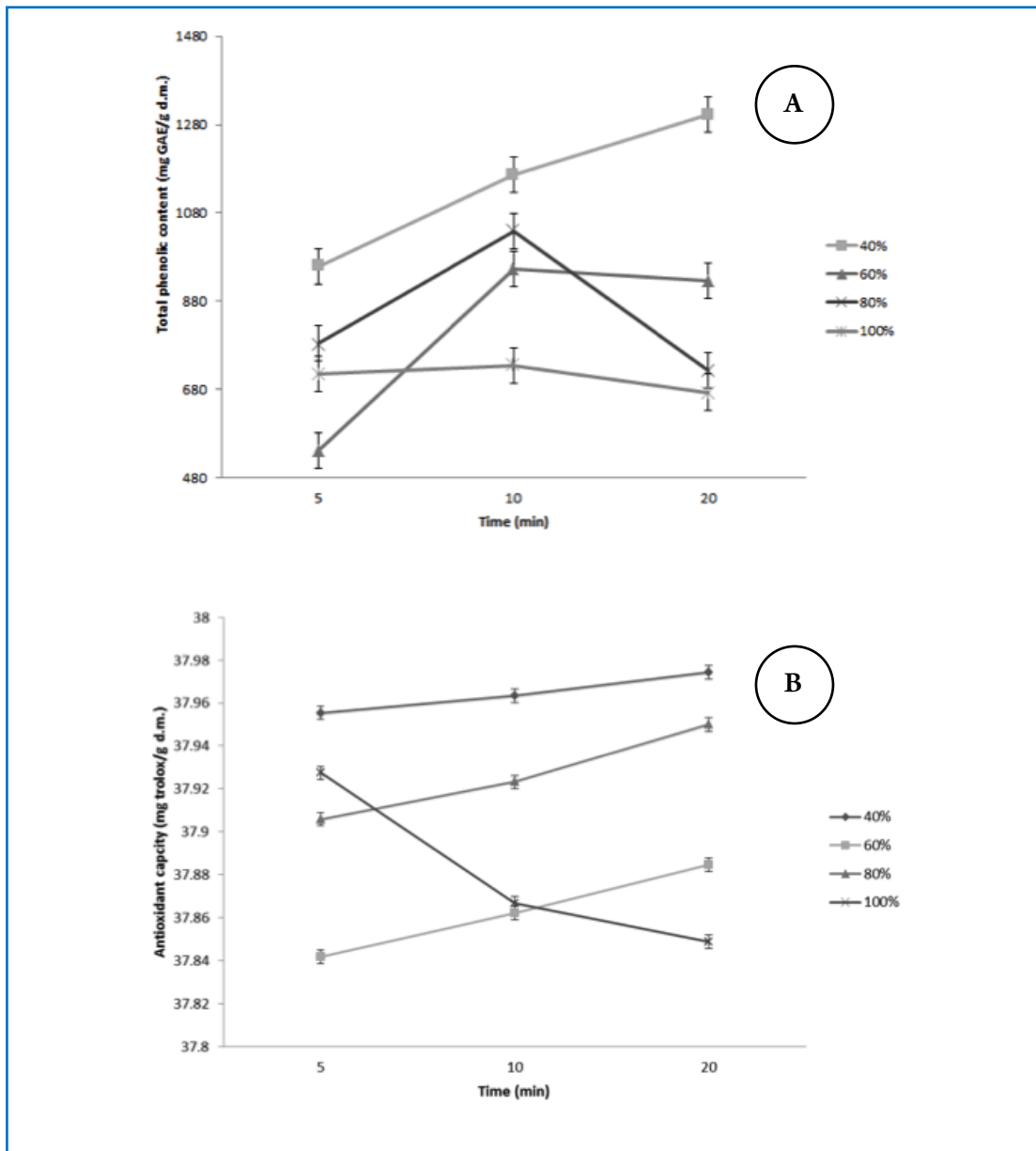
- RODRÍGUEZ-BERNALDO DE QUIRÓS, A., Lage-Yusty, M. A., López-Hernández, J. (2010). Determination of phenolic compounds in macroalgae for human consumption. *Food chemistry*, 121, 634-638.
- SAFER, A. M., Al-Nughamish, A. J. (1999). Hepatotoxicity induced by the anti-oxidant food additive, butylated hydroxytoluene BHT, in rats. *An electron microscopical study*.
- SEKHON-LOODU, S., Warnakulasuriya, S. N., Rupasinghe, H. P. Shahidi, F. (2013). Antioxidant ability of fractionated apple peel phenolics to inhibit fish oil oxidation. *Food chemistry*, 140, 189-196.
- TOMA, M., Vinatoru, M., Paniwnyk, L., Mason, T. J. (2001). Investigation of the effects of ultrasound on vegetal tissues during solvent extraction. *Ultrasonics sonochemistry*, 8, 137-142.
- VILKHU, K., Mawson, R., Simons, L., Bates, D. (2008). Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry-A review. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9, 161-169.
- VILLA-RODRÍGUEZ, J. A., Molina-Corral, F. J., Ayala-Zavala, J. F., Olivas, G. I., González-Aguilar, G. A. (2011). Effect of maturity stage on the content of fatty acids and antioxidant activity of 'Hass' avocado. *Food Research International*, 44, 1231-1237.
- ZHAO, S., Kwok, K. C., Liang, H. (2007). Investigation on ultrasound assisted extraction of saikosaponins from Radix Bupleuri. *Separation and purification technology*, 55(3), 307-312.

## 7. TABLES AND FIGURES

**TABLE 1.** Ultrasonic power (W) applied to the medium as function of the percentage of the total electric power (400 W)

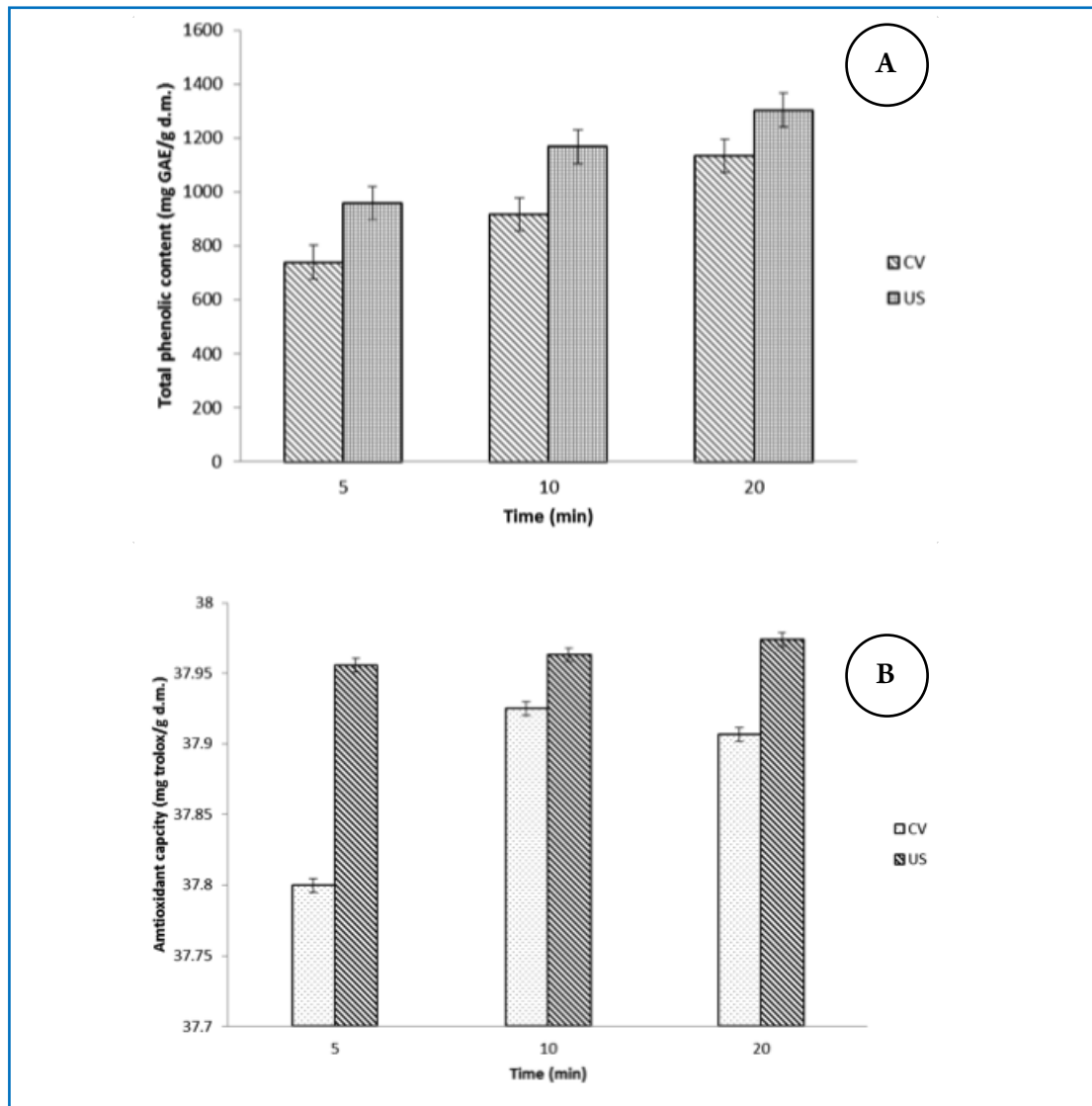
| Diameter (cm) | Emitter surface (cm <sup>2</sup> ) | Electric power supplied to transducer |          |          |          |
|---------------|------------------------------------|---------------------------------------|----------|----------|----------|
|               |                                    | 40 %                                  | 60 %     | 80 %     | 100 %    |
| 2.2           | 3.8                                | 31.6±0.5                              | 36.0±0.4 | 39.6±0.2 | 42.9±0.7 |

Data are means ± standard deviation (n = 3).



**FIGURE 1.** Evolution of the total phenolic content (A) and antioxidant capacity (B) of the avocado peels extracts obtained by applying ultrasound at different electric powers (emitter surface 12.6 cm<sup>2</sup> and 25 °C extraction temperature)





**FIGURE 2.** Influence of extraction method on the total phenolic content (A) and antioxidant capacity (B) of the avocado peels extracts. CV: convencional extraction (whith agitation); US: ultrasound assisted extraction (40 % of the electric power supplied, effective power  $31.6 \pm 0.5$  W and extraction temperature  $25$  °C)

# ESPINACAS MÍNIMAMENTE PROCESADAS. PROPUESTA DE PROCESAMIENTO PARA PROLONGAR SU VIDA ÚTIL

Ramiro Martín Casoliba<sup>1</sup>, Diego Ricardo Gutiérrez<sup>2</sup>, Silvia del Carmen Rodríguez<sup>2,3</sup>

## 1. RESUMEN

En este trabajo se propone un proceso industrial para espinacas de IV gama aplicando tecnologías combinadas que permitan prolongar su tiempo de conservación tales como: distintos pretratamientos térmicos y envasado con películas plásticas, asociados a la refrigeración. El trabajo se dividió en etapas: 1- Se evaluó el efecto de distintos tratamientos térmicos con agua (45°- 50 °C, 1 –10 min.) y aire (40-50 °C, 15 a 90 min.). 2-Se evaluó el efecto del almacenamiento con diferentes películas plásticas, en la calidad y conservación del producto. Todas las muestras procesadas en las etapas descritas se almacenaron a 3° y 8 °C, evaluándose periódicamente: pérdida de peso, color ( $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ ), calidad sensorial (con panel entrenado), acidez, ácido ascórbico y calidad microbiológica, a través del recuento de microorganismos aerobios mesófilos y psicrófilos totales y de hongos y levaduras. En función de los resultados obtenidos, se diseñó un diagrama de procesamiento industrial para la elaboración de espinacas mínimamente procesadas empleando tecnologías de barreras combinadas que permitirían una mayor conservación del producto por al menos durante 20 días.

---

CONTACTO: Silvia del C. Rodríguez [silviadepece@hotmail.com](mailto:silviadepece@hotmail.com).

1. Instituto Nacional de Tecnología Industrial. Santiago del Estero. Argentina.

2. CITSE-CONICET.

3. Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Facultad de Agronomía y Agroindustrias- Universidad Nacional de Santiago del Estero. Av. Belgrano (S) N° 1912.Santiago del Estero (CP: 4200). Argentina.

## 2. INTRODUCCIÓN

Muchos de los productos hortícolas son altamente perecederos y por lo tanto, sufren altas pérdidas postcosecha, derivadas de la senescencia, la deshidratación y/o el ataque de patógenos. La necesidad de un adecuado manejo postcosecha y la utilización de tecnologías que permitan prolongar la vida de comercialización es muy importante y en los últimos años, se ha observado una importante demanda por parte de los consumidores de productos más sanos e inocuos, dejando de lado el uso de productos químicos potencialmente nocivos para la salud humana y contaminantes para el medio ambiente (Klockow & Keener, 2009). Así, las tecnologías limpias (métodos físicos) de conservación y tratamientos postcosecha adquieren mayor relevancia. Tradicionalmente, se ha utilizado la refrigeración y la aplicación de atmósferas modificadas y controladas como metodología para controlar las pérdidas postcosecha. Estos tratamientos han resultado beneficiosos en numerosos productos, pero en muchos otros se generan alteraciones fisiológicas en los tejidos vegetales. En este sentido, en los últimos años investigadores han estudiado nuevos tratamientos físicos (tratamientos por calor o radiación UV-C) a fin de conservar mejor el producto y revertir los problemas ocasionalmente producidos por los tratamientos convencionales. En general estos estudios en la mayoría de los casos se han aplicado en frutas (Bassal & El-Hamahmy, 2011). La espinaca es una hortaliza de hoja que es principalmente utilizada en Argentina para su consumo en fresco, pero también es procesada industrialmente para obtener espinacas congeladas, deshidratadas y conservadas por calor. Por ser una hortaliza altamente perecedera, debido a su alta actividad respiratoria (Kader, 2002) y a su elevada pérdida de agua, su vida útil es muy corta: menor de 3 días a temperatura ambiente y menor a 10 días a 0 °C almacenadas con alta humedad relativa ambiente (Cantwell, 2001). Es un producto con baja producción de etileno y altamente susceptible al mismo, el cual se manifiesta a través del amarillamiento de las hojas y aumento de pudriciones. Para prolongar la conservación en fresco de la espinaca es necesario reducir la respiración, inhibir la deshidratación y la senescencia, y controlar la proliferación de microorganismos. La utilización de películas poliméricas en envases herméticos que producen una favorable atmósfera modificada dentro del paquete, ha sido examinada por diferentes estudios. La atmósfera modificada puede reducir la incidencia de los desórdenes fisiológicos, alteraciones microbianas y bioquímicos, cada uno de

los cuales, origina cambios en el color, textura, sabor y, en consecuencia, en el valor comercial del producto envasado. Actualmente en el NOA no se aplica ningún tipo de tecnología postcosecha que permita prolongar su conservación en fresco. No hay antecedentes sobre el uso de tratamientos térmicos en espinaca y su asociación con la aplicación de atmósferas modificadas a fin de prolongar la vida postcosecha de las mismas. Sin embargo, en lechuga, tratamientos a 50 °C durante 60-90 segundos inhiben el pardeamiento en las zonas de corte y retardan el amarillamiento (Loaiza-Velarde y Salveit, 2001). El objetivo de este trabajo fue diseñar un proceso industrial para espinacas mínimamente procesadas aplicando tecnologías limpias que permita prolongar su tiempo de conservación.

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

El trabajo se dividió en tres etapas:

1. Se realizaron pruebas de almacenamiento de espinacas recubriendo las hojas diferentes películas plásticas comerciales y se almacenaron a dos temperaturas: 3° y 8 °C.
2. Se realizaron tratamientos térmicos con agua (45° - 50 °C, durante 1 –10 min.) y aire caliente (40-50 °C, durante 15 a 90 min.), y se envasaron en los dos films que resultaron mejores de la etapa 1: polipropileno y polietileno de baja densidad de 30 µm.
3. En base a los resultados obtenidos en las etapas anteriores se diseñó el proceso industrial utilizando la asociación de tecnologías limpias que permiten prolongar el tiempo de conservación de las espinacas.

#### **MATERIAL VEGETAL**

Se trabajó con espinacas de la variedad Jamaica, Híbrido N° 7, cosechadas en una finca hortícola de la localidad Capital de la provincia de Santiago del Estero-Argentina. Las espinacas cosechadas se transportaron bajo refrigeración y en bolsas plásticas hasta el laboratorio. Las plantas fueron seleccionadas eliminándose las hojas que no presentaban óptima características de calidad.

#### **METODOLOGÍA**

##### ***1° Parte***

Las hojas de espinacas se lavaron por inmersión en agua clorada (200 ppm-5 min), se escurrieron y se recubrieron con las siguientes películas plásticas comerciales:

polipropileno (PP), polietileno de baja densidad de 30 y 60  $\mu\text{m}$  de espesor (PEBD 30 y PEBD 60 respectivamente), polietileno de alta densidad de 30  $\mu\text{m}$  (PE) y cloruro de polivinilo (PVC). Las bolsas se almacenaron en cámaras frigoríficas a 3° y 8 °C. Como producto control se almacenaron espinacas en bolsas de PEBD perforadas. Periódicamente se extrajeron muestras y se evaluaron los siguientes parámetros.

-Pérdida de peso (PP): Se determinó con balanza granataria por diferencia entre el peso inicial de las muestras y a la salida de cámara.

- Evaluación sensorial de la calidad (ES): -Aspecto general: Se determinó con jueces entrenados usando una escala estructurada de 9-1, con los siguientes puntos de referencia: 9: excelente; 7, buena; 5, regular; 3 mala; y 1, muy mala. -Presencia de podredumbres: Este parámetro fue evaluado con panel entrenado utilizándose una escala estructurada de 1 a 9, donde 9 corresponde a ningún daño; 7 desarrollo incipiente; 5 moderado; 3 severo; y 1 excesivo. Para ambos parámetros se estableció la calificación de 6 como límite para la comercialización de las espinacas puntos (Torricella Morales y col., 2007; Rodríguez y Questa 2009).

- Color: fue determinado midiendo los parámetros  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  con un colorímetro (Minolta CR 300) cubriendo un área de 5  $\text{mm}^2$ . El Hue se calculó como  $\tan^{-1}(b/a)$ , cuando  $a > 0$  y  $b > 0$ , o como  $\tan^{-1}(b/a) + 360$ , cuando  $a < 0$  y  $b > 0$ . Asimismo, se calculó el grado de saturación del color o Croma a partir de los valores de  $a^*$  y  $b^*$  de acuerdo a la siguiente expresión:  $\text{Croma} = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$ .

- Acidez titulable (AT): Para la determinación de acidez total se empleó el AOAC Official Method 942.15. Los valores obtenidos se expresaron como mg de ácido cítrico/100 g de tejido fresco.

- Acido ascórbico (AA): Se realizó según la metodología de Carvalho y col. (1990), la cual se basa en la reducción del indicador 2,6 – diclorofenolindofenol por el ácido ascórbico. Expresándose los resultados como mg de ácido ascórbico / 100 g de tejido fresco.

## 2° Parte

Se realizaron los siguientes tratamientos térmicos (TT).

- Por inmersión en agua a: • 45 °C durante 2 y 5 min. • 48 °C durante 1 y 3 min. • 40 °C durante 5 y 10 min. • 50 °C durante 1 y 2 min. Luego de los TT fueron enfriadas rápidamente con agua a 10 °C, escurridas y se envasaron en los films que resultaron mejores de la etapa 1: PP y PEBD- 30 mm.

-Por exposición en aire: Las hojas de espinacas luego de lavadas con agua clorada y escurridas fueron envasadas en los siguientes films: PP y PEBD-30  $\mu\text{m}$ .

Las bolsas con  $60 \pm 10$  g de espinacas fueron sometidas a las temperaturas y tiempos que se describen a continuación: • 40 °C durante 30, 60 y 90 min. • 45 °C durante 15, 30 y 45 min. • 50 °C durante 15 y 30 min. Las espinacas tratadas térmicamente, tanto con agua como con aire se almacenaron a 3° y 8 °C en cámaras con una humedad relativa de aproximadamente 90 %. Periódicamente se extrajeron las muestras y se determinó la evolución de: aspecto general, desarrollo de podredumbres y color a través de la determinación de  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ , de acuerdo a lo descrito anteriormente.

### **3° Parte**

Una vez evaluadas las experiencias según lo descrito en la 1° y 2° etapa de este trabajo, se determinó el proceso más conveniente para el almacenamiento de las espinacas. Se confeccionó el diagrama de bloques del proceso establecido como más adecuado y se diseñó el proceso industrial.

- Diseño experimental y tratamiento estadístico de los datos.

Las experiencias se realizaron según un diseño factorial. Se llevaron a cabo por lo menos cuatro ensayos de almacenamiento en las etapas 1 y 2, y las determinaciones se efectuaron por triplicado. Los resultados fueron analizados por medio de un Análisis de Varianza (ANOVA).

## **4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **1° Parte**

Los vegetales mínimamente procesados (VMP) tienen mayor superficie de contacto y en especial las verduras de hoja son potencialmente más susceptibles a deshidratarse, en especial cuando se mantienen a temperaturas cercanas a la ambiente (25 °C). La permeabilidad del film puede influenciar de forma positiva en el mantenimiento de la humedad relativa dentro del envase y prevenir la deshidratación (Torales & Rodríguez, 2009). Sin embargo no debe olvidarse que estos niveles de humedad también pueden favorecer el desarrollo de microorganismos (Lamikanra y Chen, 2000).

Se determinó que la pérdida de peso del producto fue elevada en las hojas recubiertas con PVC y en las almacenadas en bolsas perforadas (control), alcanzó

aproximadamente un 20% al cabo de los 17 días de almacenamiento. Con el resto de las películas, la pérdida de agua fue baja e inferior al 8% para el mismo tiempo de almacenamiento. No se observaron diferencias significativas entre PVC y el control; tampoco entre el resto de los films para el mismo tiempo de almacenamiento. La pérdida de agua durante el almacenamiento a 3 °C si bien fue ligeramente inferior que la de las hojas conservadas de 8 °C, no fueron significativamente diferentes ( $P > 0.05$ ). Uno de los principales factores de calidad evaluados por el consumidor en el momento de adquirir el producto es su apariencia general y la presencia de podredumbres, los que se observan a través del envase (Rodríguez & Questa, 2009). Se determinó que el film que permitió conservar mejor la apariencia general de las hojas fue el PEBD presentando un valor promedio de  $7 \pm 0,6$  al cabo de los 14 días de almacenamiento a 3 °C. Los films restantes al cabo de ese tiempo de conservación todos presentaron valores inferiores a 6, valor éste establecido como límite para determinar la no comerciabilidad del producto. No se encontraron diferencias significativas respecto de ambos factores de calidad entre las espinacas almacenadas a 3° y 8 °C ( $P > 0,05$ ) hasta los 7 días de almacenamiento. Sin embargo en las espinacas almacenadas a 8 °C a partir de los 11 días la calidad global del producto disminuyó significativamente. Otro de los parámetros evaluados fue la evolución de ácido ascórbico durante el almacenamiento refrigerado. En la Figura 1 se muestra su variación observándose que el contenido inicial fue de  $55,5 \pm 7,6$  mg de ácido ascórbico/100 gramos de tejido fresco, y durante el almacenamiento disminuyó paulatinamente en todos los casos hasta alcanzar valores de aproximadamente el 50% del valor inicial. No se encontraron diferencias significativas en las espinacas recubiertas con los distintos films y entre las conservadas a las dos temperaturas que se realizaron las experiencias durante todo el almacenamiento. El contenido de acidez, expresada como ácido cítrico, al inicio de la conservación fue de aproximadamente 3,1 mg/100 g de tejido fresco y descendió rápidamente en aproximadamente 52% al cabo de los cuatro primeros días de conservación en las espinacas recubiertas con, PEBD, PE y en las bolsas perforadas, posteriormente los niveles se mantuvieron sin variaciones significativas hasta el final del almacenaje. Los niveles de este parámetro en las hojas envasadas en PP y PVC descendieron más lentamente alcanzando valores similares al producto recubierto con los otros films al cabo de los 7 días para PVC y 17 días en las recubiertas con PP. Este descenso de acidez se debería a un aumento del contenido de amoníaco producido por

las hojas durante el almacenamiento. Estudios llevados a cabo por Cantwell (2001) demostraron que hojas de espinacas pueden acumular amoníaco. Este componente volátil es tóxico para las células vegetales y algunos autores han demostrado que se puede producir en cantidades apreciables en otros tejidos, tales como espárragos y brócoli (King and Morris, 1994). La acumulación de amoníaco que ocurre en productos como los mencionados anteriormente podría ser un factor que influye en la velocidad de deterioro de los mismos. La acumulación de amoníaco en las hojas de espinacas no ha sido completamente estudiada y podría ser un indicador de senescencia y estrés, en especial con relación al almacenamiento con atmósferas modificadas (Cantwell, 2001). Las espinacas son altamente susceptibles al etileno, provocando esta hormona el amarillamiento de las hojas y aumento de pudriciones, lo que hace disminuir su calidad, desde el punto de vista organoléptico. Durante el almacenamiento refrigerado el porcentaje de clorofila que se degrada va del 12 al 27 %, siendo el límite de pérdida el 20 % que define la aceptabilidad del producto (López Ayerra y col, 1998). Al evaluar el parámetro  $L^*$  se observó que disminuyó en las hojas recubiertas con PVC, PE, PEBD 60 y bolsas perforadas aproximadamente un 50 % durante los 4 días de almacenamiento, mientras que en las almacenadas en PEBD y PP permaneció prácticamente constante. Respecto de  $a^*$ , las espinacas recubiertas con PEBD fueron las que presentaron menor valor y por lo tanto acentuaron su color verde.

## **2° Parte**

El tratamiento con altas temperaturas también puede causar daño en los tejidos de los vegetales, es por ello que se realizan muchos estudios para encontrar un régimen de tiempo-temperatura que sea efectivo para conseguir el efecto deseado (Lurie, 1998). Como se mencionó en Materiales y Métodos se experimentaron diferentes tratamientos térmicos con agua y aire caliente. Se observó que los tratamientos que permitieron conservar mejor el aspecto general de las hojas al cabo de los 7 días de conservación fueron:

Hojas almacenadas con PEBD - Tratamientos con agua: 45 °C durante 2 y 5 min.; 40 °C durante 10 min; 50 °C durante 1 min.

Tratamientos con aire caliente: 45 °C durante 15, 30 y 45 min.; 40 °C durante 90 min.



Hojas recubiertas con Polipropileno- Tratamientos con agua: 40 °C-10 min. ;45 °C durante 2 y 5 min.

Tratamientos con aire caliente: 45 °C durante 15, 30 y 45 min.

Por lo tanto se consideró que el tratamiento más conveniente es el que se realiza con agua caliente a 45 °C durante 2 minutos, ya que éste puede ser incorporado al proceso sin realizar prácticamente ninguna modificación, durante la segunda etapa de lavado con agua clorada. Las espinacas tratadas térmicamente con agua a 45 °C por 2 min. y almacenadas a 3 °C presentaron al cabo de 20 días de conservación muy buen aspecto general, color y no evidenciaron la aparición de podredumbres. Un aspecto muy importante es que el tratamiento térmico seleccionado además de permitir conservar por mayor tiempo las hojas de espinacas, retardó considerablemente el amarillamiento de las hojas.

### **3° Parte**

En la Figura 3 se presenta el diagrama de bloques del proceso de espinacas mínimamente procesadas, el cual fue diseñado tomando en cuenta los resultados de las experiencias realizadas y descritas en la 1° y 2° Parte de este trabajo.

## **5. CONCLUSIONES**

Los films que permitieron conservar mejor la calidad de las espinacas mínimamente procesadas fueron PEBD de 30 mm de espesor, siguiendo en orden el PP. Las espinacas tratadas térmicamente con agua a 45 °C - 2 min. y almacenadas a 3 °C presentaron al cabo de 20 días de conservación muy buen aspecto general, color y no evidenciaron la aparición de podredumbres. En función de los datos obtenidos y considerando otros factores muy importantes en la industria alimentaria, tales como: ahorro de tiempo y energía, el tratamiento que se recomienda es tratar las hojas con agua caliente a 45 °C - 2 min. Además este tratamiento puede ser incorporado al proceso sin realizar prácticamente ninguna modificación de la línea tradicional. Mediante la utilización de las tecnologías limpias propuestas: envasado de las espinacas en bolsas selladas de PEBD o PP asociadas al pretratamiento térmico con agua (45 °C por 2 min) y aplicando siempre las buenas prácticas de manufactura durante todas las etapas del proceso es posible aumentar, en prácticamente el doble, la vida útil de las espinacas MP almacenadas a 0° - 3 °C.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOAC, 1993. Association of official analytical chemist. Vol. 1. 15th Edition. USA.
- BASSAL, M. & M. El-Hamahmy, 2011. Hot water dip and preconditioning treatments to reduce chilling injury and maintain postharvest quality of Navel and Valencia oranges during cold quarantine. *Postharvest Biology and Technology* 60 (2011) 186–191
- CANTWELL, M. 2001. Características y Condiciones Recomendadas para el Almacenamiento por Tiempo Largo de Frutas y Hortalizas Frescas. Webb site of University California-Davis.
- KADER, A. 2002. Postharvest Technology of horticultural crops. Third Edition. University of California. Publication 3311. Cap. 4.
- KING, G. A. & S. C. Morris. 1994. Early compositional changes during postharvest senescence of broccoli. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 119, 1000-1005.
- KLOCKOWA P. & K. M. Keener. 2009. Safety and quality assessment of packaged spinach treated with a novel ozone-generation system. *LWT - Food Science and Technology* 42 (2009) 1047–105.
- LAMIKANRA, O. & J. Chen. 2000. Bioch. And Microbial changes during the storage of minimally processed Cantaloupe, *J. Agric. Food. Chem.* 48, 5955-5961.
- LOAIZA-VELARDE, J.C., M. E. Salveit. 2001. Heat shocks applied either before or after wounding reduce browning of lettuce leaf tissue. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 126: 227-234.
- LÓPEZ ARREYA, B.; A. M. Murcia, F. Garcia Carmona. 1998. Lipid peroxidation and chlorophyll levels in spinach during refrigerates storage and after industrial processing. *F. Chemistry.* 61 (1/2) 113-118.
- LURIE, S. 1998. Postharvest heat treatments. *Postharv. Biol. And technol.* 14, 257-269.
- RODRIGUEZ S del C & A. G. Questa. 2009. Evaluación sensorial de vegetales frescos y mínimamente procesados Trabajos Completos del CLICAP. Pág. 1 - 7.
- TORALES A. & Rodriguez S. 2009. Efecto de películas plásticas en la conservación refrigerada de rúcula (*Eruca sativa Mill*) mínimamente procesada. *Inv. en Fac. de Ing. del NOA.* V. 2: 60-65
- TORRICELLA MORALES, R. G., E. Zamora Utset, H. Pulido Alvarez. 2007. Evaluación Sensorial Aplicada a la Investigación, desarrollo y control de la calidad en la Industria Alimentaria; Editorial Universitaria, La Habana, Cuba.

## 7. TABLAS Y FIGURAS

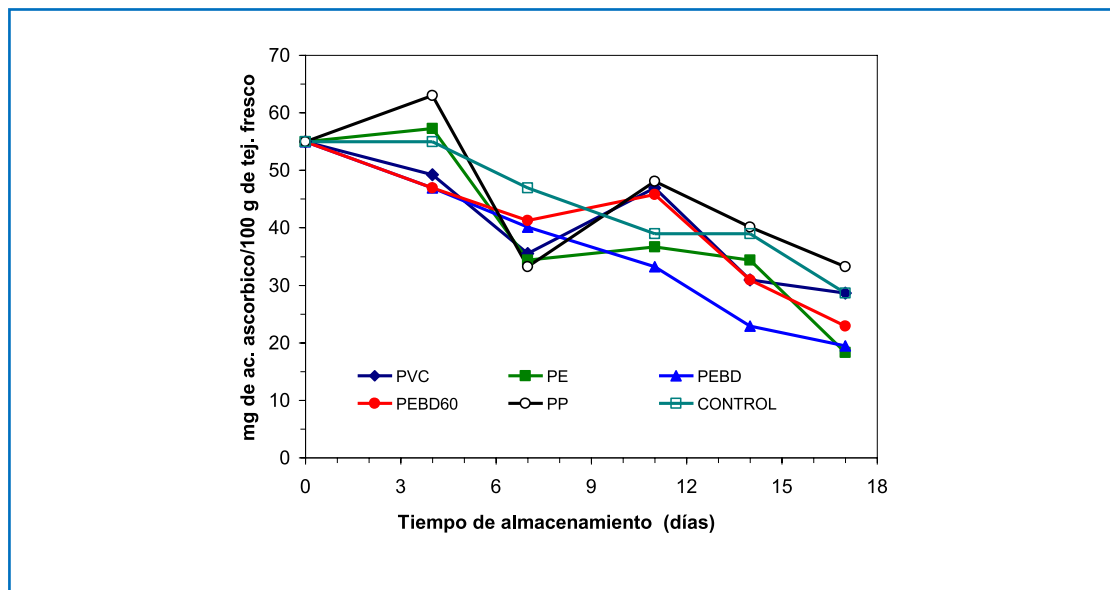


FIGURA 1. Efecto del recubrimiento con distintos films plásticos en la retención de ácido ascórbico en hojas de espinacas mínimamente procesadas y almacenadas a 3 °C.

$$LSD_{(0,05)} = 8,3$$

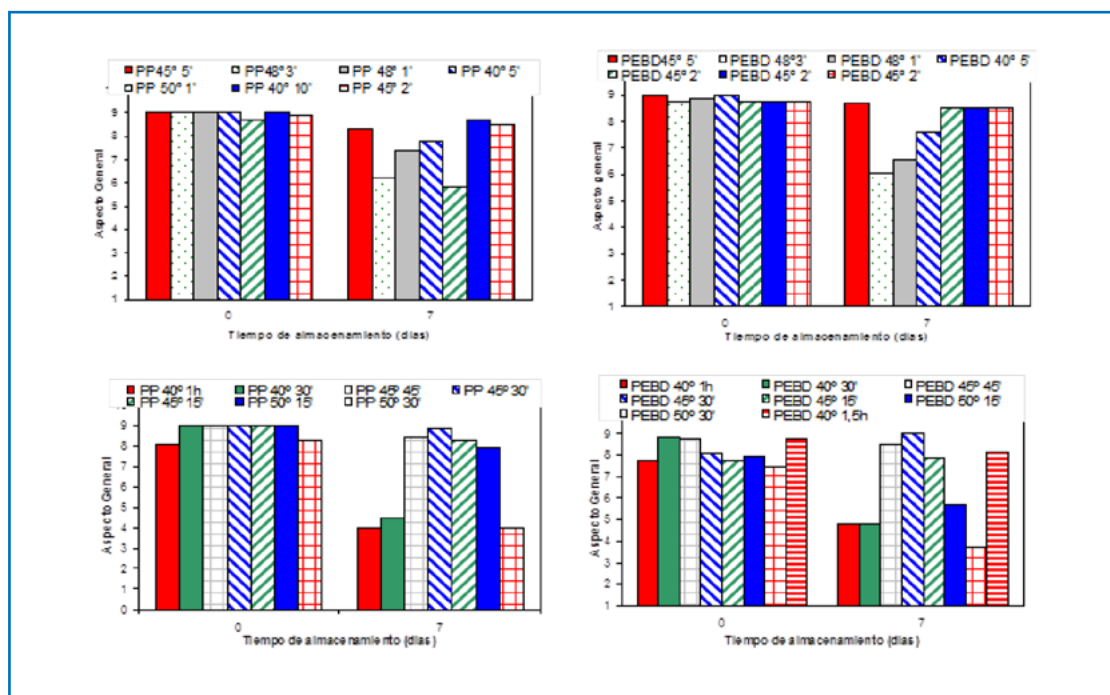
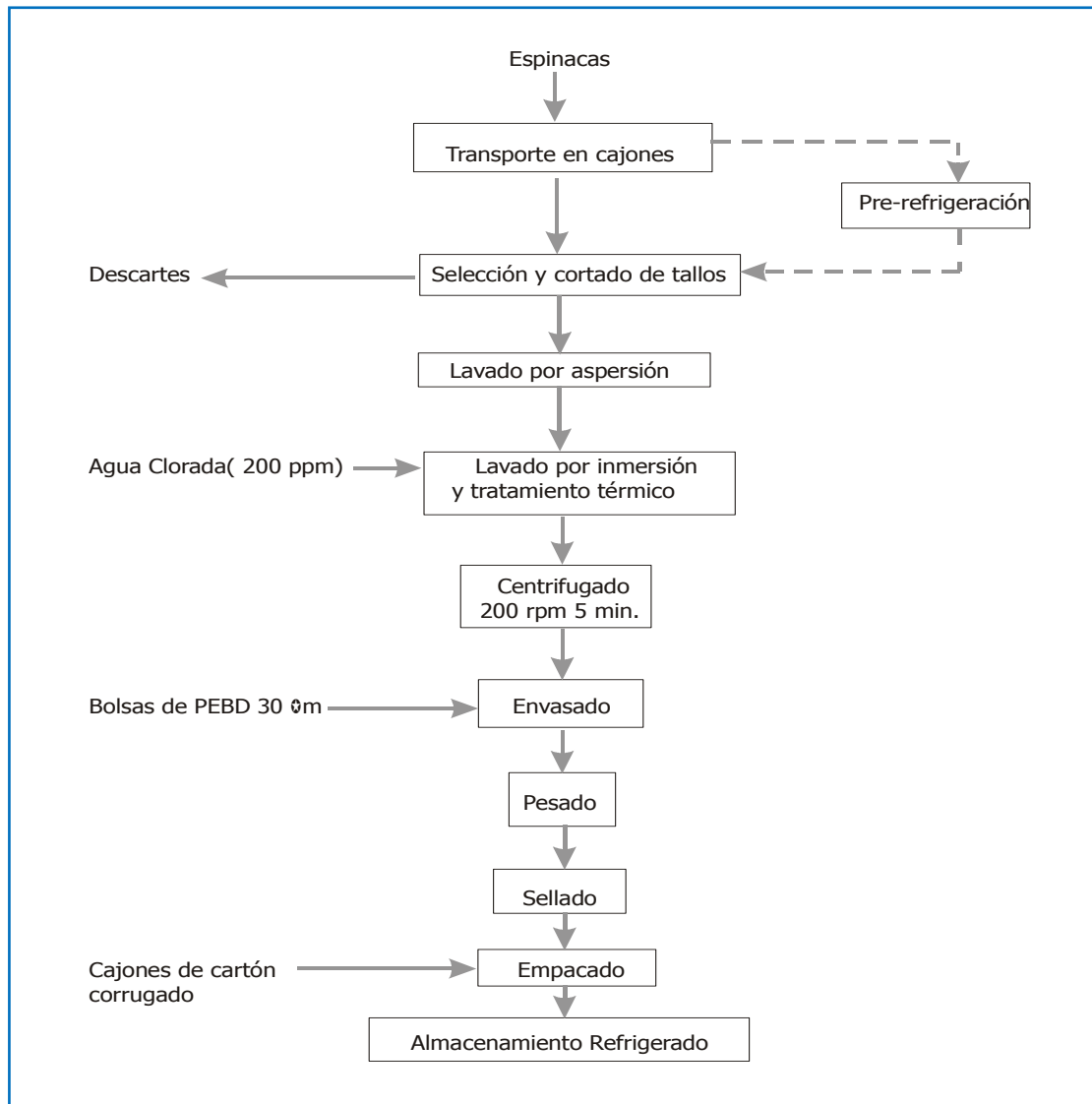


FIGURA 2. Aspecto general de espinacas tratadas térmicamente con agua y envasadas con PP y PEBD-30µm



**FIGURA 3.** Diagrama de Bloques para la elaboración de espinacas mínimamente procesadas

# INNOVACIÓN EN EL PROCESAMIENTO DE *OPUNTIA FICUS INDICA* PARA PROLONGAR SU VIDA POSTCOSECHA

Silvia del Carmen Rodríguez<sup>1,2</sup>, Diego Ricardo Gutiérrez<sup>2</sup>, Ramiro Martín Casoliba<sup>3</sup>

## 1. RESUMEN

Las tunas (*Opuntia ficus indica*) de la variedad amarilla sin espinas se desarrollan en forma extensiva e intensiva en la región NOA de Argentina. Los principales problemas de conservación postcosecha son el rápido deterioro, el desarrollo de daño por frío cuando se conservan a bajas temperaturas y las infecciones por microorganismos alterantes. En este trabajo se estudia la aplicación de diferentes tecnologías postcosecha y se propone un procesamiento innovador que permite prolongar la vida útil de estos frutos. Se evaluó la aplicación de: a-agua clorada (200ppm); b- ácido acético al 1 % e hipoclorito de sodio (150ppm) y c- sorbato de potasio (1500ppm), todos a 25 °C, 5min. Se aplicaron tratamientos térmicos (TT) con agua a 50°- 55 °C durante 3-10 min y luz UVC (1-4 kJm<sup>-2</sup>). Se evaluó el efecto del recubrimiento con distintas películas plásticas: PVC (20 µm), polietileno de baja densidad (PEBD, 30 µm), PD961 (GRACE, 30µm). Los diferentes tratamientos se aplicaron solos y combinados entre ellos. Todos los frutos tratados se almacenaron a 3° y 8 °C, mientras que los frutos testigos se conservaron a 20°, 3° y 8 °C. Semanalmente se determinó: pérdida de peso, aspecto general, daño por frío, desarrollo fúngico, intensidad respiratoria, ácido ascórbico, sólidos solubles, acidez y pH. Los TT más efectivos para retardar el desarrollo fúngico y el daño por frío fueron: 55 °C-3min. y 52 °C-5min. La temperatura de almacenamiento más adecuada fue de 3 °C y el film que permitió mantener mejor las características propias del producto

---

CONTACTO: Silvia del C. Rodríguez [silviadepece@hotmail.com](mailto:silviadepece@hotmail.com)

1. Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Facultad de Agronomía y Agroindustrias- Universidad Nacional de Santiago del Estero. Av. Belgrano (S) N° 1912. Santiago del Estero (CP: 4200). Argentina.

2. CITSE-CONICET.

3. INTI- Santiago del Estero. Argentina.

fue el PVC. Se propone un proceso postcosecha innovador que permite que las tunas puedan prolongar su vida útil por 35 días.

## 2. INTRODUCCIÓN

En Santiago del Estero, los nopales de tuna son vegetales autóctonos y crecen con éxito en regiones con clima árido y semiárido, por ello su cultivo se asocia con zonas marginales para la agricultura tradicional (Rodríguez *et al.*, 2003). Estos frutos sólo se comercializan en el ámbito local, sin ningún tipo de acondicionamiento y esporádicamente se realizan incursiones para comercializarlas en mercados europeos. Sin embargo, existen muchos inconvenientes en la comercialización de estas frutas, debido a los problemas de postcosecha que presentan y dado que las características varietales son decisivas, como en otros vegetales, para la elección de las condiciones óptimas de conservación.

Entre los principales problemas que presentan se destacan su rápido deterioro a temperatura ambiente, el desarrollo de microorganismos alterantes y su susceptibilidad a temperaturas de almacenamiento inferiores a 12 °C (Ochoa & Guerrero, 2012). Sin duda, para poder acceder a mercados internacionales se torna imprescindible ofrecer frutos de las características requeridas, que tengan una vida útil acorde al ciclo de comercialización pretendido y, al mismo tiempo, que la incidencia del daño sea mínimo, ofreciendo productos competitivos de buena calidad. Internacionalmente se han aplicado diferentes métodos individuales para tratar de minimizar las pérdidas postcosecha de las tunas, entre ellos se pueden citar, la aplicación de atmósferas modificadas, tratamientos fungicidas y tratamientos térmicos para retardar el daño por frío (Schirra *et al.*, 2002; Berger *et al.*, 2002). Por otra parte, en los últimos años se ha observado una importante demanda por parte de los consumidores de productos más sanos e inocuos, reduciendo el uso de productos químicos. Así, las tecnologías limpias (métodos físicos) para el tratamiento postcosecha adquieren mayor relevancia. No existen antecedentes sobre la aplicación de tecnologías limpias combinadas (atmósferas modificadas, lavado con sustancias GRASS, tratamientos térmicos y luz UV-C) en tunas para tratar de prolongar su vida útil. El objetivo de este trabajo fue evaluar la aplicación de diferentes tecnologías postcosecha que permitan prolongar la vida útil de tunas, desarrollando un procesamiento innovador.

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

Se trabajó con tunas de la variedad amarilla sin espinas, cosechadas en horas tempranas de la mañana en localidad de Pampa Mujoy-Departamento Capital de la provincia de Santiago del Estero-Argentina. Las experiencias se llevaron a cabo de acuerdo a las siguientes etapas: -Lavado con distintas soluciones orgánicas Grass. -Recubrimiento con diferentes películas plásticas comerciales. -Aplicación de tratamientos térmicos. - Aplicación de luz UV-C. - Diseño del proceso postcosecha

#### **LAVADO CON DISTINTAS SOLUCIONES ORGÁNICAS GRASS**

Las tunas se cosecharon, desespinaron y lavaron durante 5 min a 25 °C con: a)-agua clorada (200ppm); b)- ácido acético al 1% e hipoclorito de sodio (150ppm) y c)-sorbato de potasio (1500ppm). Posteriormente los frutos se almacenaron en bandejas de PVC (6 tunas/bandeja) y se recubrieron con PEBD perforado. Las bandejas se almacenaron en cámaras a 3, 8 y 20° con una HR del 85-90% (18 bandejas por cada tratamiento y temperatura). Como control, se almacenaron tunas lavadas sólo con agua. Semanalmente se analizaron los frutos, evaluando durante 5 semanas: - Aspecto general externo (con panel entrenado y utilizando una escala estructurada de 1-9); donde 9: excelente; 6: límite de comerciabilidad; 5: regular; 1: muy deteriorado); - Se evaluó visualmente el desarrollo de micelio de hongos en la superficie de los frutos, utilizando una escala de 9-1, correspondiendo 9: sin hongos; 7: desarrollo incipiente en la zona del pedúnculo, 5: desarrollo moderado en la zona del pedúnculo, 3: desarrollo moderado en toda la superficie, 1: desarrollo excesivo. - Incidencia de daño por frío (con panel entrenado y utilizando una escala estructurada de 9 puntos; donde 9: sin incidencia de daño; 7; incidencia incipiente perceptible; 5: incidencia regular; 3; daño por frío moderado; 1: daño por frío excesivo (cubre más del 50% del fruto).

#### **EFFECTO DE DIFERENTES PELÍCULAS PLÁSTICAS EN LA CONSERVACIÓN DE LAS TUNAS**

Los frutos desespinaados, lavados con solución de hipoclorito de sodio (200 ppm; 5min) y escurridos se envasaron en bandejas de PVC y recubrieron con: Cloruro de polivinilo (PVC, 20 µm), PEBD, 30 µm y PD961 (Grace, 30µm) con las siguientes características de permeabilidad.

-PVC: O<sub>2</sub> 620-2248 (cm<sup>3</sup>/m<sup>2</sup> 24 h); CO<sub>2</sub> 4263-8138 (cm<sup>3</sup>/m<sup>2</sup> 24 h), vapor de agua: >8 g/m<sup>2</sup>.24 h.

-PBD: O<sub>2</sub> 3900-13000 (cm<sup>3</sup>/m<sup>2</sup> 24 h); CO<sub>2</sub> 1700-77000 (cm<sup>3</sup>/m<sup>2</sup> 24 h), vapor de agua: 6-23,2g/m<sup>2</sup>.24h.

-PD 961: O<sub>2</sub> 6000-8000 (cm<sup>3</sup>/m<sup>2</sup> 24 h); CO<sub>2</sub> 4263-8138 (cm<sup>3</sup>/m<sup>2</sup> 24 h), vapor de agua: >8 g/m<sup>2</sup>.24 h.

Las bandejas se almacenaron a 3° y 8 °C. Como frutos control se almacenaron tunas en bolsas de PEBD perforadas a 3, 8 y 20 °C. Semanalmente se evaluó la pérdida de peso (PP), intensidad respiratoria (IR), producción de etileno, concentración de CO<sub>2</sub> en el interior de las bandejas y la calidad de los frutos, como se indicó anteriormente, evaluando: aspecto general externo; desarrollo superficial de hongos (DH); incidencia de daño por frío (DF).

#### **EFFECTO DE DIFERENTES TRATAMIENTOS TÉRMICOS**

Se formaron grupos de 50 tunas cada uno y se realizaron los siguientes tratamientos con:

- Agua: 45 °C (10 y 20 min); 50 °C (5 y 10 min); 53 °C (2 y 5 min.); 55 °C (3 y 5 min.); 60 °C (1 min.).

- Aire: 38 °C (1 y 2 días.); 40 °C (3 y 6 h), 45 °C (1,5, 3 y 5 h); 50 °C (1h); 55 °C (1h.).

Posteriormente los frutos tratados se acondicionaron en bandejas, se recubrieron con PVC y se almacenaron a 3 °C durante 7 semanas. Para simular condiciones de venta, los frutos se mantuvieron luego durante 7 días a 20 °C. Como testigos se almacenaron frutos sin tratamiento térmico. Semanalmente se evaluó: aspecto general externo; DH; DF; características organolépticas (color, sabor y color interno); pH; SS y firmeza (por penetrometría, expresando los resultados en Kg fuerza).

#### **APLICACIÓN DE LUZ UV-C**

Las tunas se cosecharon, desespinaron, lavaron con agua y se escurrieron. Los frutos se ubicaron en forma vertical en bandejas de PVC (6 tunas/bandeja) y se sometieron a diferentes dosis de luz UV-C (254 nm). Las bandejas se ubicaron debajo de un banco de 4 lámparas de UV-C (TUV G 30T8, 30 W, Philip) irradiándose las bandejas (10 por cada dosis) a una distancia de 30 cm para obtener dosis de 0 (control), 1, 2,5 y 4 KJm<sup>2</sup>. La intensidad de flujo de las lámparas fue medida con un



radiómetro digital (Cole-Permer Instrument Company). Luego del tratamiento las bandejas se recubrieron con PVC y se almacenaron a 3° y 20 °C. Semanalmente se evaluó: % de unidades infectadas por hongos y % de frutos dañados por frío.

#### **DISEÑO DEL PROCESO POSTCOSECHA**

Se realizó el diseño del proceso de conservación, aplicando la combinación de los tratamientos que resultaron más adecuados en forma individual. Posteriormente se realizaron experiencias aplicando el proceso desarrollado y se evaluó el efecto de la combinación de los tratamientos, analizando semanalmente y durante un período de 7 semanas: aspecto general externo, DH, DF, características organolépticas (color, olor sabor), SS, AA: ácido ascórbico (por titulación con 2-6 diclorofenol indofenol) y firmeza de los frutos.

#### **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Los experimentos se realizaron de acuerdo a un diseño factorial, siendo los factores tratamiento térmico, temperatura y tiempo de almacenamiento. Se llevaron a cabo cuatro ensayos y cada determinación se realizó por triplicado. Se calcularon los valores medios de cada parámetro, las desviaciones estándar y los intervalos de confianza. Los datos se analizaron mediante ANOVA y las medias se compararon por un test LSD a un nivel de significancia de  $\alpha = 0,05$ .

### **4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

#### **LAVADO CON DISTINTAS SOLUCIONES ORGÁNICAS GRASS**

En las figuras 1, 2 y 3 se presenta la evolución de la apariencia general, el DH y el DF en los frutos almacenados a 3 °C. La apariencia general de los frutos disminuyó lentamente con el almacenamiento y no hubo diferencias significativas entre los tratamientos hasta las 3 semanas. A las 4 semanas las tunas tratadas con HClO fueron las que presentaron menor calidad visual. Los frutos no tratados luego de las 3 semanas disminuyeron notablemente su calidad, tornándose no comercializables especialmente cuando se realizó el pasaje a 20 °C. No se encontraron diferencias significativas ( $P > 0,05$ ) entre los frutos conservados a 3 y 8 °C hasta el final del almacenamiento. Al evaluar el DF se observó que al cabo de las 5 semanas tanto a 3° como a 8 °C, los frutos aun estaban en condiciones de ser comercializables, pre-

sentando valores medios superiores a 7. Al realizar el pasaje a 20 °C, luego de las 5 semanas se observó que los frutos que evidenciaron menor DF ( $P < 0.05$ ) fueron los tratados con sorbato de potasio, manteniendo valores próximos a 7. No se encontraron diferencias significativas en la evolución del DF entre los frutos tratados con las distintas soluciones ni entre los frutos conservados a 3° y 8 °C. De acuerdo a los resultados, el lavado con sorbato de potasio es el tratamiento que permitiría mantener mejor las características de los frutos.

#### **RECUBRIMIENTO CON DIFERENTES PELÍCULAS PLÁSTICAS COMERCIALES**

Se observó que el film que permitió conservar mejor las características organolépticas de los frutos fue el PVC, permitiendo mantener su calidad hasta los 28 días, retardando el DF que ocurre a esa temperatura; a ese tiempo la PP fue de aproximadamente 4%, como se observa en la Figura 4. Con PVC se alcanzaron atmósferas internas de mayor concentración de  $\text{CO}_2$  ( $P < 0,05$ ) alcanzando niveles de aproximadamente 3% a partir de los 14 días hasta el final del almacenamiento. Mientras que tanto con PBD y PD961, los niveles fueron de aproximadamente 1,5, no encontrándose diferencias significativas entre ellas. La producción de etileno (Figura 5) de los frutos recubiertos con los distintos films permaneció prácticamente sin variaciones durante todo el almacenamiento, tanto a 3 como a 8 °C, manteniendo valores similares al inicial (1,1  $\mu\text{l}/\text{Kg h}$ ). La IR de los frutos recubiertos con los diferentes films disminuyó hasta los siete días desde aproximadamente 27 ml/kg h, hasta niveles entre 3-12 ml/kg.h (Figura 5). Posteriormente se mantuvo prácticamente sin variaciones en ese rango hasta el final de la conservación, en todos los casos. No se observaron diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) con los frutos control a 20 °C, pero si con los frutos control a 3 °C a partir de los 7 días con PVC y a partir 21 días con los recubiertos con PBD y PD 961. Luego de la transferencia a temperatura ambiente, tanto para la producción de etileno como para la IR, hubo un incremento significativo de este parámetro, siendo mayor que los correspondientes a 20 °C, como consecuencia el DF que sufrieron los frutos, como puede observarse en la Tabla 1. Los SS y el pH no presentaron variaciones significativas durante la conservación, manteniendo sus niveles entre 14-16 °Bx y 6,0–6,2 °Bx respectivamente. No hubo diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre los frutos a 3° y 8 °C.

### **APLICACIÓN DE TRATAMIENTOS TÉRMICOS CON AGUA Y AIRE CALIENTE**

Los tratamientos térmicos realizados con agua fueron más efectivos para mantener la calidad de los frutos, que los tratamientos con aire (datos no mostrados). De los tratamientos con agua se observó que los mejores para mantener la apariencia general, retardar el DH y DF fueron: 55 °C-3 min y 52 °C-5 min. No se encontraron diferencias significativas entre estos dos tratamientos, resultando por lo tanto ser equivalentes. Los frutos tratados térmicamente y almacenados a 3° y 8 °C presentaron buena apariencia y mayor que la de los no tratados, al cabo de los 28 días. Respecto de los resultados obtenidos al evaluar el DF en los frutos almacenados a 3 °C y en los frutos transferidos a 20 °C, se observó que al cabo de las 5 semanas los frutos tratados y conservados a 3 °C presentaron menor DF que los conservados a 8 °C, manteniendo esta diferencia aún hasta las 7 semanas de almacenamiento. Al evaluar el DF se observó la ventaja del tratamiento con agua caliente en su reducción. Así, el tratamiento térmico disminuyó significativamente el daño hasta los 28 días de conservación en los frutos almacenados a 3° y 8 °C. Sin embargo, estas diferencias fueron menos notables al transferir los frutos a temperatura ambiente. Se observó que el desarrollo del DF así como el DH no afectó los valores iniciales de los parámetros fisicoquímicos estudiados (SS, firmeza y pH, manteniendo los valores de 12,5 °Bx, 3 Kg y 6 respectivamente). No se encontraron variaciones significativas en la evolución de AA durante el almacenamiento de frutos tratados con agua y conservados tanto a 3° y 8 °C, permaneciendo en valores de aproximadamente 28 mg/100 g (datos no mostrados). Estos resultados demuestran que tratando los frutos con agua a 55 °C-3 min o 52 °C-5 min, podrían ser transportados refrigerados por vía marítima hasta países del hemisferio norte, ya que pueden mantener muy buena calidad para ser comercializados hasta 5 semanas.

### **APLICACIÓN DE LUZ UV-C**

En la Tabla 2 se presenta el % de unidades infectadas por hongos y dañadas por frío según las dosis de luz UV-C aplicadas. Se observó que las dosis aplicadas de luz UV-C no fueron efectivas en reducir el DF ni en evitar el DH, luego de las 5 semanas de almacenamiento. Por lo tanto se considera que sería necesario probar con dosis mayores.

## DISEÑO DEL PROCESO DE CONSERVACIÓN

En este producto, la temperatura de conservación adecuada resulta ser un compromiso entre la prolongación de la vida útil del producto y la incidencia del daño. Si bien se pueden usar temperaturas menores a las que provocan daño frío, es necesario combinar la refrigeración con algún otro tipo de tratamiento de reduzca la incidencia de este daño. En base a los estudios realizados se diseñó el proceso para exportar tunas, el cual se presenta en la Figura 6. Se determinó que aplicando el proceso descrito fue posible conservar los frutos hasta 7 semanas a 3 °C, con un porcentaje del 92 % de frutos de muy buena calidad. Si se tiene en cuenta que los frutos pueden ser mantenidos a temperatura ambiente durante la etapa de venta al consumidor directo, se recomienda que los frutos se mantengan a 3 °C sólo durante 5 semanas para que luego del pasaje a 20 °C los frutos sean aún comercializables con un porcentaje de tunas de buena calidad superior al 93 %.

## 5. CONCLUSIONES

Es posible prolongar la vida útil de las tunas asociando la aplicación de diferentes tecnologías postcosecha. El tratamiento que se recomienda es el lavado con HClO (200ppm-5min) seguido de inmersión en agua a 53 °C-3min con sorbato de potasio (1500 ppm), el recubrimiento con PVC y almacenamiento a 3 °C. Esto permitiría arribar a los distintos mercados con frutos de buena calidad, sanos e inocuos y una vida comercial de hasta 35 días.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- FELKER, P.; Rodríguez, S.; Casóliba, R.; Filippini, R.; Medina, D.; Zapata, R. 2005. Comparison of *Opuntia ficus indica* varieties of Mexican and Argentine origin for fruit yield and quality in Argentina. *J. Arid Environments*. 60 (3): 405-422.
- MERAZ MALDONADO, N. 2012. Atmósferas modificadas en modalidad de microperforado, enterobacterias y residuos de plaguicidas en nopal verdura (*Opuntia ficus indica* L.). Tesis doctoral. <http://hdl.handle.net/10521/1819>.
- OCHOA, C. E. & Guerrero, J. 2012. Efecto del Almacenamiento a Diferentes Temperaturas sobre la Calidad de Tuna Roja (*Opuntia ficus indica* (L.) Miller) *Información Tecnológica* Vol. 23(1),117-128

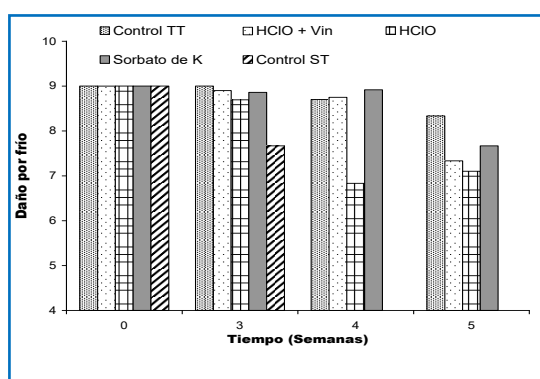
RODRÍGUEZ, S del C.; Casóliba, R.; Qüesta, A. and Felker, P. 2003. Effect of a hot water treatment and storage temperature on post harvest quality of two *Opuntia ficus indica* fruit clones. *Journal of Arid Environments*. 63 (2) 366-378.

RODRÍGUEZ, S del C.; Casóliba, R.; Qüesta, A. and Felker, 2005. Conservación refrigerada de dos variedades de tunas pretratadas térmicamente. *Actas del Congreso Latinoamericano de Ingeniería y Ciencias Aplicadas-Argentina*.

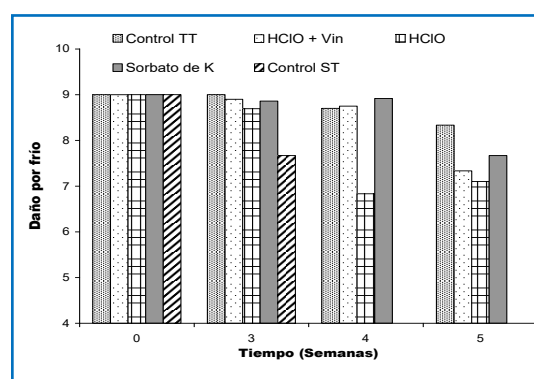
SAENZ, C. 2000. Processing technologies: an alternative for cactus pear (*Opuntia* spp) fruits and cladodes. *Journal of Arid Environments*. 46: 209-225.

SCHIRRA, M.; Brandolini, V.; Cabras, P.; Angioni, A.; Inglese, P. 2002. Thiabendazole uptake and storage performance of cactus pear (*Opuntia ficus indica* (L) Mill. Cv. Gialla) fruit following postharvest treatments with reduced doses of fungicide at 52C. *J. Agric. and Food Chem*. 50: 739-74.

## 7. TABLAS Y FIGURAS



**FIGURA 1.** Apariencia general de tunas tratadas con distintas soluciones previas al envasado y conservadas a 3 °C.  $DLS_{(\alpha=0,05)}: 0,71$



**FIGURA 2.** Evolución del desarrollo fíngico en tunas tratadas con distintas soluciones y almacenadas a 3 °C.  $DLS_{(\alpha=0,05)}: 0,63$

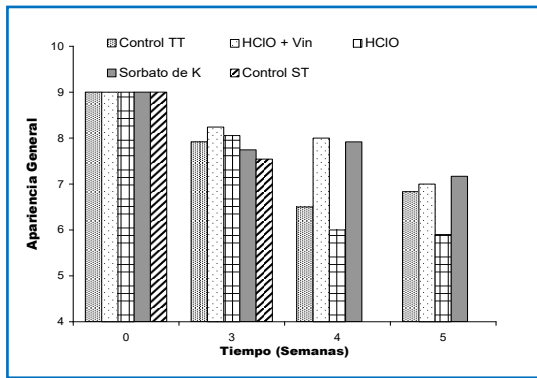


FIGURA 3. Incidencia del daño por frío en tunas tratadas con diferentes soluciones y conservadas a 3 °C. DLS  $_{(\alpha=0,05)}$ : 0,74

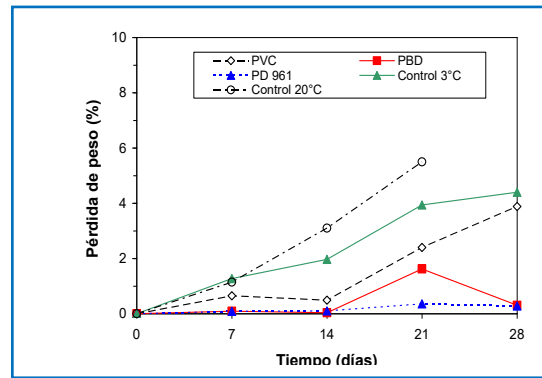


FIGURA 4. PP de tunas var. *Amarilla sin espinas*, durante el almacenamiento a 3 °C y recubiertas con diferentes películas plásticas. DLS  $_{(\alpha=0,05)}$ : 0,314

TABLA 1. Intensidad respiratoria de los frutos conservados a 5 °C y posteriormente transferidos a 20 °C. Los datos se expresan en ml de CO<sub>2</sub>/kg.h.

| Tiempo(días)     | PVC   | PBD   | PD 961 | Control a 3°C | Control a 20°C |
|------------------|-------|-------|--------|---------------|----------------|
| 7d + 2 d a 20°C  | 36.27 | 34.00 | 41.67  | 26.12         | 15.09          |
| 14d + 2 d a 20°C | 58.36 | 54.81 | 53.81  | 31.94         | 23.82          |
| 21d + 2 d a 20°C | 53.36 | 53.83 | 49.21  | 27.78         | SD*            |
| 28d + 2 d a 20°C | 4.68  | 80.15 | 45.33  | 20.66         | SD*            |

TABLA 2. Efecto de la dosis de luz UV-C en el porcentaje de tunas infectadas por hongos y porcentaje de Frutos dañados por frío y conservados 5 semanas a 3 y 20 °C. DLS  $_{(\alpha=0,05)}$ : 12

| Porcentaje                          | Dosis aplicadas      |                        |                      |                                 |
|-------------------------------------|----------------------|------------------------|----------------------|---------------------------------|
|                                     | 1 kJ.m <sup>-2</sup> | 2,5 kJ.m <sup>-2</sup> | 4 kJ.m <sup>-2</sup> | Control (0 kJ.m <sup>-2</sup> ) |
| Frutos a 3°C infectados con hongos  | 82                   | 79                     | 70                   | 80                              |
| Frutos a 20°C infectados con hongos | 100                  | 100                    | 87                   | 100                             |
| Frutos a 3°C con daño por frío      | 100                  | 92                     | 91                   | 98                              |

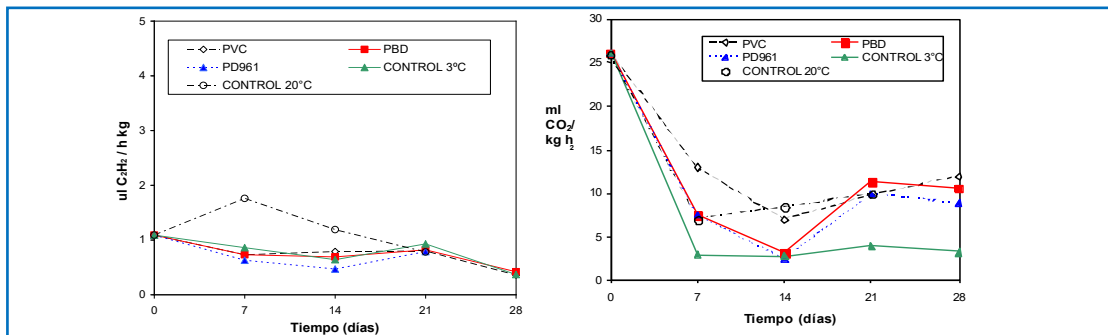
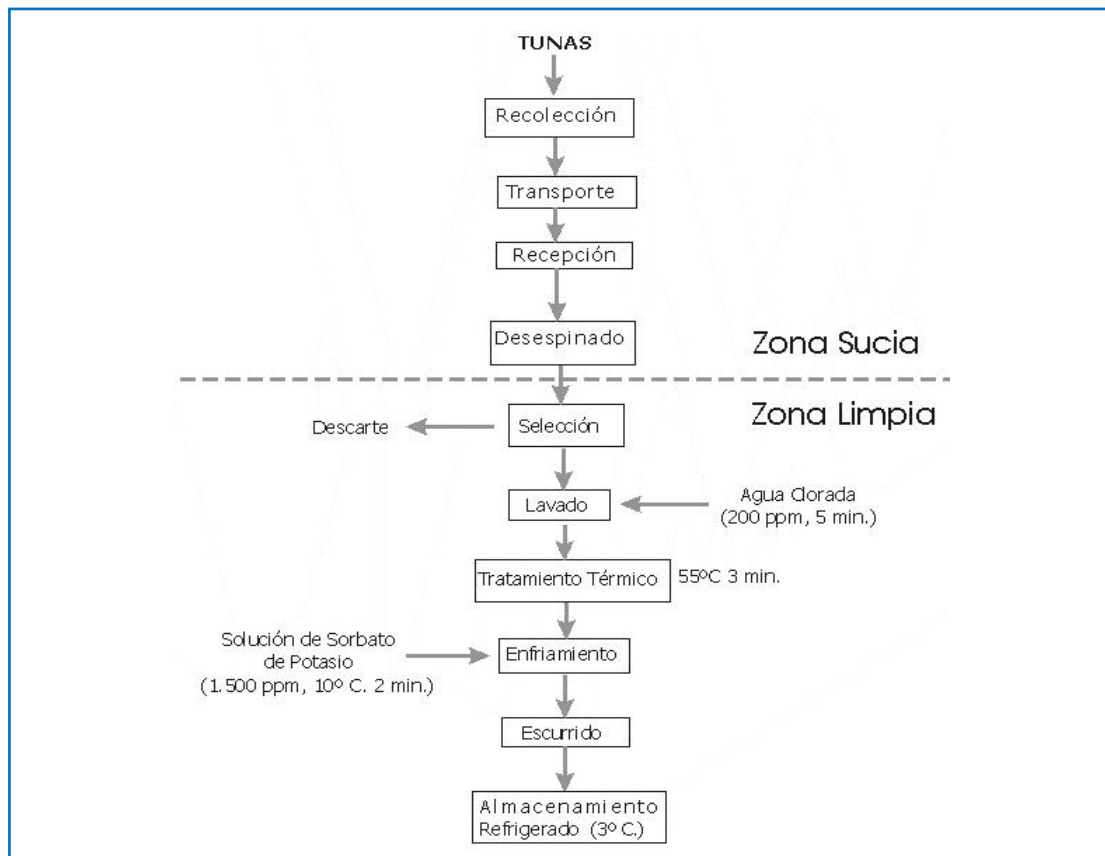


FIGURA 5. Producción de etileno e IR de tunas recubiertas con diferentes películas plásticas almacenadas a 3 °C. DLS Etileno  $_{(\alpha=0,05)}$ : 0,5; DLS IR  $_{(\alpha=0,05)}$ : 7,2



**FIGURA 6.** Diagrama de proceso propuesto aplicando tecnologías postcosecha sostenibles para prolongar la vida útil de tunas de la variedad amarillas sin espinas

# IMPACT OF THE DIET ON THE NUTRITIONAL COMPOSITION OF THE MEAT OF CHAROLAIS X NELORE CROSS STEERS OF BRAZIL

A. Biolatto<sup>1</sup>, A. Callegaro<sup>2</sup>, J. S. Vittone<sup>1</sup>, M. Lado<sup>1</sup>, I. Brondani<sup>2</sup>, D. Borchate<sup>2</sup>, J. M. Cocco<sup>2</sup>, S. Adams<sup>2</sup>, J. Klein<sup>2</sup>, A. F. Moura<sup>2</sup>

## 1. ABSTRACT

Fatty acid composition of the *Longissimus dorsi* muscle of thirty two 20 months old steers of Charolais x Nelore cross was evaluated. Steers were fed with the following diets: soybean hulls plus protein nucleus (SBH), white oats grain plus protein nucleus (WOG), a mixture with a protein concentrate basis and equal percent of soybean hulls and oat grains (SBH+WOG). Meat from steers fed with SBH showed higher amount of all saturated fatty acids than that of steers fed with WOG or SBH+WOG. In contrast, meat from steers fed with SBH showed higher amount of MUFA and *n*-3 PUFA, which are considered beneficial to human health, than those of steers fed with WOG or SBH+WOG. Moreover, meat from steers fed with SBH showed the lowest *n*-6/*n*-3 PUFA ratio.

## 2. INTRODUCTION

In most developed countries, meat is a staple food in human diet and contributes substantially to protein, fat, vitamin and mineral intake. For this reason, meat lipids are an important source of fatty acids (FAs) in the human diet. The FA composition of dietary fat is of great importance in human nutrition and health (FAO, 2010; WHO, 2003).

---

CONTACTO: A. Biolatto [biolatto.andrea@inta.gob.ar](mailto:biolatto.andrea@inta.gob.ar)

1. Estación Experimental Agropecuaria Concepción del Uruguay, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Ruta 39 km 143.5, 3260 Concepción del Uruguay, Entre Ríos, Argentina.

2. Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Ministério da Educação, Avenida Roraima, 1000 - Camobi, Santa Maria - RS, 97105-900, Brazil.



Recommendations to improve meat FA content and composition are based on scientific evidence indicating the positive and negative effects of fat and FA consumption. FAs, specifically myristic acid (14:0) and palmitic acid (16:0) are typically among the most concentrated FA in meat and have been associated with cardiovascular disease (CVD), colorectal cancer and type 2 diabetes (McAfee *et al.*, 2010). Polyunsaturated FAs, particularly *n*-3 PUFA such as  $\alpha$ -linolenic acid (ALA), eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA), have been reported to have positive effects on human health. They have the potential to reduce the CVD risk, Alzheimer disease, atherosclerosis, obesity, type II diabetes, osteoporosis, dry eye syndrome (McAfee *et al.*, 2010). The *c*-monounsaturated fatty acids (MUFAs) may also have beneficial health effects, including hypocholesterolemic, anti-thrombotic and anti-hypertensive properties (Feldman, 1999). Besides, there is evidence that some *trans* FA isomers may have positive health effects and be enriched in beef. Vaccenic acid (*t*11-18:1; VA) may have positive health effects either independently (Field *et al.*, 2009) or by  $\Delta$ -9 desaturation to rumenic acid (*c*9,*t*11-18:2, RA, the main natural isomer of conjugated linoleic acid, CLA), which has purported anti-carcinogenic, anti-diabetic, cardio-protective, antitherogetic, anti-inflammatory and positive immune modulatory properties (Benjamin & Spener, 2009). Therefore, there has been an effort to produce livestock with improved FA profile that are beneficial to human health. Effects of nutritional management on the FA profile of intramuscular fat of meat have been extensively studied (Freitas, 2014; Pordomingo *et al.*, 2012; Alfaia *et al.*, 2009, García *et al.*, 2008, Descalzo *et al.*, 2005). The aim of this work was to evaluate the effect of feeding on the FA composition of *M. Longissimus dorsi* of Charolais x Nelore cross steers of Brazil.

### 3. MATERIALS AND METHODS

#### ANIMALS AND EXPERIMENTAL DESIGN

This work was carried out between June and November of 2011 in the Beef Lab of the Animal Science Department of the Santa Maria University (Santa Maria, Rio Grande do Sul, 29° 43' S, 53° 42' W and 95 m altitude, in the Depressão Central of Rio Grande do Sul State, Brazil). The experimental animals were thirty two 20 months old steers of Charolais x Nelore cross of 275.09 kg average weight, supplied

by the experimental herd of the Beef Cattle Lab. Finishing was carried out in feedlot with 12 m<sup>2</sup> paved individual boxes with feeders to supply feed.

Steers were assigned to three different feeding 100 % concentrate treatments with a protein nucleus and a calcium supply. Feeding treatments were designed according to NRC (1996) and an estimated intake of 2.54 kg/100kg live weight with isonitrogen diets, as follow: soybean hulls plus protein nucleus (SBH), white oats grain plus protein nucleus (WOG), a mixture with a protein concentrate basis and equal percent of soybean hulls and oat grains (SBH+WOG). Steers fed with mixture of white oats were sent to the packing house after 92 days of the experimental period, whereas those fed with soybean hulls were sent to the packing house after 109 days of the experimental period. Steers were sent to the commercial packing house and processed according the Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) and killing out packing house routine. After de killing out process the carcasses were cut by halves (right and left carcasses) and weighed. The cold carcass weight was assessed after of 24 h refrigeration and yield was estimated in relation to the killing weight. In the right half carcass the *Longissimus dorsi* muscle was cut between the 12th and 13th ribs in order to obtain the so called “Section HH” according the methodology suggested by Hankins & Howe (1946) and adapted by Müller (1973).

#### **ANALYTICAL PROCEDURES**

The sample from the *Longissimus dorsi* muscle was identified and frozen for the FA profile to be analyzed in the laboratory of the Estación Experimental Agropecuaria, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Concepción del Uruguay, Argentina.

#### **FATTY ACID ANALYSIS**

Meat samples were cut in rectangular strips with a razor blade and processed in wet state by the direct FA methyl esters (FAME) synthesis method according to O' Fallon *et al.* (2007). FAME were analyzed with a gas chromatograph PerkinElmer Clarus 680 model equipped with a flame ionization detector and a CombiPal automatic injection system and separated with a HP-88 for FAME capillary column (100 m × 0.25 mm i.d., 0.25 m film thickness). The FAME preparation was injected in the split mode with a split ratio of 1:65. Nitrogen was used as the carrier gas with a 1.0 mL/min flow rate. Injector and detector were kept at constant temperatures

of 250 °C and 270 °C, respectively. The column oven temperature was increased at 4 °C/min of 80 °C to 220 °C and held for 5 min, increased to 240 °C at 2 °C/min and held for 10 min. Identification was performed by comparing the retention time of unknown FAME from samples with those of 37 FAME standard mix (Sigma-Aldrich Co. LLC., Argentina). CLA was identified using a standard consisting of a mixture of *cis*- and *trans*-9,11- and -10,12-octadecadienoic acid methyl esters (O5632, Sigma-Aldrich Co. LLC., Argentina). Quantitative analysis of FAME was based on undecanoic acid as internal standard.

#### 4. RESULTS AND DISCUSSION

Meat lipids are not generally regarded as a healthy component of the human diet. There are concerns about its relatively high concentrations of hypercholesterolemic saturated fatty acids (SFA) and low concentration of hypocholesterolemic PUFAs.

Meat from steers fed with SBH showed, in general, higher amount of SFAs than meat from steers fed with WOG or SBH+WOG (Table 1). The amount of C14:0, a hypercholesterolemic and thrombogenic fatty acid, was higher in meat from steers fed with SBH than that of meat from steers fed with WOG, but similar to that of meat from steers fed with WOG+SBH. The amount of C16:0, another hypercholesterolemic and thrombogenic fatty acid, was higher in meat from steers fed with SBH than that of meat from steers fed with the other diets.

PUFA and MUFA fractions are generally considered beneficial to human health (Scollan *et al.*, 2006). Meat from steers fed with SBH showed higher amount of MUFA than meat from steers fed with WOG or SBH+WOG. However, the different diets studied showed similar amount of PUFA (Table 1).

The last years, it has noticed a growing interest in *n*-3 PUFA prompted by increasing evidence that these PUFA elicit a wide range of nutritional benefits in the human body. Meat from steers fed with SBH showed higher amount of *n*-3 PUFA than meat from steers fed with WOG or SBH+WOG (Table 1).

The *n*-6/*n*-3 PUFA ratio is an important index to evaluate the nutritional value of fat. According to the World Health Organization (WHO, 2003), the *n*-6/*n*-3 PUFA ratio should be lower than four in human diet. Despite the *n*-6/*n*-3 PUFA ratio in meat from steers fed with SBH was slightly higher than the recommended value by WHO, the ratio was lower than that of meat from steers fed with the other diets.

#### 4. CONCLUSIONS

Our results support that the diet is an important factor that affects the fatty acid profile of meat. From a nutritional point of view, meat from steers fed with soybean hulls appears to be more healthful than meat from steers fed with white oats grain or a mixture of equal percent of soybean hulls and oat grains because of its lower *n-6/n-3* ratio. The contribution of meat to dietary intake of SFA, MUFA and PUFA is an important issue to consumers and consequently the meat industry. Further research should be driving at in order to improve beef nutritional quality, very especially the attributes to develop a functional food.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

This work was financed by Universidade Federal de Santa Maria, Brazil. Fatty acid composition analysis, referred in this work, was financed by the National Project (PNAIyAV 1130043) of Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Argentina.

#### 5. REFERENCES

- ALFAIA C. P. M.; Alves S. P.; Martins S. I. V.; Costa A. S. H.; Fontes C. M. G. A.; Lemos J. P. C.; Bessa R. J. B. & Prates J. A. M. (2009). Effect of the feeding systems on intramuscular fatty acids and conjugated linoleic acid isomers of beef cattle, with emphasis on their nutritional value and discriminatory ability. *Food Chemistry* 114: 939-946.
- BENJAMIN S. & Spener F. (2009). Conjugated linoleic acids as functional food: An insight into their health benefits. *Nutrition & Metabolism* 6: 36.
- DESCALZO A. M., Insani E. M., Biolatto A., Sancho A. M., García P. T., Pensel A. M., Josifovich J. A. (2005). Influence of pasture or grain based diets supplemented with vitamin E on antioxidant/oxidative balance of Argentine beef. *Meat Science* 70: 35-44.
- FAO (2010). Fats and fatty acids in human nutrition. FAO report of an expert consultation. FAO Food and Nutrition paper. vol. 91. Rome. Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- FELDMAN E. B. (1999). Assorted monounsaturated fatty acids promote healthy hearts. *American Journal of Clinical Nutrition* 70: 953-954.
- FIELD C. J.; Blewett H. H.; Proctor S. & Vine D. (2009). Human health benefits of vaccenic acid. *Applied Physiology Nutrition and Metabolism* 34: 979-991.

- FREITAS A. K. (2014). Nutritional composition of the meat of Hereford and Braford steers finished on pastures or in a feedlot in southern Brazil. *Meat Science* 96: 353-360.
- GARCÍA P. T.; Pensel N. A., Sancho A. M., Latimori A. M., Kloster A. M., Amigone M. A., Casal J. J. (2008). Beef lipids in relation to animal breed and nutrition in Argentina. *Meat Science* 79: 500-508.
- HANKINS P. & Howe. P.E. Estimation of composition of beef carcasses and cuts. Technical Bulletin. 926. United States Department of Agriculture. Washington. D.C., 1946.
- MCAFEE A. J.; McSorley E. M.; Cuskelly G. J.; Moss B. W.; Wallace J. M. W.; Bonham M. P. & Fearon A. M. (2010). Red meat consumption: An overview of the risks and benefits. *Meat Science* 84: 1-13
- MÜLLER. L. Técnicas para determinar la composición de la canal. Memoria de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal. Guadalajara: 1973.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. Nutrient requirements of beef cattle. 7 th. Washington D. C.: 1996. 244 p.
- O`FALLON J. V.; Busboom J. R.; Nelson M. L. & Gaskins. C. T. (2007). A direct method for fatty acid methyl ester synthesis: Application to wet meat tissues, oils and feedstuffs. *Journal of Animal Science* 85: 1511-1521.
- PORDOMINGO A. J.; García T. P. & Volpi Lagreca G. (2012). Effect of feeding treatment during the backgrounding phase of beef production from pasture on: II. *Longissimus* muscle proximate composition, cholesterol and fatty acids. *Meat Science* 90: 947-955.
- SCOLLAN N.; Hocquette J.F.; Nuernberg K.; Dannenberger D.; Richardson I. & Moloney. A. (2006). Innovations in beef production systems that enhance the nutritional and health value of beef lipids and their relationship with meat quality. *Meat Science* 74: 1-17.
- WHO (2003). Diet. nutrition and the prevention of chronic diseases. WHO Technical report Series 916. Geneva. Switzerland.

## 6. TABLES AND FIGURES

**TABLE 1.** Fatty acid profile of *Longissimus dorsi* muscle of Charolais x Nelore cross steers according to different diets, in mg/100 g muscle (mean  $\pm$  s.e.)

|  | SBH                | WOG                | SBH+WOG            |
|--|--------------------|--------------------|--------------------|
| C14:0                                      | 58.9 $\pm$ 5.1     | 52.9 $\pm$ 6.6     | 60.1 $\pm$ 8.6     |
| C14:1                                      | 11.1 $\pm$ 1.1     | 10.3 $\pm$ 1.7     | 12.4 $\pm$ 1.6     |
| C15:0                                      | 12.5 $\pm$ 2.7     | 10.3 $\pm$ 1.2     | 6.9 $\pm$ 1.7      |
| C16:0                                      | 689.4 $\pm$ 85.2   | 591.7 $\pm$ 65.9   | 604.2 $\pm$ 71.2   |
| C16:1                                      | 77.3 $\pm$ 6.6     | 61.0 $\pm$ 10.2    | 72.7 $\pm$ 7.0     |
| C17:0                                      | 40.2 $\pm$ 8.4     | 27.8 $\pm$ 2.9     | 19.3 $\pm$ 4.3     |
| C18:0                                      | 460.0 $\pm$ 74.0   | 465.9 $\pm$ 40.1   | 386.8 $\pm$ 81.2   |
| C18:1 <i>n</i> -9 <sup>c</sup>             | 1060.5 $\pm$ 189.7 | 959.2 $\pm$ 123.8  | 871.0 $\pm$ 94.3   |
| C18:2 <i>n</i> -6 <sup>c</sup>             | 132.5 $\pm$ 6.7    | 138.1 $\pm$ 6.9    | 135.3 $\pm$ 17.5   |
| C18:3 <i>n</i> -6                          | 3.9 $\pm$ 0.7      | 4.1 $\pm$ 0.3      | 4.0 $\pm$ 1.1      |
| C20:0                                      | 3.1 $\pm$ 0.4      | 2.9 $\pm$ 0.2      | 2.1 $\pm$ 0.6      |
| C18:3 <i>n</i> -3                          | 19.9 $\pm$ 2.3     | 11.2 $\pm$ 1.0     | 12.3 $\pm$ 2.3     |
| C20:1                                      | 4.3 $\pm$ 1.2      | 4.3 $\pm$ 0.7      | 3.8 $\pm$ 0.6      |
| C18:2 <i>c</i> 9, <i>t</i> 11 <sup>a</sup> | 3.3 $\pm$ 0.2      | 5.0 $\pm$ 0.7      | 5.6 $\pm$ 1.1      |
| C20:2                                      | 2.1 $\pm$ 0.6      | 1.6 $\pm$ 0.5      | 2.3 $\pm$ 0.8      |
| C22:1 <i>n</i> -9                          | 48.9 $\pm$ 1.3     | 52.3 $\pm$ 3.1     | 42.1 $\pm$ 4.4     |
| C22:2                                      | 10.7 $\pm$ 0.6     | 9.7 $\pm$ 0.8      | 11.0 $\pm$ 2.8     |
| C22:6 <i>n</i> -3                          | 5.8 $\pm$ 1.3      | 5.0 $\pm$ 0.5      | 5.9 $\pm$ 1.7      |
| SFA <sup>b</sup>                           | 1264.1 $\pm$ 173.5 | 1151.5 $\pm$ 109.9 | 1079.4 $\pm$ 163.1 |
| MUFA <sup>c</sup>                          | 1202.1 $\pm$ 196.7 | 1087.1 $\pm$ 138.8 | 1001.9 $\pm$ 100.8 |
| PUFA <sup>d</sup>                          | 178.2 $\pm$ 9.3    | 174.7 $\pm$ 9.0    | 176.6 $\pm$ 23.8   |
| <i>n</i> -6 <sup>e</sup>                   | 136.4 $\pm$ 7.1    | 142.1 $\pm$ 7.1    | 139.3 $\pm$ 18.4   |
| <i>n</i> -3 <sup>f</sup>                   | 25.7 $\pm$ 2.6     | 16.3 $\pm$ 1.2     | 18.3 $\pm$ 3.0     |
| <i>n</i> -6/ <i>n</i> -3                   | 5.4 $\pm$ 0.4      | 8.8 $\pm$ 0.4      | 7.9 $\pm$ 0.7      |

<sup>a</sup>CLA: conjugated linoleic acid.

<sup>b</sup>SFA = C14:0 + C15:0 + C16:0 + C17:0 + C18:0 + C20:0.

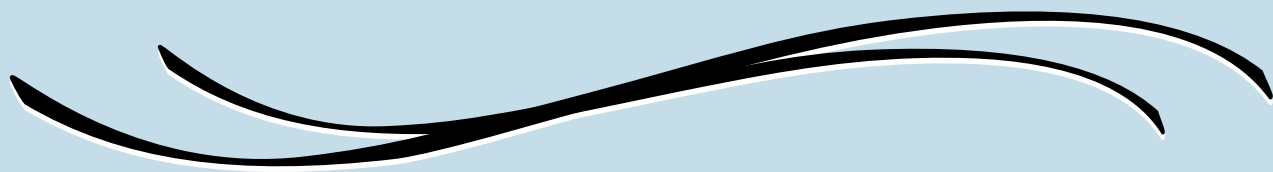
<sup>c</sup>MUFA = C14:1 + C16:1 + C18:1 *n*-9 *cis* + C20:1 + C22:1 *n*-9.

<sup>d</sup>PUFA = C18:2 *n*-6 *cis* + C18:3 *n*-6 + C18:3 *n*-3 + C18:2 *c*9, *t*11 + C20:2 + C22:2 + C22:6 *n*-3.

<sup>e</sup>*n*-6 = C18:2 *n*-6 *cis* + C18:3 *n*-6.

<sup>f</sup>*n*-3 = C18:3 *n*-3 + C22:6 *n*-3.

## Health and Welfare



[Volver al índice](#)

# IN VIVO ANTI-INFLAMMATORY AND IN VITRO ANTI-OXIDANT ACTIVITIES OF THE RED (*PSIDIUM CATTLEYANUM*) AND YELLOW (*P. CATTLEYANUM* VAR. *LUCIDUM* HORT.) ARAÇÁ FRUITS

María Rosana Ramírez<sup>1,2</sup>, Miriam Apel<sup>2</sup>, Amelia Henriques<sup>2</sup>, José Ángel Zuanazzi<sup>2</sup>

## 1. ABSTRACT

Diverse chemical entities from fruits have been shown to reduce the oxidative stress-associated inflammatory diseases, and there may be synergistic or additive effects due to the unique chemical compound contained in these foods. Strawberry guava (*Psidium cattleianum* Sabine) is a native fruit of Brazil (Myrtaceae), and is used traditionally for the management, and treatment of an array of human disorders. In this study, *P. cattleianum* fruits from nine different genotypes (currently grown in Brazil) were investigated for their *in vitro* antichemotactic activity, their antioxidant activity and their total polyphenolic content. The *in vivo* anti-inflammatory effect of *P. cattleianum* juice was investigated in rats by the carrageenan-induced paw edema method using indomethacin (5 mg/kg, p.o.) as a reference compound. Total polyphenolic content was estimated using the Folin-Ciocalteu colorimetric method. The antioxidant activity was determined by 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) method and the results were expressed as percent inhibition of radical formation after 30 min of reaction time. The chemotaxis assay was performed using a 48-well chamber, as described by Boyden (1962). The antiedematogenic effects of *P. cattleianum* juice were evaluated according to the method of Winter *et al.* (1962). For this, Wistar rats were divided into a control group that drank water and six groups which drank water supplemented with *P. cattleianum* extract (administered orally for 21 day). After that, rats were anesthetized and injected subplantarily into the right hind paw with 0.1 mL of carrageenan suspension in isotonic saline. The left

---

CONTACTO: María Rosana Ramírez [mariarosana@yahoo.com.br](mailto:mariarosana@yahoo.com.br)

1. CITER-CONICET. National University of Entre Ríos, Argentina.

2. Faculty of Pharmaceutical Science, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil.



hind paw was injected with 0.1 mL of saline and used as a control. Paw volume was measured prior to and 1, 2, 3 and 4 h after carrageenan administration using a mercury plethysmograph. The difference between the readings at time 0 h and different time interval was taken as the thickness of edema, and were expressed as percent inhibition. *P. cattleyanum* cultivars showed similar antichemotactic and antioxidant activities and different total polyphenolic contents. Oral administration of juice suppressed the edematous response after carrageenan injection (1000-250 mg Kg<sup>-1</sup>). The observed effects were quite similar to that exhibited by the group treated with indomethacin (62 and 57 % respectively). In conclusion, the findings show that this exotic fruit may be a good source of anti-inflammatory and antioxidant agents.

## 2. INTRODUCTION

The *Psidium cattleyanum* Sabine (Myrtaceae), is native to the Brazilian forest, however, it is currently found in various parts of the world, because it is adaptable to almost all edaphoclimatic conditions. This species is commonly referred to as strawberry guava, araçá or cattley guava. The main cultivars in Brazil are the *P. cattleyanum*, which produces red fruits and the *P. cattleyanum* var. *lucid* Hort. most commonly known as yellow araçá. These fruits can be consumed raw to take advantage of their high vitamin value, or they can be used for juice, jam and jellies. They are, low energy fruits, rich in fiber and phytochemicals, and have been studied for their possible functional effects on human health (Costa *et al.*, 2008). Traditionally, the leaves, fruit and bark of *P. cattleyanum* are used for gastrointestinal disorders, infections, and other medicinal purposes. Scientific investigations have described the beneficial effects of *Psidium* leaves and fruits phytochemicals, including the suppression of cancer proliferation in several human cancer cell lines (SNU-16, MCF-7, Caco-2), reduction of oxidative stress *in vitro* and in animal models. Inhibition of cyclooxygenase-2 enzyme activity *in vitro*, improved postprandial glycemia in human and enhanced mRNA expression levels of metabolism related genes (Ramirez *et al.*, 2012; McCook-Russell KP *et al.*, 2012). The bioactive chemical components in *P. cattleyanum* include phenolic compounds, essential oils, tannins, flavonoids, anthocyanins and carotenoids (Pino *et al.*, 2001; Ramirez *et al.*, 2009). On the basis of these common uses of this species in traditional medicine and its above reported activities in the literature, we have evaluated the anti-inflammatory properties of

both cultivars of *P. cattleyanum* in carrageenan-induced paw edema and anti-chemotactic test, in rats. Additionally, *P. cattleyanum* fruits have been analyzed for their antioxidant capacity and total polyphenolic contents, using spectrophotometric methods.

### 3. MATERIALS AND METHODS

**Fruit material and extraction:** fruits cultivated in the experimental field of the Institute of Brazilian Agricultural Research Corporation (germplasm Embrapa, Pelotas, Brazil), were used in the experiments. Red and yellow *P. cattleyanum* (genotypes 03, 88, 19, 90, 87, 102 and 14, 15, 23 respectively) were triturated mechanically and later lyophilized and kept in the dark ( $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Powdered fruit material was extracted with ethanol at room temperature. After filtration, the solvent from the extracts was evaporated under vacuum to give the total ethanolic extract.

**Total polyphenolics compounds:** total polyphenolic content was estimated using the Folin-Ciocalteu colorimetric method described previously in Brazilian Pharmacopoeia (2003). The content of flavonoids in the examined fruit extracts was determined using colorimetric method with aluminum chloride. The amounts of polyphenols or flavonoids were calculated as  $\text{mg } 100\text{ g}^{-1}$ .

**Radical-scavenging activity:** the stock solution of extracts was prepared in ethanol to achieve the concentration of  $1\text{ mg mL}^{-1}$ . Diluted solutions were mixed with ethanolic solution of  $\alpha,\alpha$ -diphenyl- $\beta$ -picrylhydrazyl ( $100\text{ }\mu\text{M}$ ). After allowing the reaction to take place, the absorbance was measured on a spectrophotometer and compared with that Trolox (Ramirez *et al.*, 2010).

**Antichemotactic Assay:** this test was performed as described by various authors (Boyden 1962, Zigmond and Hirsch 1982). To obtain the polymorphonuclear neutrophils, 20 mL of sterile 1% glycogen (w/v) was injected into the peritoneum of a rat. Four hours later, the rat was killed and the leukocytes were collected after the injection of 60 mL of Hanks' balanced salt solution (HBSS), containing  $1\text{ mL}^{-1}$  heparin. The supernatant was centrifuged at  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  for 10 min. The cell suspension was transferred to different tubes, treated separately with each extract at a different concentration ( $15\text{-}5\text{ }\mu\text{g }\mu\text{L}^{-1}$  of total extract). For the collection of plasma and chemotactic stimulation, five rats were anesthetized with ether, blood was collected from this vessel into a syringe containing  $1\text{ mL}^{-1}$  heparin. The plasma was removed

and incubated at 37 °C for 30 min with a 65 mg mL<sup>-1</sup> solution of LPS from *Escherichia coli* and then diluted in HBSS (1:5) (Ramirez *et al.*, 2010).

**Carrageenan-Induced Paw Edema Test Animals:** Wistar rats were randomized into eight groups of eight each (Winter 1962). The control group which drank water ad libitum and six groups which drank water supplemented with total extract for 21 day (1000, 500, 250 mg Kg<sup>-1</sup>). Indomethacin (5 mg/Kg<sup>-1</sup>, p.o.) was used as the reference drug. Carrageenan suspended in sterile saline was injected into the plantar tissue of the right hind paw. Paw volume was measured immediately after carrageenan injection (time 0) and at 1, 2, 3 and 4 h using a plethysmometer (Ugo Basile, Italy). Edema was express as the mean increase in paw volume relative to control animals (%). At the end of paw edema, the liver, kidney, heart, and brain were dissected out immediately and weighed for toxicological analyses (morphological) (Ramirez *et al.*, 2012).

**Analysis of Data:** for the antichemotactic assay, data are expressed as mean and deviation (S.D.) and were expressed as a percentage of the maximal chemotaxis towards reference chemoattractant (LPS). For paw edema data are expressed as the mean ± S.E. The data were submitted to statistical analysis by ANOVA, followed by Student's t-test or Newman Keuls test, (p < 0.05).

#### 4. RESULTS AND DISCUSSION

In this study, the total polyphenol content of 9 samples of red and yellow araçá cultivated in Brazil, was analyzed. As shown in Table 1, the total polyphenol content in cattley guava was found to vary from 914 to 383 mg 100 g<sup>-1</sup> fruit lyophilized. *P. cattleyanum* cultivars from southern Brazil studied by our laboratory had a total polyphenolic content of up to 501.33 and 292.03 mg 100 g<sup>-1</sup> fresh fruit, similar to the results found in this study (Biegelmeier *et al.*, 2012). Other authors have reported the total polyphenol content in Brazilian cultivars, which had an average of 768 mg 100 g<sup>-1</sup> fresh fruit, a value comparatively higher than the average obtained in this work, but in that case, different extraction and quantification methods were employed. As can be observed in Table 1, total flavonoids content ranged from 16 to 22 mg 100 g<sup>-1</sup>, no significant differences were found in the flavonoids content among the cultivars analyzed. Our results were generally different according to literature findings (Medina *et al.*, 2011). The observed differences may be probably

due to different environmental and genetic factors, as well as other factors that can influence the phytochemical content. Scientific studies reported the antioxidant and anti-chemotactic property of *P. cattleyanum*, and some other studies reported the isolation of bioactive phytochemicals with antioxidant and anti-inflammatory activities from *P. cattleyanum*. In the present study, the antioxidant and anti-chemotactic activity of fruit extracts of different cultivars of *P. cattleyanum* were investigated, nevertheless, the findings in this study were in agreement with these reports (Medina *et al.*, 2011; McCook-Russell KP *et al.*, 2012). Total extracts of the *P. cattleyanum* fruits demonstrated the strongest radical scavenging activity. When comparing cultivars, in general, the red araçá presented higher antioxidant activity, varying from 73.3 % (PR 19) to 76.3 % (PR 102) of inhibition of the DPPH radical, while yellow fruit provided 68.7 % (PY 23) to 72.6 % (PY 15) of inhibition. We observed that a dose-response relationship is found in DPPH radical scavenging activity for ethanolic extract. These results suggest that combinational action of polyphenolic compounds contributes to the antioxidant activity of *P. cattleyanum* fruits. Total extract from *P. cattleyanum* highly inhibited the leukocyte migration, *in vitro*, in a dose-dependent manner (Figure 2). In general, both the yellow and the red extract demonstrated similar effects *in vitro*, 45 to 50 % approximately. The extracts of *P. cattleyanum* showed a dose dependent response with an anti-chemotactic activity similar to that observed with indomethacin, a nonsteroidal anti-inflammatory drug. These results are consistent with previous investigations from our and others laboratories (Biegelmeyer *et al.*, 2012; McCook-Russell KP *et al.*, 2012). We then utilized the carrageenan-induced paw edema test to examine the anti-inflammatory effect of *P. cattleyanum* extracts. According to Table 2, oral administration of araçá significantly suppressed in a dose-dependent manner the anti-inflammatory response in the early and late phases of the edema test. At 4 h after carrageenan administration, araçá doses of 500 and 1000 mg kg<sup>-1</sup> resulted in inhibition of edema of 57 % to 65 %, respectively. *P. cattleyanum* presents compelling anti-edematogenic efficacy in rats. Its capacity for regulating these events is likely to be attributable to the scavenging of reactive oxygen species, the inhibition of leukocytes migration and the inhibition of cyclooxygenase as previously reported in other studies (McCook-Russell KP *et al.*, 2012). The results regarding toxicological test were not statistically different from the control animals. No significant differences between the groups tested were observed.

## 5. CONCLUSIONS

In conclusion, the results demonstrate that the *Psidium cattleianum* fruit, in the juice form in which it is consumed by humans contains a rich heterogeneous mixture of chemical constituents which may provide a basis for the potential health benefits, and highlights the possible use of the juice/fruit as functional food.

## 6. REFERENCES

- PINO JA, Marbot R, Vazquez C (2001). Characterization of volatiles in strawberry guava (*Psidium cattleianum* Sabine) fruit. *J Agric Food Chem.* 49:5883-5887.
- RAMIREZ MR, Henriques AT, Raseira MCB, Zuanazzi JA. Estudo Fitoquímico das Frutas de *Psidium cattleianum* Sabine e *Eugenia pyriformis* Cambess. Summaries of the Brazilian Society of Chemistry 2009 (32a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. Fortaleza, Brasil) CD room.
- COSTA TDA, Vieira S, Andrade SF, Maistro EL (2008). Absence of mutagenicity effects of *Psidium cattleianum* Sabine (Myrtaceae) extract on peripheral blood and bone marrow cells of mice. *Genet. Mol. Res.* 7:679-686.
- MEDINA AL, Haas LIR, Chaves FC, Salvador M, Zambiasi RC, da Silva WP, Nora L, *et al.* (2011). Araca (*Psidium cattleianum* Sabine) fruit extracts with antioxidant and antimicrobial activities and antiproliferative effect on human cancer cells. *Food Chem.* 128:916-922.
- RAMIREZ MR, Zanchin NIT, Henriques AT, Zuanazzi JAS (2012). Study of the effects of *Psidium cattleianum* on gene expression from senescent mouse hippocampus. *BLACPMA.* 11:127-137.
- MCCOOK-RUSSELL KP, Nair MG, Facey PC, Bowen-Forbes CS (2012). Nutritional and nutraceutical comparison of Jamaican *Psidium cattleianum* (strawberry guava) and *Psidium guajava* (common guava) fruits. *Food Chem.* 134:1069-1073.
- BRAZILIAN PHARMACOPOEIA 5 fasciculo 2003. CD ROM.
- Ramirez MR, Apel MA, Raseira MCB, Zuanazzi JAS, Henriques AT (2010). Polyphenols content and evaluation of antichemotactic, antiedematogenic and antioxidant activities of *Rubus* sp. cultivars. *J. Food Biochem.* 35:1389-1397.
- BOYDEN S. (1962). The chemotactic effect of mixtures of antibody and antigen on polymorphonuclear leukocytes. *J Exp Med.* 115:453-466.

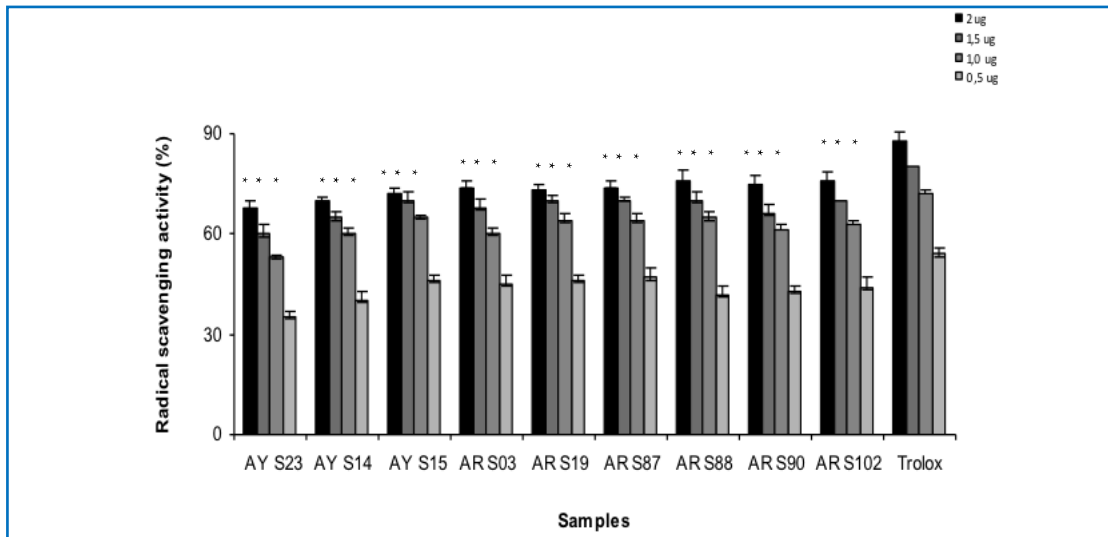
- ZIGMOND SH, Hirsch JG (1981). Cell polarity: An examination of its behavioral expression and its consequences for polymorphonuclear leukocyte chemotaxis. *J Cell Biol.* 89:585-592.
- WINTER CA, Risley EA, Nuss GW (1962). Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for anti-inflammatory drugs. *Proc Soc Exp Biol Med.* 111:244-247.
- BIEGELMEYER R, Andrade JMM, Aboy AL, Apel MA, Dresch RR, Marin R, *et al.* (2011). Comparative analysis of the chemical composition and antioxidant activity of red (*Psidium cattleianum*) and Yellow (*Psidium cattleianum* var. *lucid*) Strawberry Guava Fruit. *J Food Sci.* 76:C991-C996.
- NIJVELDT RJ, Van Nood E, Van Hoorn DEC, Boelens PG, Van Norren K, Van Leeuwen PAM, (2001). Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am J Clin Nutr.* 74, 418-425.

## 7. TABLES AND FIGURES

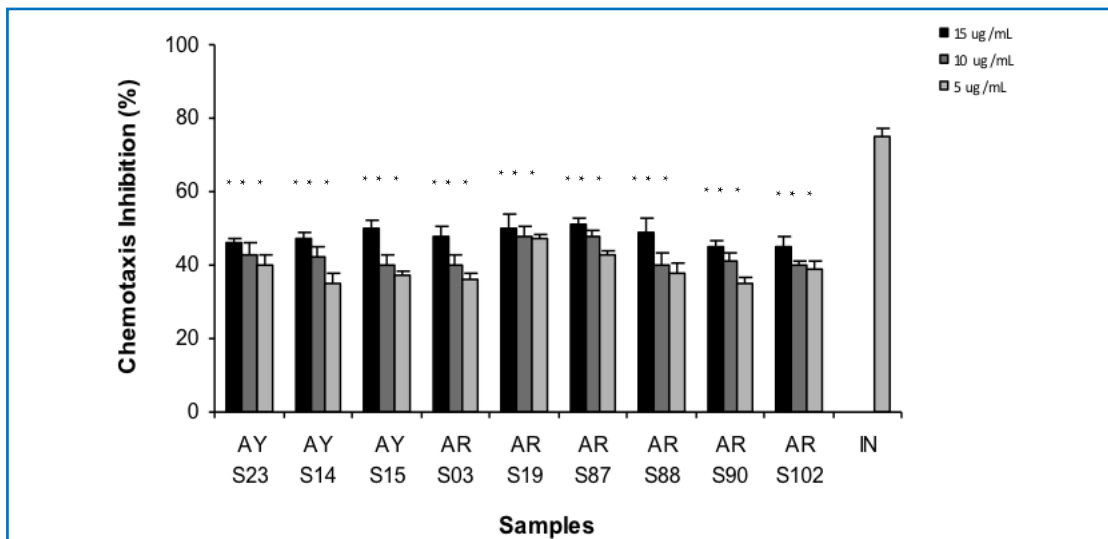
**TABLE 1.** Assessment of contents of total Polyphenols and Flavonoids

| CULTIVARS | POLYPHENOLS | FLAVONOIDS |
|-----------|-------------|------------|
| PY 15     | 829 ± 3.94  | 21 ± 4.11  |
| PY 14     | 584 ± 3.46  | 16 ± 4.02  |
| PY 23     | 383 ± 3.98  | 20 ± 3.99  |
| PR 03     | 455 ± 4.18  | 20 ± 4.48  |
| PR 88     | 732 ± 3.14  | 21 ± 4.65  |
| PR 19     | 523 ± 2.63  | 22 ± 3.74  |
| PR 90     | 793 ± 3.37  | 22 ± 4.85  |
| PR 87     | 914 ± 4.52  | 20 ± 2.99  |
| PR 102    | 781 ± 4.12  | 19 ± 3.86  |

Concentration are expressed in mg 100 g<sup>-1</sup> of lyophilized fruit (sd). Values are averages of triplicate analyses, p≤0.05. PR: araçá red, PY: araçá yellow.



**FIGURE 1.** Antioxidant capacity of araçá extracts. Values are the means of three replicates and expressed as % inhibition of DPPH radical. Trolox was used as a control. Asterisks indicate a significant difference in relation to control ( $p < 0.05$ )



**FIGURE 2.** Effects of extracts tested on the in vitro chemotaxis of polymorphonuclear neutrophils towards lipopolysaccharide (LPS). Chemotaxis in the presence of test compounds is expressed as the percentage of the maximal chemotaxis to LPS in the same experiment. Data are expressed as means  $\pm$  S.D. of 10 separate measurements. Positive control: Indomethacine, (IN) asterisks indicate a significant difference in relation to total control ( $p < 0.05$ )

**TABLE 2.** Changes in edema volume (dm) from 1-4 h after carrageenan administration following oral administration of various doses of *P. catleianum* (1000-250mg kg<sup>1</sup>)

| GROUPS<br>(dose g/Kg <sup>-1</sup> ) | EDEMA                 |                       |                       |                        |
|--------------------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|------------------------|
|                                      | 1h                    | 2h                    | 3h                    | 4h                     |
| NS                                   | 1.03 ± 0.23           | 1.25 ± 0.27           | 1.75 ± 0.10           | 1.79 ± 0.17            |
| IN                                   | 0.70 ± 0.23<br>(54 %) | 0.90 ± 0.22<br>(28 %) | 0.81 ± 0.22<br>(32 %) | 0.61 ± 0.13<br>(66 %)  |
| PY <sup>1</sup>                      | 0.61 ± 0.19<br>(64 %) | 0.59 ± 0.18<br>(53 %) | 0.63 ± 0.15<br>(41 %) | 0.68 ± 0.19*<br>(62 %) |
| PY <sup>0.5</sup>                    | 0.70 ± 0.13<br>(60 %) | 0.72 ± 0.11<br>(42 %) | 0.69 ± 0.17<br>(30 %) | 0.65 ± 0.18*<br>(64 %) |
| PY <sup>0.25</sup>                   | 0.76 ± 0.22<br>(58 %) | 0.82 ± 0.15<br>(34 %) | 0.74 ± 0.19<br>(26 %) | 0.76 ± 0.14*<br>(57 %) |
| PR <sup>1</sup>                      | 0.64 ± 0.11<br>(61 %) | 0.72 ± 0.13<br>(42 %) | 0.68 ± 0.15<br>(38 %) | 0.63 ± 0.12*<br>(65 %) |
| PR <sup>0.5</sup>                    | 0.67 ± 0.23<br>(55 %) | 0.81 ± 0.27<br>(35 %) | 0.78 ± 0.10<br>(35 %) | 0.74 ± 0.20*<br>(59 %) |

Inhibition is reported as a percentage compared to Indomethacin (IN, 5 mg kg<sup>1</sup>, p.o.).

The values represent the mean ± S.E.M. of the variation in the paw volume of 8 animals for each group. \* P < 0.05, significantly different from control. PY= yellow fruit. PR= red fruit. NS=saline.



# IMPACTO DE LA COCCIÓN SOBRE LOS VALORES DE TBARS EN CARNE DE POLLO ENRIQUECIDA CON ÁCIDOS GRASOS OMEGA-3 Y PROTEGIDA CON VITAMINA E

Claudia Gallinger<sup>1</sup>, Francisco Federico<sup>1</sup>, Corina Bernigaud<sup>1</sup>, Bernardo Iglesias<sup>2</sup>,  
María Jesús Pagán Moreno<sup>3</sup>, Élica Gómez<sup>4</sup>

## 1. RESUMEN

En la actualidad las dietas occidentales son típicamente bajas en ácidos grasos omega-3 ( $\omega 3$ ) y altas en ácidos grasos saturados y omega-6 ( $\omega 6$ ). Existe evidencia que las aves depositan en sus tejidos estas clases de ácidos grasos si les son suministrados en la dieta. Los objetivos de este trabajo fueron evaluar el impacto de la alimentación de pollos con dietas ricas en  $\omega 3$  y vitamina E sobre el perfil lipídico y la estabilidad oxidativa de la carne de pollo cruda y cocida. Sesenta pollos Cobb fueron alimentadas con una dieta control a base de maíz y soja (T1), y dietas enriquecidas en ácidos grasos  $\omega 3$  (T2: 2 % aceite de pescado y 1 % aceite de lino, T3: 1 % aceite de pescado y 2 % aceite de lino) desde los 21 días de edad hasta los 42 días de vida. Posteriormente las aves fueron sacrificadas mediante prácticas humanitarias y sus pechugas conservadas a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  para su posterior análisis. La determinación del perfil lipídico se realizó mediante cromatografía gaseosa y la estabilidad oxidativa se determinó mediante la técnica de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARs). Se pudo observar que hubo efecto de la dieta sobre el perfil lipídico de la carne de pollo, observándose una reducción de la relación  $\omega 6/\omega 3$  de 9 (T1) a aproximadamente 2 (T2 y T3). No hubo diferencias estadísticas en los valores de TBARs en la carne de pollo cruda, pero si las hubo para la carne cocida, existiendo

---

CONTACTO: Claudia Gallinger [gallinger.claudia@inta.gob.ar](mailto:gallinger.claudia@inta.gob.ar)

1. EEA INTA Concepcion del Uruguay, 3260 - Concepción del Uruguay, Entre Ríos, Argentina.

2. EEA INTA Pergamino, 2700 - Pergamino, Buenos Aires, Argentina .

3. Universidad Politécnica de Valencia, 46022 - Valencia, España.

4. Facultad de Bromatología, Universidad Nacional de Entre Ríos, 2820 - Gualeguaychú, Argentina.

una mayor oxidación en los tratamientos T2 y T3 respecto de T1. En función de estos resultados se concluye que fue posible modificar el perfil de ácidos grasos de la carne de pollo a través de la dieta, pero este cambio disminuyó la estabilidad oxidativa del producto cocido, pudiendo afectar negativamente la aceptabilidad por parte de los consumidores.

## 2. INTRODUCCIÓN

La noción de alimentación equilibrada es un concepto fundamental, resultado de un siglo de investigaciones en nutrición realizadas a partir del descubrimiento de los nutrientes y de su importancia para el desarrollo y crecimiento del cuerpo y su mantenimiento (Ashwell, 2004). En la actualidad las dietas occidentales son típicamente bajas en ácidos grasos omega-3 ( $\omega$ -3) y altas en ácidos grasos saturados y omega-6 ( $\omega$ -6) (Simopoulos, 2000).

Existe evidencia que las aves depositan en sus tejidos los ácidos grasos constitutivos de las dietas que se les ofrecen (Bou *et al.*, 2001; Arts *et al.*, 2001; Ayerza & Coates, 2002; Azcona *et al.*, 2008a; 2008b; Cortinas *et al.*, 2004; Ponte *et al.*, 2008a; 2008b). Los principales efectos tecnológicos adversos, asociados con la modificación de la composición cuantitativa en ácidos grasos de los lípidos de la carne, son los originados en la modificación de la calidad organoléptica, como aroma y sabor anómalo, deficiente consistencia de la grasa (firme y friable o blanda), menor jugosidad y baja aceptabilidad. Los procesos de oxidación de los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) son la principal causa de la modificación de las características organolépticas (Cherian *et al.*, 1996). Dado que el contenido de los compuestos volátiles producidos por la oxidación está directamente relacionado con la presencia de olores y sabores rancios que son detectados por el consumidor, la determinación de los mismos es cada vez de mayor importancia. La técnica de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARs) es ampliamente utilizada por su simplicidad y su elevada correlación con esta clase de compuestos volátiles (Bou *et al.*, 2001). Diversos trabajos, basándose en la correlación entre los compuestos volátiles y TBARs han sugerido un valor umbral de TBARs de 0,8  $\mu$ g/g para la detección de olores y sabores extraños (O'Neill, 1998; Bou *et al.*, 2001). Coetze y Hoffman (2001) proponen una escala de relación entre valores de TBARs y la calidad sensorial, correspondiendo los valores de TBARs menores a 0,2  $\mu$ g/g a carnes de buena calidad,

0,2-0,5 a carnes de calidad tolerable y 0,5-1,5  $\mu\text{g/g}$  a carnes algo oxidadas. Diversas investigaciones han sido realizadas para disminuir este efecto, siendo el uso de vitamina E una de las sustancias más promisorias por su actividad antioxidante muscular (Maraschiello *et al.*, 1999; Grau *et al.*, 2001a; 2001b; Jeun-Horng *et al.*, 2002).

Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar el impacto de la alimentación de pollos con dietas ricas en  $\omega$ -3, a las cuales se les adicionó vitamina E, sobre el perfil lipídico y la estabilidad oxidativa de la carne de pollo cruda y cocida.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

Sesenta pollos Cobb500 fueron alimentados con una dieta comercial estándar desde el nacimiento a los 21 días de edad. Posteriormente, y hasta los 42 días de vida, se procedió a alimentarlos con una ración comercial a base de maíz y soja (T1: control), y con dietas enriquecidas en ácidos grasos  $\omega$ -3 (T2: 2 % aceite de pescado y 1 % aceite de lino, T3: 1 % aceite de pescado y 2 % aceite de lino). A todos los tratamientos se les agregó 200 mg/kg de vitamina E en las raciones como antioxidante. Las dietas correspondientes a cada tratamiento se pueden visualizar en la Tabla 1. Finalizada la crianza, todas las aves fueron sacrificadas según la normativa vigente en Argentina (SENASA, 2010). Las aves fueron identificadas y pesadas antes del sacrificio. Posteriormente se procedió a desplumarlas manualmente, eviscerarlas y extraerle las patas y cabeza. Paso seguido se escogieron seis aves de cada tratamiento para el análisis de contenido y perfil de lípidos y TBARs. Todas las muestras fueron envasadas individualmente y conservadas en refrigeración hasta el final de la faena. Posteriormente fueron congeladas ( $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) y descongeladas a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 24 horas el día de su análisis.

Los lípidos totales fueron extraídos con una mezcla de cloroformo:metanol (2:1 v/v) mediante una adaptación del procedimiento de Folch *et al.* (1957). A partir de alícuotas del extracto de cloroformo:metanol se determinó la composición de ácidos grasos de la carne de acuerdo a la técnica descrita por Pariza *et al.* (2001). Se agregó hidróxido de sodio al 10 % y se separó la fracción saponificable de la insaponificable. La fracción saponificable fue hidrolizada con ácido clorhídrico concentrado liberando, de esta manera, los ácidos grasos. Posteriormente, estos últimos fueron transmetilados con una solución al 20 % de trifluoruro de boro en metanol, extraídos con hexano y cuantificados usando un cromatógrafo gaseoso modelo

Chrompack CP900S (Chrompack International – Middelburg, Países Bajos) equipado con un detector de ionización de flama. En el mismo se utilizó una columna capilar modelo CP-SIL 88 (Chrompack International – Middelburg, Países Bajos) de 50m x 0,25mm de diámetro interno recubierta y nitrógeno como gas de transporte. La temperatura fue programada a 70 °C por 4min, luego se incrementó a 170 °C a 13 °C.min<sup>-1</sup>, de 170 °C a 200 °C la temperatura subió 1 °C.min<sup>-1</sup>. La temperatura del inyector y del detector fue mantenida a 250 °C.

Los ácidos grasos individuales fueron identificados por comparación de los tiempos de retención relativos con estándares de ácidos grasos (PUFA-2 Animal Source). La composición total fue expresada como el área % de los ácidos grasos totales.

Para la determinación de TBARs las muestras fueron descongeladas para ser analizadas en forma cruda, mientras que una porción de las mismas fue cocinada en una plancha de doble contacto hasta alcanzar 71 °C ± 1 °C en el centro de la muestra (punto frío) monitoreado por termocuplas. La determinación de TBARs se realizó por duplicado según el método de destilación de Tarladgis *et al.* (1960), con breves modificaciones. Brevemente, a 25 g de muestra descongelada se le agregó 4 ml de HCl 25 % v/v, luego se homogeneizaron y se les adicionó 60 ml de agua. Posteriormente se procedió a la destilación de las muestras y se recolectaron los primeros 25 ml. Luego, a 3 ml del extracto se le agregó 230 µl de 1,1,3,3-Tetrahidroxipropano y se colocó en baño de ebullición por 35 minutos para el desarrollo del color. Culminado este tiempo se procedió a la lectura de los extractos en un espectrofotómetro Beckman BU-65.

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se pudo observar que hubo efecto de la dieta sobre el perfil lipídico de la carne de pollo (Tabla 2), observándose una reducción de la relación  $\omega$ -6/ $\omega$ -3 de 7,45 (T1) a aproximadamente 2 (T2 y T3). La inclusión de aceite de pescado al 4 % en el T2 produjo un mayor contenido de  $\omega$ -3 en la carne de pechuga, mientras que la inclusión de aceite de pescado combinado con lino condujo a valores intermedios respecto al control. El incremento de los ácidos grasos  $\omega$ -3 es coincidente con los trabajos de Azcona *et al.* (2008b), Ayerza & Coates (2002) y Cortinas *et al.* (2004).

Se encontraron diferencias estadísticas en los valores de TBARs en la carne de pollo cruda, como así también en carne cocida, existiendo una mayor oxidación en los tratamientos T2 y T3 respecto de T1 (Tabla 3, Figura 1). Del análisis factorial surge una interacción entre tratamientos y cocción, esto es debido a que la oxidación de la carne cocida en los tratamientos a los que se les incorporó aceite de pescado y aceite de pescado y lino en conjunto produjeron un incremento mucho mayor en los valores de TBARs que los encontrados en el tratamiento control. Cuando se comparó el tratamiento control cocido vs crudo se produjo un incremento del 247 %, mientras que la inclusión de las fuentes de  $\omega$ -3 produjo aumentos del 350 % y 290 % para los tratamientos 2 y 3, respectivamente.

Los valores de TBARs hallados en este trabajo coinciden con los resultados reportados por Maraschiello *et al.* (1999), quienes encontraron valores de 0,2-0,4 y 1  $\mu$ g/g de malondialdehído (MDA) en carne cruda y carne cocida respectivamente, utilizando vitamina E como antioxidante en dietas enriquecidas con ácidos grasos insaturados que comprometerían su calidad organoléptica. Los resultados indican que las carnes cocidas del tratamiento 1 no presentaron oxidación, mientras que las de los tratamientos 2 y 3 se vieron alteradas en su estabilidad oxidativa.

## 5. CONCLUSIONES

Se concluye que fue posible modificar el perfil de ácidos grasos de la carne de pollo a través de las dietas suministradas en este trabajo, obteniendo valores de  $\omega$ -6/ $\omega$ -3 bajos que lograrían mejorar las dietas occidentales.

Una pechuga de pollo convencional posee 0,9 a 1,5 g. de grasa en 100 g. de carne (Cortinas *et al.*, 2004; Azcona *et al.*, 2008). Por lo tanto, una porción de pechuga (200 g) con un valor promedio de 1,2 % de grasa cubriría en un 40 % aproximadamente el aporte diario de EPA y DHA, considerando un requerimiento diario de 500 mg de ambos ácidos grasos (ISSFAL, 2004).

Como contraparte, este cambio disminuyó la estabilidad oxidativa del producto cocido, lo cual puede afectar negativamente la aceptabilidad por parte de los consumidores.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARTS, M.; Ackman, R. & Holub, B. 2001. Essential fatty acids in aquatic ecosystems: a crucial link between diet and human health and evolution. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* 58:122-137.
- ASHWELL, M. 2004. [http://www.ilsa.org.ar/contactos/ILSI\\_Argentina\\_Comite\\_Alimentos\\_Funcionales/ILSICMFuncFoodsES5.pdf](http://www.ilsa.org.ar/contactos/ILSI_Argentina_Comite_Alimentos_Funcionales/ILSICMFuncFoodsES5.pdf) ISBN 1-57881-157-0. Acceso octubre 2010.
- AZCONA, O.; Garcia, P.; Cossú, M.; Iglesias, B.; Picallo, A.; Perez, C.; Gallinger, C.; Schang, M. & Canet, Z. 2008a. Meat quality of Argentinean "Camperos" chickens enhanced in omega-3 and omega-9 fatty acids. *Meat Science* 79:437-443.
- AZCONA, O.; Schang, M.; Garcia, P.; Gallinger, C.; Ayerza, R. & Coates W. 2008b. Omega-3 enriched broiler meat: the influence of dietary algal sources of omega-3 fatty acids on growth, performance and meat fatty acid composition. *Canadian Journal of Animal Science* 88:257-269.
- AYERZA, R. & Coates, W. 2002. Chia seed (*Salvia Hispanica* L.) as  $\omega$ -3 fatty acid source for broilers: Influence on fatty acid composition, cholesterol and fat content of white and dark meat, growth performance, and sensory characteristics. *Poultry Science* 81:826-837.
- BOU, R.; Guardiola, F.; Grau, A.; Grimpa, S.; Manich, A.; Barroeta, A. & Codony, R. 2001. Influence of dietary fat source, alpha tocopherol and ascorbic acids supplementation on sensory quality of dark meat. *Poultry Science* 80:800-807.
- CHERIAN, G.; Wolfe, F. & Sim, J. 1996. Dietary oils with added tocopherols: effects on egg or tissue tocopherols, fatty acids, and oxidative stability. *Poultry Science* 75: 423-431.
- COETZEE, G & Hoffman, L. 2001. Effect of dietary vitamin E on the performance of broilers and quality of broiler meat during refrigerated and frozen storage. *South African Journal of Animal Science* 31:158-172.
- CORTINAS, L. 2004. Niveles de ácidos grasos poliinsaturados y  $\alpha$ -tocoferol en el pienso de broilers: equilibrio entre composición lipídica y estabilidad oxidativa de la carne. Tesis Doctoral. Universitat Autònoma de Barcelona. Barcelona, España.
- CORTINAS, L.; Villaverde, C.; Galobar, J.; Bausells, M.; Codony, R. & Barroeta, A. 2004. Fatty acid content in chicken thigh and breast as affected by dietary polyunsaturation level. *Poultry Science* 83:1155-1164.
- FOLCH, J.; Lees, M.; Sloane, S. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry* 226: 497-509.

- GRAU, A.; Guardiola, F.; Grimpa, S.; Barroeta A. & Codony, R. 2001a. Oxidative stability of dark chickens meat through frozen storage: influence of dietary fat source, and alfatocopherol and ascorbic acid supplementation. *Poultry Science* 80:1630-1642.
- GRAU, A.; Codony, R.; Grimpa, S.; Baucells, D. & Guardiola, F. 2001b. Cholesterol oxidation in frozen dark chicken meat: influence of dietary fat source, and alfatocopherol and ascorbic acid supplementation. *Meat Science* 57:197-208.
- ISSFAL. International society for the study of fatty acid and lipid. 2004. Recommendations for intake of polyunsaturated fatty acids in healthy adults. <http://www.issfal.org/news-links/resources/publications/PUFAIntakeReccomdFinalReport.pdf>. Acceso junio 2010.
- JEUN-HORNG, L.; Yuan-Hui, L. & Chun-Chin, K. 2002. Effect of dietary fish oil on fatty acid composition, lipid oxidation and sensory property of chickens frankfurters during storage. *Meat Science* 60:161-167.
- MARASCHIELLO, C.; Sarrága, C. & García Regueiro, J. 1999. Glutathione peroxidase activity, TBARs, and  $\alpha$ -tocopherol in meat from chicken fed different diets. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47:867-872.
- O'NEILL, L.; Galvin, K.; Morrissey P. & Buckley, D. 1998. Comparison of effects of dietary olive oil, tallow and vitamin E on the quality of broiler meat and meat products. *British Poultry Science* 39:365-371.
- PARIZA, M.; Park, Y. & Cook, M. 2001. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. *Progress in Lipid Research* 40:283-298.
- PONTE, P.; Abves, S.; Bessa, R.; Ferreira, L.; Gama, L.; Bras, J.; Fonte, C. & Prates, J. 2008a. Influence of pasture intake on the fatty acids composition, and cholesterol, tocopherols; and tocotrienols content in meat from free-range broilers. *Poultry Science* 87:80-88.
- PONTE, P.; Rosado, C.; Crespo, J.; Crespo, D.; Mourão, J.; ChaveiroSoares, M.; Brás, J.; Mendes, I.; Gama, L.; Prates, J.; Ferreira, L. & Fontes, C. 2008b. Pasture intake improve the performance and meat sensory attributes of free range broilers. *Poultry Science* 87:71-79.
- SENASA. Reglamento (decreto 4238/68) actualizado. 2008. <http://www.senasa.gov.ar/Archivos/File/File753-capitulos.pdf>. Acceso mayo 2010.
- SIMOPOULOS, A. 2000. Symposium: Role of poultry product in enriching the human diet with  $\omega$ -3 PUFA. Human requirement for  $\omega$ -3 polyunsaturated fatty acids. *Poultry Science* 79:961-970.
- TARLADGIS, B.; Watts, B. & Younathan, M. 1960. A distillation method for the quantitative determination of malondialdehyde in rancid foods. *Journal American Oil Chemists Society* 37:44-48.

## 7. TABLAS Y FIGURAS

TABLA 1. Composición de las dietas utilizadas (21-42 días)

| INGREDIENTES           | T1     | T2     | T3     |
|------------------------|--------|--------|--------|
| Maíz semidentado       | 63,983 | 63,983 | 63,983 |
| Soja Harina (40)       | 26,110 | 26,110 | 26,110 |
| Conchilla              | 0,439  | 0,439  | 0,439  |
| Carne Harina <50 Grasa | 5,589  | 5,589  | 5,589  |
| Cocciostato            | 0,050  | 0,050  | 0,050  |
| PremixVit-Min          | 0,150  | 0,150  | 0,150  |
| Sal                    | 0,249  | 0,249  | 0,249  |
| Lisina                 | 0,140  | 0,140  | 0,140  |
| DL-Metionina           | 0,232  | 0,232  | 0,232  |
| Treonina               | 0,028  | 0,028  | 0,028  |
| Colina                 | 0,030  | 0,030  | 0,030  |
| Soja Aceite            | 3,000  | 1,000  | -      |
| Pescado aceite         | 0,000  | 2,000  | 1,000  |
| Lino aceite            | -      | -      | 2,000  |
| NUTRIENTES (%)         |        |        |        |
| Proteína               | 18,50  | 18,50  | 18,50  |
| Lípidos                | 6,82   | 6,82   | 6,82   |
| Fibra Cruda            | 2,51   | 2,51   | 2,51   |
| Ceniza                 | 3,94   | 3,94   | 3,94   |
| Ca                     | 0,90   | 0,90   | 0,90   |
| P Total                | 0,66   | 0,66   | 0,66   |
| P Disponible           | 0,45   | 0,45   | 0,45   |
| Relación Ca/P Disp     | 2,00   | 2,00   | 2,00   |
| Na                     | 0,16   | 0,16   | 0,16   |
| K                      | 0,69   | 0,69   | 0,69   |
| Cl                     | 0,23   | 0,23   | 0,23   |
| Balance Electrolítico  | 182,62 | 182,62 | 182,62 |
| EMV Aves               | 3.426  | 3.426  | 3.426  |
| Lisina                 | 1,050  | 1,050  | 1,050  |
| Lisina Dig.            | 0,967  | 0,967  | 0,967  |
| Metionina Dig.         | 0,509  | 0,509  | 0,509  |
| Met+CisDig.            | 0,763  | 0,763  | 0,763  |
| Triptofano Dig.        | 0,178  | 0,178  | 0,178  |
| Treonina Dig.          | 0,633  | 0,633  | 0,633  |
| Arginina Dig.          | 1,165  | 1,165  | 1,165  |
| 16:0 Ac. Palmítico     | 0,898  | 0,947  | 0,837  |
| 16:1 Ac. Palmitoleico  | 0,026  | 0,144  | 0,083  |
| 18:0 Ac. Estearico     | 0,349  | 0,275  | 0,235  |
| 18:1 Ac. Oleico        | 1,969  | 1,816  | 1,756  |
| 18:2 Ac. Linoleico     | 3,273  | 2,311  | 2,177  |



|                       |       |       |       |
|-----------------------|-------|-------|-------|
| 18:3 Ac. Linolénico   | 0,328 | 0,487 | 0,970 |
| 20:4 Ac. Araquidónico | 0,000 | 0,040 | 0,026 |
| 20:5 EPA              | 0,000 | 0,158 | 0,080 |
| 22:5 DPA              | 0,000 | 0,046 | 0,023 |
| 22:6 DHA              | 0,000 | 0,408 | 0,204 |
| $\omega 3$            | 0,328 | 1,099 | 1,278 |
| $\omega 6$            | 3,011 | 2,089 | 1,941 |
| $\omega 6/\omega 3$   | 9,192 | 1.901 | 1,519 |

Cada kg de núcleo vitamínico mineral (Premix) aportó: vitamina A, 5300000 UI; vitamina D3, 1560000 UI; vitamina E, 15000 mg; vitamina B1 (tiamina), 1000 mg; vitamina B2 (riboflavina), 4000 mg; vitamina B3 (niacina), 26000 mg; vitamina B5 (ácido pantoténico), 6500 mg; vitamina B6 (piridoxina), 2000 mg; vitamina B8 (biotina), 50 mg; vitamina B9 (ácido fólico), 600 mg; vitamina B12 (cianocobalamina), 10 mg; vitamina K3 (menadiona), 1700 mg; colina, 60000 mg; Cu, 4000 mg; Fe, 30000 mg; I, 400 mg; Mn, 50000 mg; Se, 140 mg; Zn, 40000 mg; exp. csp 1000g.

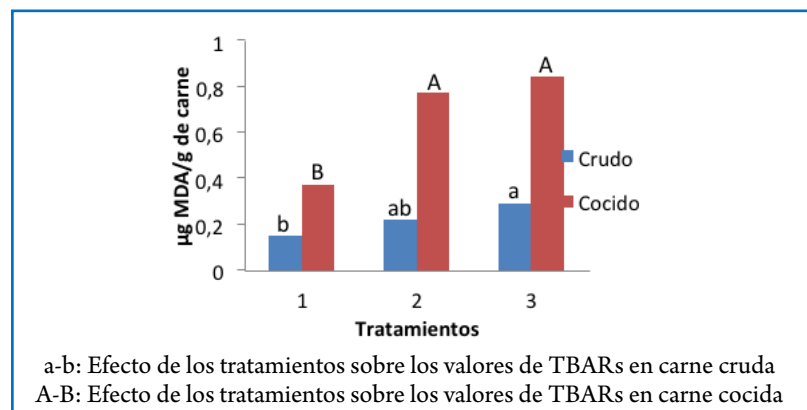
**TABLA 2.** Efecto de la dieta sobre el perfil lipídico de la pechuga (%)

| Tratamiento | AGS     | AGMI    | AGPI     | $\omega 6$ | $\omega 3$ | EPA + DHA | $\omega 6/\omega 3$ |
|-------------|---------|---------|----------|------------|------------|-----------|---------------------|
| T1          | 31,71 a | 33,26 a | 35,03 a  | 30,62 a    | 4,11 c     | 1,65 c    | 7,45 a              |
| T2          | 34,58 a | 33,58 a | 31,85 b  | 18,12 c    | 12,00 a    | 8,04 a    | 1,51 c              |
| T3          | 32,55 a | 34,07 a | 33,37 ab | 22,83 b    | 9,89 b     | 3,27 b    | 2,31 b              |
| CV (%)      | 6,97    | 8,6     | 6,99     | 11,13      | 5,53       | 20,95     | 13,75               |

Medias en una misma columna con diferente letra difieren estadísticamente ( $p < 0,05$ )

**TABLA 3.** Efecto de los Tratamientos y la cocción sobre los valores de TBARS

| Variabes     | Valor-p |
|--------------|---------|
| Tratamiento  | < 0,001 |
| Cocción      | < 0,001 |
| Trat*Cocción | < 0,001 |
| CV (%)       | 23,62   |



**FIGURA 1.** Impacto de la cocción sobre los valores de TBARS en los diferentes tratamientos

# FORMULACIÓN DE UNA MINITORTA SABOR VAINILLA APTA PARA CELÍACOS

Mirta Susana Velazque, Alexis Lionel Sosa, Mariana Jiménez Veuthey

## 1. RESUMEN

Las minitortas, pequeños bizcochuelos en base a harina de trigo, son una variedad de alfajores que se están imponiendo rápidamente en el mercado, en el cual hay una leve tendencia a achicar el tamaño de la porción para disminuir la ingesta calórica y los costos. Por otra parte existe un sector de la población con necesidades especiales constituido por los enfermos celíacos. La celiaquía es una intolerancia total y permanente a las proteínas llamadas prolaminas presentes en los cereales: trigo, avena, cebada y centeno. Un tratamiento aceptado es el cumplimiento estricto de una dieta sin gluten de por vida. Para desarrollar las minitortas se analizaron formulaciones artesanales publicadas por diferentes organizaciones de ayuda al celíaco. Se probaron diferentes proporciones: 50/50; 60/40 y 70/30 de harina de arroz/almidón de maíz. La que dio mejores resultados fue la mezcla 50/50. Se agregó el resto de los ingredientes y se horneó a 160 y 180 °C para analizar el efecto de dos temperaturas de cocción. Se determinaron los parámetros físicos de: tamaño (largo, alto y ancho, mediante un calibre marca Mitutoyo de 15 cm  $\pm$  0,1 mm), peso (mediante Balanza electrónica Ohaus Pioneer™, capacidad Máx. 3100  $\pm$  0,01 g), color (mediante un Colorímetro marca Minolta, modelo CR 300, con iluminante estándar D<sub>65</sub> y ángulo del observador de 2° se determinaron los parámetros L\*, a\* y b\* del espacio Cie-Lab), firmeza y dureza al corte (mediante un texturómetro TA-XT2i). Para el análisis sensorial se utilizó un panel de consumidores compuesto por un mínimo de cincuenta (50) personas y se analizó la aceptabilidad global mediante una escala hedónica de nueve puntos. Todas las mediciones se realizaron sobre

---

CONTACTO: Mirta Susana Velazque [velazquem@fcal.uner.edu.ar](mailto:velazquem@fcal.uner.edu.ar)  
Facultad de Ciencias de la Alimentación, Mons. Tavella n.º 1450,  
Concordia, Entre Ríos, República Argentina

diez muestras de cada fórmula y por cada elaboración. Los resultados se analizaron estadísticamente con software Statgraphics Centurion XV Corporate mediante Análisis de Varianza (ANOVA) y Contraste Múltiple. Las evaluaciones sensoriales positivas entre me gusta ligeramente y me gusta muchísimo superaron el 70%. De los resultados obtenidos se concluye que este producto podría ser elaborado a escala industrial, constituyendo una oferta que puede contribuir a ampliar la disponibilidad comercial de productos aptos para celíacos, acorde con las tendencias actuales en el mercado de las golosinas de panificación.

## 2. INTRODUCCIÓN

La celiaquía es una intolerancia total y permanente a las proteínas llamadas prolaminas presentes en los cereales: trigo, avena, cebada y centeno (Herrera Ballester y col., 2006; Marcó García, 2008; Vergara Hernández, 2009). Un tratamiento aceptado es el cumplimiento estricto de una dieta 100 % sin gluten de por vida (Niewinski, 2008; Turabi y col., 2010; Demirkesen, 2011).

Las minitortas, pequeños bizcochuelos en base a harina de trigo, son una variedad de alfajores que se están imponiendo rápidamente en el mercado. En el presente trabajo se sigue la normativa establecida en el artículo 761 bis del Código Alimentario Argentino 2007, donde se definen los ingredientes con los que pueden elaborarse los alfajores y el artículo 1382 bis, capítulo XVII, que define qué es un alimento sin gluten.

Las minitortas se encuentran entre los productos de bollería, que de acuerdo con Muñoz (2007) son aquellos cuya masa está compuesta por una base de harina que incorpora grasa y azúcar como elementos principales y como opcionales huevos, leche y otros componentes.

Entre las harinas aptas para celíacos más utilizadas, tanto a escala artesanal como industrial, se encuentran la harina de arroz y el almidón de maíz.

La harina de arroz tiene dos ventajas respecto a las otras harinas: costo más bajo y facilidad de obtención en la provincia de Entre Ríos. Según Quaglia (1991), de todos los cereales el arroz es el más escaso de proteínas y el más rico en almidón. Sin embargo, el valor biológico de la proteína contenida en el arroz es muy alto respecto a las proteínas de otros cereales y es de fácil digestibilidad. El almidón de maíz es una de las materias primas más utilizadas en los productos aptos para celíacos

(Asociación Celíaca Argentina, 1993; ACELA, 2006). El almidón es el más importante de los polisacáridos y proporciona más calorías a la dieta normal del hombre que ninguna otra sustancia (Fennema, 2000). En las masas y papillas los gránulos de almidón adoptan forma semisólidas y retienen el líquido ayudando a formar la estructura de los productos de panificación durante el horneado (Coenders, 2004).

La leche en polvo y los huevos frescos añadidos para formular las minitortas aumentan su valor nutritivo final, por el aporte de proteínas de alto valor biológico (Longo y col., 2006).

El azúcar realza, fortifica y pone de manifiesto el gusto de los alimentos que sin su presencia tendrían un sabor mínimo o neutro. Es parte esencial de los postres dulces, como pasteles y galletas entre otros (Coenders, 2004). La presencia de azúcar en los productos de horno fermentados realza la elasticidad y flexibilidad de las proteínas y hace la masa más ligera, seca y esponjosa. En el horneado retrasa la rigidez de las proteínas, lo que ayuda a prevenir el escape del aire incorporado con el batido, lo que podría producir el colapso de la masa.

Manley (1989) refiere que hay algunos saborizantes que son más satisfactorios para los productos horneados; siendo notables la vainilla (o el producto sintético etil-vainillina).

Como leudante se utiliza un leudante químico permitido para celíacos. Según Ranken (1993) los leudantes químicos son levaduras artificiales constituidas por mezclas de diferentes compuestos químicos que se emplean para la gasificación de variados productos de panadería.

Para finalizar el armado de las minitortas se utiliza como relleno dulce de leche apto para celíacos y como cobertura un baño de chocolate, también de marca comercial permitida. El dulce de leche es un producto argentino típico que se caracteriza por poseer un sabor, olor y textura característicos muy apreciados por los consumidores (Pauletti y col., 2000). Por último, Madrid y col., (1994) señalan que el chocolate es el ingrediente que le da a los productos de confitería su gran impulso, después del azúcar.

El objetivo del presente trabajo es evaluar la calidad física, textural y organoléptica de una minitorta sabor vainilla apta para celíacos a dos temperaturas de cocción.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### FORMULACIONES

Se probaron diferentes proporciones de harina de arroz/almidón de maíz: 50/50 (fórmula 1); 60/40 (fórmula 2) y 70/30 (fórmula 3). Se procedió a su cocción y se evaluaron los resultados a través de la apreciación visual y el análisis sensorial por parte del equipo técnico formado por los integrantes del Proyecto de Investigación que dio origen a este trabajo, seleccionándose la formulación 50/50 (fórmula 1), de la cual se estudió la influencia del horneado a dos temperaturas diferentes de cocción, 160 y 180 °C.

Las muestras de minitortas aptas para celíacos fueron codificadas como se indica a continuación, comparándolas con una minitorta elaborada con harina de trigo (control). Las elaboraciones se realizaron por duplicado y se añadió un dígito para indicar el número de elaboración.

#### *Temperatura de horneado 160 °C*

*Primera elaboración:* A<sub>1</sub>: muestras control; B<sub>1</sub>: formulación apta para celíacos.

*Segunda elaboración:* A<sub>2</sub>: muestras control; B<sub>2</sub>: formulación apta para celíacos.

#### *Temperatura de horneado 180 °C*

*Primera elaboración:* C<sub>1</sub>: muestras control; D<sub>1</sub>: formulación apta para celíacos.

*Segunda elaboración:* C<sub>2</sub>: muestras control; D<sub>2</sub>: formulación apta para celíacos.

#### TAMAÑO

Mediante un calibre marca Mitutoyo de 15 cm ± 0,1 mm, se determinaron el largo, alto y ancho de las muestras. Se utilizaron diez muestras por cada fórmula y cada elaboración.

#### PESO

Se determinó por gravimetría el peso en g de las minitortas, mediante Balanza electrónica Ohaus Pioneer™, capacidad Máx. 3100 ± 0,01 g. Se utilizaron diez muestras por cada fórmula y cada elaboración.

## **COLOR**

Se utilizó un Colorímetro marca Minolta (1994), modelo CR 300, con iluminante estándar D<sub>65</sub> y ángulo del observador de 2°. Se determinaron los parámetros L\*, a\* y b\* del espacio Cie-Lab en 10 muestras por cada fórmula y cada elaboración.

## **FIRMEZA**

La determinación de la firmeza del producto cocido se realizó con un texturómetro TA-XT2i usando el método estándar 74-09 de la AACC.

## **DUREZA AL CORTE**

Se utilizó un texturómetro TA-XT2i con un set de cuchilla y base ranurada con una celda de carga de 25 kg para producir el corte total de la minitorta.

## **ANÁLISIS SENSORIAL**

Se realizó un análisis sensorial en dos etapas. En la primera el equipo técnico del Proyecto que dio origen a este trabajo examinó el aspecto general, el color, la textura y el sabor de las tres formulaciones 50/50; 60/40 y 70/30 de harina de arroz/almidón de maíz. En una segunda etapa para el estudio de la mejor formulación (50/50) se utilizó un panel de consumidores compuesto por un mínimo de cincuenta (50) personas (Carpenter y col. 2002). Mediante una escala hedónica de nueve puntos se analizó la aceptabilidad global (Muñoz, 2007).

## **TRATAMIENTO DE DATOS**

Los resultados se analizaron estadísticamente con software Statgraphics Centurion XV Corporate mediante Análisis de Varianza (ANOVA) y Contraste Múltiple.

## **4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **FORMULACIONES**

Se estableció la composición centesimal por gravimetría de las formulaciones mencionadas en Tabla 1. La fórmula 1 resultó muy agradable en cuanto al aspecto general y también en sabor. La fórmula 2 resultó agradable en cuanto al color y aspecto general, pero en el sabor fue desagradable con una textura granulosa. La fórmula 3 resultó de aspecto desagradable, de color blanquecino, desabrida, poco esponjosa.

La altura de las minitortas elaboradas con la formulación 3 fue la mitad de la altura de las minitortas elaboradas con las formulaciones 1 y 2. Todas las formulaciones resultaron saladas al paladar por lo que se decidió bajar el porcentaje de sal del 1,6 % al 0,5 %. Con este análisis se decidió utilizar la fórmula 1, ya que fue la que presentó mejores características físicas y sensoriales.

### **TAMAÑO**

Los envases, de 2,5 cm de alto, 8,5 cm de largo y 3 cm de ancho, fueron llenados con masa cruda hasta la mitad. En las dos temperaturas utilizadas se observa un crecimiento del producto que indica una buena actuación del polvo leudante, ya que las minitortas alcanzaron una altura, entre 1,82 y 1,93 cm. El proceso de desmoldado no alteró las características de tamaño de las minitortas en cuanto al largo y ancho, lo cual indica que no se produjeron adherencias entre el producto y el envase.

No se comparan los resultados de tamaño con los de otros autores porque no se ha encontrado en la bibliografía el desarrollo de un producto semejante.

### **PESO**

Se pesaron 35 g de masa cruda para cada formulación y cada temperatura. No se observan diferencias estadísticamente significativas entre las minitortas horneadas, tanto a 160 °C como a 180 °C (ver Tabla 2).

No se comparan los resultados con los de otros autores porque no se ha encontrado en la bibliografía el desarrollo de un producto semejante, tanto en peso como en los parámetros de textura.

### **COLOR**

No se observan diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,5$ ) entre las minitortas elaboradas con harina de trigo (control) y las aptas para celíacos, horneadas a 160 °C, tanto en la primera como en la segunda elaboración para los parámetros  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ , ver Tabla 3.

Un estudio llevado a cabo en diferentes variedades de bizcochuelos elaborados con harina de trigo por Gómez y col. (2008) mostró los siguientes valores promedio: 74,51; +0,22 y +22,92 para  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ , respectivamente. Los valores de luminosidad de los productos elaborados con harina de trigo y los aptos para celíacos del presente estudio presentan valores más bajos de  $L^*$  (luminosidad) y más altos

de los parámetros  $a^*$  (componentes rojo-verde) y  $b^*$  (componentes azul-amarillo). Otro estudio realizado por Gómez y col. (2010) en los bizcochuelos fabricados con harina de trigo también mostraron valores promedio de 72,4, +4,2 y +21,9 para  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ , respectivamente. Los valores de  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  del presente estudio son más bajos. Las diferencias de los resultados del presente estudio con los reportados por Gómez y col. (2008; 2010) puede deberse a la proporción de huevo de gallina agregada, sobre todo a la parte de la yema que es la que aporta el color debido a la presencia de xantofilas y que varía de acuerdo con la alimentación de las aves.

No se observan diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ) entre las minitortas elaboradas con harina de trigo (control) y las aptas para celíacos, horneadas a 180 °C, tanto en la primera como en la segunda elaboración para los parámetros de  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ , Tabla 3. Las conclusiones concuerdan con las descriptas para las minitortas horneadas a 160 °C, respecto de los trabajos de Gómez y col. (2008; 2010).

#### **FIRMEZA**

No se observan diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ) entre las minitortas elaboradas con harina de trigo (control) y las aptas para celíacos, horneadas a 160 °C. En cuanto a las horneadas a 180 °C, no hubo diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ) en la primera elaboración, pero sí en la segunda (Tabla 4).

#### **DUREZA AL CORTE**

No se observan diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ) entre las minitortas elaboradas con harina de trigo (control) y las aptas para celíacos, horneadas a 160 °C. En cuanto a las horneadas a 180 °C, no hubo diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ) en la primera elaboración, pero sí en la segunda (Tabla 5).

#### **ANÁLISIS SENSORIAL**

Las evaluaciones positivas para las minitortas horneadas a 160 °C, entre me gusta ligeramente y me gusta muchísimo sumaron 71 % para la primera elaboración y 72 % para la segunda. El porcentaje de indiferencia (no me gusta ni me disgusta) sumó 19 % y 21 %, respectivamente y las evaluaciones negativas en el ítem me disgusta ligeramente fueron de 10 % y 7 %.

Las evaluaciones positivas para las minitortas horneadas a 180 °C, estuvieron entre me gusta ligeramente y me gusta muchísimo sumaron 73 %, tanto para la pri-



mera elaboración como para la segunda elaboración. El porcentaje de indiferencia (no me gusta ni me disgusta) sumó 18 % y 19 %, respectivamente y las evaluaciones negativas en el ítem me disgusta ligeramente fueron de 9 % y 8 %. Por lo expuesto se considera que las minitortas tuvieron una buena aceptación sensorial entre los evaluadores.

## 5. CONCLUSIONES

Los resultados de los parámetros físicos: alto, peso, color y textura fueron aceptables y se obtuvieron altas calificaciones positivas en el entorno del 70 % en la evaluación sensorial del Grado de Satisfacción, por lo que se concluye que la fórmula 1 (50/50 harina de arroz/harina de almidón de maíz) para minitortas aptas para celíacos sabor vainilla, podría ser elaborada a escala industrial, constituyendo una oferta que puede contribuir a ampliar la disponibilidad de productos aptos para celíacos.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACA (Asociación Celíaca Argentina). (1993). *Cocinemos sin T.A.C.C.* La Plata: publicado y editado por la Asociación Celíaca Argentina.
- ACELA (Asistencia al Celíaco de la Argentina) (2006). *Guía de alimentos argentinos sin gluten para la dieta del celíaco.* Buenos Aires: publicado y editado por ACELA.
- CARPENTER, R. P.; LYON, H. L.; HASDELL, T. A. (2002). *Análisis sensorial en el desarrollo y control de la calidad de los alimentos.* Zaragoza: Ed. Acribia S.A.
- CODIGO ALIMENTARIO ARGENTINO (2007). Ley 18.284 18/07/69 - Decreto 2126/71 del Poder Ejecutivo Nacional de la República Argentina - <http://www.anmat.gov.ar/CODIGOA/CAA1.HTM> (04 de Abril de 2013).
- COENDERS, A. (2004). *Química culinaria.* Zaragoza: Editorial Acribia S. A.
- CRUCHET, S.; VERBEKE, S. (2003). *Dieta libre de gluten y disminución del riesgo de asociación de enfermedades autoinmunes en el paciente celíaco.* Scielo Revista chilena de nutrición. Vol. 30, n.º 2.
- DEMIRKESEN, I.; SUMNU, G.; SAHIN, S. (2011). *Utilization of chestnut flour in gluten-free cakes.* Proceedings of the 6<sup>th</sup> CIGR Section VI International Symposium "Towards a Sustainable Food Chain".
- FENNEMA, O. R. (2000). *Química de los Alimentos.* Zaragoza: Editorial Acribia S.A.

- GÓMEZ, M.; BONASTRE, O.; ROSELL, C. M.; PANDO, V.; FERNÁNDEZ, E. (2008). *Studies on cake quality made of wheat-chicpea flour blends*. In Food Science and Technology. Vol. 41, pp. 1701-1709.
- GÓMEZ, M.; MANCHÓN, L.; OLIETE, B.; RUIZ, E.; CABALLERO, P.A. (2010). *Adequacy of wholegrain non-wheat flours for layer cake elaboration*. Food Science and Technology. Vol. 43, pp.507-513.
- HERRERA BALLESTER, R. M.; HERRERA, A. (2006). *La enfermedad celíaca y su gastronomía*. Valencia: Editorial Carena.
- LONGO, E.; NAVARRO, E. (2006). *Técnica Dietoterapia*. Buenos Aires: Editorial El Ateneo.
- MADRID, A.; CENZANO, I.; MADRID, J.; MADRID, A. (1994). *Manual de Pastelería y Confitería*. Madrid: AMV Ediciones.
- MANLEY, D.J.R. (1989). *Tecnología de la Industria Galletera*. Zaragoza: Ed. Acribia S.A.
- MARCÓ GARCÍA, C. (2008). *Mejora de la Funcionalidad de cereales libres de gluten: aplicación en productos fermentados*. Tesis doctoral de la Universidad Politécnica de Valencia.
- MUÑOZ, R. B. (2007). *Influencia de la adición de un ingrediente funcional en la calidad de un producto de bollería. Aspectos reológicos y texturales y su relación con la aceptación sensorial*. Tesis Doctoral de la Universidad Politécnica de Valencia.
- NIWINSKI, M. M. (2008). *Advances in Celiac Disease and Gluten-Free Diet*. Journal of the American Dietetic Association – pp. 661-671.
- PAULETTI, M. S.; FITO, P. (2000). *Mecanismo y Cinética del Proceso de Gelificación en la Fabricación de Dulce de Leche*. Series de Ciencia e Ingeniería de Alimentos. Vol. II. Editorial de la Universidad Politécnica de Valencia.
- QUAGLIA, G. (1991). *Ciencia y Tecnología de la panificación*. Zaragoza: Editorial Acribia S.A.
- RANKEN, M.D. (1993). *Manual de Industria de los Alimentos*. – Zaragoza: Editorial Acribia S.A.
- TURABI, E.; SUMNU, G.; SAHIN, S. (2010). *Quantitative analysis of macro and micro-structure of gluten-free rice cakes containing different types of gums baked in different ovens*. Food Hydrocolloids. Vol. 24, pp. 755-762.
- VERGARA HERNÁNDEZ, J. (2009). *Enfermedad Celíaca*. Guías Médicas 2009.

## 7. TABLAS Y FIGURAS

**TABLA 1.** Formulaciones de minitortas aptas para celíacos sabor vainilla

| FÓRMULA 1:<br>50 % harina de arroz y 50 %<br>de almidón de maíz |       | FÓRMULA 2:<br>60 % harina de arroz y 40 %<br>de almidón de maíz |       | FÓRMULA 3:<br>70 % harina de arroz y 30 %<br>de almidón de maíz |       |
|---|-------|---|-------|---|-------|
| Ingredientes  | %     | Ingredientes  | %     | Ingredientes  | %     |
| Harina de arroz   | 18,0  | Harina de arroz   | 21,6  | Harina de arroz   | 25,2  |
| Almidón de maíz   | 18,0  | Almidón de maíz   | 14,4  | Almidón de maíz   | 10,8  |
| Leudante químico  | 6,9   | Leudante qco.   | 6,9   | Leudante qco.   | 6,9   |
| Azúcar  | 9,3   | Azúcar  | 9,3   | Azúcar  | 9,3   |
| Manteca   | 10,9  | Manteca   | 10,9  | Manteca   | 10,9  |
| Sal   | 1,6   | Sal   | 1,6   | Sal   | 1,6   |
| Leche entera en polvo   | 3,2   | Leche entera en polvo   | 3,2   | Leche entera en polvo   | 3,2   |
| Huevo entero  | 9,2   | Huevo entero  | 9,2   | Huevo entero  | 9,2   |
| Agua  | 19,6  | Agua  | 19,6  | Agua  | 19,6  |
| Esencia de vainilla   | 3,3   | Esencia de vainilla   | 3,3   | Esencia de vainilla   | 3,3   |
| Total   | 100,0 | Total   | 100,0 | Total   | 100,0 |

**TABLA 2.** Valores Promedio y Desvíos Estándar de Peso en g

| MINITORTAS HORNEADAS A 160 °C |                             |                     |                             | MINITORTAS HORNEADAS A 180 °C |                             |                     |                             |
|-------------------------------|-----------------------------|---------------------|-----------------------------|-------------------------------|-----------------------------|---------------------|-----------------------------|
| PRIMERA ELABORACIÓN           |                             | SEGUNDA ELABORACIÓN |                             | PRIMERA ELABORACIÓN           |                             | SEGUNDA ELABORACIÓN |                             |
| Muestra                       | Peso                        | Muestra             | Peso                        | Muestra                       | Peso                        | Muestra             | Peso                        |
| A <sub>1</sub>                | 30,56 <sup>a</sup><br>±0,09 | A <sub>2</sub>      | 31,20 <sup>a</sup><br>±0,09 | C <sub>1</sub>                | 29,84 <sup>a</sup><br>±0,09 | C <sub>2</sub>      | 30,05 <sup>a</sup><br>±0,09 |
| B <sub>1</sub>                | 31,13 <sup>a</sup><br>±0,08 | B <sub>2</sub>      | 32,38 <sup>a</sup><br>±0,08 | D <sub>1</sub>                | 32,79 <sup>a</sup><br>±0,10 | D <sub>2</sub>      | 31,58 <sup>a</sup><br>±0,08 |

A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>: minitortas harina de trigo (control), B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub>: minitortas aptas para celíacos.  
Valores seguidos de la misma letra, para el mismo parámetro, en cada columna no difieren significativamente (Test de Tukey, p-valor >0.05).

**TABLA 3.** Valores Promedio y Desvíos Estándar de los parámetros de Color en el espacio CIE-Lab

| MINITORTAS HORNEADAS A 160 °C |                             |                             |                              |                     |                             |                             |                              |
|-------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|---------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|
| PRIMERA ELABORACIÓN           |                             |                             |                              | SEGUNDA ELABORACIÓN |                             |                             |                              |
| Muestra                       | L*                          | a*                          | b*                           | Muestra             | L*                          | a*                          | b*                           |
| A <sub>1</sub>                | 67,32 <sup>a</sup><br>±1,26 | +1,23 <sup>a</sup><br>±1,14 | +24,19 <sup>a</sup><br>±1,18 | A <sub>2</sub>      | 67,87 <sup>a</sup><br>±2,65 | +1,19 <sup>a</sup><br>±0,20 | +26,02 <sup>a</sup><br>±1,44 |
| B <sub>1</sub>                | 67,51 <sup>a</sup><br>±1,31 | +1,31 <sup>a</sup><br>±1,21 | +25,48 <sup>a</sup><br>±1,18 | B <sub>2</sub>      | 67,49 <sup>a</sup><br>±3,18 | +0,94 <sup>a</sup><br>±1,04 | +23,86 <sup>a</sup><br>±1,56 |

| MINITORTAS HORNEADAS A 180 °C |                             |                             |                              |                     |                             |                             |                              |
|-------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|---------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|
| PRIMERA ELABORACIÓN           |                             |                             |                              | SEGUNDA ELABORACIÓN |                             |                             |                              |
| Muestra                       | L*                          | a*                          | b*                           | Muestra             | L*                          | a*                          | b*                           |
| C <sub>1</sub>                | 67,48 <sup>a</sup><br>±2,44 | +1,32 <sup>a</sup><br>±0,99 | +25,30 <sup>a</sup><br>±1,32 | C <sub>2</sub>      | 67,90 <sup>a</sup><br>±1,98 | +0,92 <sup>a</sup><br>±0,90 | +23,75 <sup>a</sup><br>±1,12 |
| D <sub>1</sub>                | 67,29 <sup>a</sup><br>±3,02 | +1,36 <sup>a</sup><br>±1,21 | +24,18 <sup>a</sup><br>±1,45 | D <sub>2</sub>      | 67,52 <sup>a</sup><br>±1,45 | +0,58 <sup>a</sup><br>±0,50 | +25,77 <sup>b</sup><br>±1,56 |

A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>: minitortas harina de trigo (control), B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub>: minitortas aptas para celíacos.  
Valores seguidos de la misma letra, para el mismo parámetro, en cada columna no difieren significativamente (Test de Tukey, p-valor >0.05).

**TABLA 4.** Valores Promedio y Desvíos Estándar de la Firmeza en N

| MINITORTAS HORNEADAS A 160 °C |                            |                |                             | MINITORTAS HORNEADAS A 180 °C |                            |                |                             |
|-------------------------------|----------------------------|----------------|-----------------------------|-------------------------------|----------------------------|----------------|-----------------------------|
| PRIMERA ELAB.                 |                            | SEGUNDA ELAB.  |                             | PRIMERA ELAB.                 |                            | SEGUNDA ELAB.  |                             |
| MUESTRA                       | FIRMEZA                    | MUESTRA        | FIRMEZA                     | MUESTRA                       | FIRMEZA                    | MUESTRA        | FIRMEZA                     |
| A <sub>1</sub>                | 8,59 <sup>a</sup><br>±2,11 | A <sub>2</sub> | 14,73 <sup>a</sup><br>±2,56 | C <sub>1</sub>                | 8,67 <sup>a</sup><br>±1,72 | C <sub>2</sub> | 13,37 <sup>a</sup><br>±2,26 |
| B <sub>1</sub>                | 8,20 <sup>a</sup><br>±1,89 | B <sub>2</sub> | 17,62 <sup>a</sup><br>±2,78 | D <sub>1</sub>                | 8,23 <sup>a</sup><br>±1,84 | D <sub>2</sub> | 17,53 <sup>b</sup><br>±3,15 |

A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>: minitortas harina de trigo (control), B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub>: minitortas aptas para celíacos.  
Valores seguidos de la misma letra, para el mismo parámetro, en cada columna no difieren significativamente (Test de Tukey, p-valor >0.05).

**TABLA 5.** Valores Promedio y Desvíos Estándar de la Dureza al Corte en N

| MINITORTAS HORNEADAS A 160 °C |                            |                |                            | MINITORTAS HORNEADAS A 180 °C |                            |                |                            |
|-------------------------------|----------------------------|----------------|----------------------------|-------------------------------|----------------------------|----------------|----------------------------|
| PRIMERA ELAB.                 |                            | SEGUNDA ELAB.  |                            | PRIMERA ELAB.                 |                            | SEGUNDA ELAB.  |                            |
| Muestra                       | Dureza al corte            | Muestra        | Dureza al corte            | Muestra                       | Dureza al corte            | Muestra        | Dureza al corte            |
| A <sub>1</sub>                | 4,87 <sup>a</sup><br>±0,76 | A <sub>2</sub> | 5,47 <sup>a</sup><br>±0,65 | C <sub>1</sub>                | 5,48 <sup>a</sup><br>±0,67 | C <sub>2</sub> | 5,52 <sup>a</sup><br>±0,65 |
| B <sub>1</sub>                | 5,51 <sup>a</sup><br>±0,56 | B <sub>2</sub> | 4,95 <sup>a</sup><br>±0,67 | D <sub>1</sub>                | 4,93 <sup>a</sup><br>±0,56 | D <sub>2</sub> | 4,89 <sup>b</sup><br>±0,54 |

A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>: minitortas harina de trigo (control), B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub>: minitortas aptas para celíacos.  
Valores seguidos de la misma letra, para el mismo parámetro, en cada columna no difieren significativamente (Test de Tukey, p-valor >0.05).

# PRODUCCIÓN DE PÉPTIDOS BIOACTIVOS A PARTIR DE MANOPROTEÍNAS AISLADAS DE DIFERENTES ESPECIES DE LEVADURAS

Pablo Spontón<sup>1,2</sup>, Roque Spinelli<sup>2</sup>, Silvina Drago<sup>3</sup>, Georgina Tonarelli<sup>2</sup>, Arturo Simonetta<sup>1</sup>

## 1. RESUMEN

Los péptidos bioactivos de interés alimentario pueden ser definidos como componentes de alimentos funcionales que ejercen una actividad regulatoria en el organismo humano, además de sus funciones nutricionales, pudiendo presentar propiedades multifuncionales. Las proteínas son la principal fuente de péptidos biológicamente activos, los cuales están encriptados dentro de la estructura primaria de dichas proteínas, requiriendo proteólisis para su liberación. En función de lo expuesto se estudiaron manoproteínas de levaduras pertenecientes a los géneros *Brettanomyces*, *Candida*, *Pichia* y *Saccharomyces*, aisladas de productos lácteos. Las manoproteínas se extrajeron por tratamiento térmico y se purificaron por cromatografía de afinidad, utilizando concanavalina A, seguida de posterior diálisis. Cada extracto de manoproteína purificado fue subsecuentemente hidrolizado con enzimas proteolíticas (tripsina, pepsina, proteinasa K y quimotripsina), aplicadas en forma individual o combinada, generándose péptidos de menor tamaño. Se determinó la actividad inhibitoria de estos últimos frente a la enzima acetilcolinesterasa (AChE) y frente a la enzima convertidora de angiotensina (ECA), y se investigó su actividad antimicrobiana contra bacterias Gram (+) y Gram (-). El peso molecular de las manoproteínas, determinado por SDS-PAGE, estuvo comprendido entre 6,5 y 30kDa. Con respecto a la inhibición de AChE,

---

CONTACTO: Pablo Spontón [psponton@fcb.unl.edu.ar](mailto:psponton@fcb.unl.edu.ar)

1. Cátedras de Microbiología y Biotecnología, Dto. de Ingeniería en Alimentos, FIQ-UNL, Santa Fe, Argentina.

2. Departamento de Química Orgánica, Laboratorio de Péptidos Bioactivos, FBCB-UNL, Santa Fe, Argentina.

3. Instituto de Tecnología de Alimentos, FIQ-UNL, Santa Fe, Argentina.

se realizó en primer lugar un screening preliminar de todos los extractos hidrolizados, obteniéndose resultados muy variados, con valores máximos de inhibición de un 54%. Posteriormente, a los extractos que presentaron mayor actividad inhibitoria se les determinó la Concentración Inhibitoria 50, obteniéndose valores de inhibición comprendidos entre 6,75 y 28mg mL<sup>-1</sup>. Por otro lado, todos los hidrolizados tuvieron nula o ligera actividad inhibitoria frente a ECA, con valores máximos de inhibición de un 20%. Los extractos hidrolizados con tripsina y todos los extractos doblemente hidrolizados fueron activos contra *B. cereus* (diámetro de halo de inhibición: 9-18mm), mientras que sólo el extracto de la cepa de *Pichia anomala* hidrolizado con tripsina y algunos extractos doblemente hidrolizados inhibieron a *L. monocytogenes* (diámetro de halo de inhibición: 7-14mm). Los resultados obtenidos demuestran que las manoproteínas aisladas a partir de cepas de levaduras de origen alimentario generan péptidos bioactivos por hidrólisis enzimática, los cuales pueden ser de interés para la formulación de alimentos con potenciales propiedades funcionales.

## 2. INTRODUCCIÓN

En la actualidad se asume plenamente que los alimentos, además de desempeñar el papel de nutrientes, pueden aportar compuestos bioactivos para el organismo humano, proporcionar beneficios para la salud y reducir el riesgo de padecer ciertas enfermedades. Investigaciones realizadas en el diseño y en la elaboración de alimentos funcionales han dedicado especial atención al estudio del papel fisiológico de las proteínas de la dieta. Péptidos bioactivos encriptados en las estructuras de dichas proteínas, se generan usualmente *in vivo* por acción de enzimas gastrointestinales, o pueden también obtenerse *in vitro* con enzimas específicas, y/o producirse durante los procesos biotecnológicos de elaboración de determinados alimentos. Los péptidos bioactivos pueden ejercer su efecto sobre los sistemas cardiovascular, digestivo, inmunológico y/o nervioso (Korhonen *et al.*, 2003). Dentro de estas actividades, los péptidos bioactivos podrían influir en el metabolismo celular y actuar como vasorreguladores, factores de crecimiento, inductores hormonales y neurotransmisores (Robert *et al.*, 1994), o poseer propiedades antimicrobianas (Gobbetti *et al.*, 2002). Algunos péptidos son multifuncionales y pueden ejercer más de uno de los efectos mencionados (Meisel, 2004).

La hipertensión arterial es uno de los principales factores de riesgo en desarrollar enfermedades cardiovasculares (Kannel, 1996) que afectan a una parte consi-

derable de la población adulta mundial. La búsqueda de medidas preventivas relacionadas con la dieta para la hipertensión es de interés en el ámbito de los alimentos funcionales (Li *et al.*, 2004). Ciertos péptidos obtenidos a partir de hidrolizados de proteínas alimentarias (Tauzin *et al.*, 2002) pueden tener actividad inhibitoria frente a la enzima convertidora de angiotensina (ECA), lo cual es un mecanismo clave que previene un aumento de la presión arterial. Tales péptidos tienen un valor prometedor para ser utilizados con fines terapéuticos para prevenir la hipertensión.

La enzima acetilcolinesterasa (AChE) regula la transmisión del impulso nervioso en la sinapsis colinérgica mediante la hidrólisis del neurotransmisor acetilcolina (ACh) a ácido acético y colina (Keane *et al.*, 1999). La enfermedad de Alzheimer (EA) es una enfermedad neurodegenerativa que se manifiesta como deterioro cognitivo y trastornos conductuales. Esta enfermedad no tiene cura y es terminal dentro de los 3-7 años de diagnóstico. Se ha establecido que la EA está asociada con una reducción de los niveles de ACh (Singh *et al.*, 2003). La restauración de los niveles de ACh retrasa la pérdida de la función cognitiva (Filho *et al.*, 2006). Estudios recientes han mostrado que inhibidores de AChE alivian los síntomas neuropsiquiátricos en pacientes con EA, y proveen efectos beneficiosos en la capacidad cognitiva incrementando los niveles de ACh dentro de la región sináptica (Zarotsky *et al.*, 2003). En este campo, las investigaciones han logrado los mayores avances terapéuticos en el tratamiento de la EA mediante la inhibición de la AChE (Singh *et al.*, 2003).

En este trabajo se propuso estudiar y evaluar *in vitro* la actividad inhibitoria frente a AChE y ECA y la actividad antimicrobiana de péptidos derivados de manoproteínas, obtenidos por hidrólisis enzimática, de cinco cepas de levaduras aisladas de productos alimentarios de las regiones santafesina y patagónica. Estos péptidos no sólo podrían constituir nuevos agentes terapéuticos sino también actuar como compuestos preventivos de la aparición de la enfermedad, a través de su ingesta con la dieta alimentaria mediante el diseño de alimentos funcionales que los contengan.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

**Cepas de levaduras:** Las cepas de *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida blankii*, *Candida famata*, *Brettanomyces intermedius* y *Pichia anomala*, aisladas de productos alimentarios de las regiones santafesina y patagónica, fueron obtenidas de la colec-

ción propia de las Cátedras de Microbiología y Biotecnología (FIQ-UNL). Estas cepas fueron activadas y desarrolladas en caldo extracto de malta-extracto de levadura (extracto de malta: 3g; extracto de levadura: 3g; triptona: 5g; dextrosa: 10g; agua destilada: 1000mL), a 30 °C, mediante siembras sucesivas e incubaciones por períodos de 48h, en agitación.

**Extracción térmica de manoproteínas:** La extracción de manoproteínas se realizó de acuerdo al método de Peat *et al.* (1961), con algunas modificaciones (Cameron *et al.*, 1988). Las células de levaduras se obtuvieron de cada cultivo por centrifugación a 3000 × g por 15min, y posteriormente se lavaron 2 veces con agua MilliQ. A continuación se re-suspendieron en una solución al 20 % (v/v) de buffer 0,1mol L<sup>-1</sup> de citrato de potasio-0,02mol L<sup>-1</sup> de metabisulfito de potasio. El pH de la suspensión se ajustó a 7.0 y la mezcla se sometió a tratamiento térmico en autoclave, por 2h a 121 °C. La suspensión resultante se centrifugó a 5000 × g por 10min. El sobrenadante se mezcló con 3 volúmenes de etanol 95 % (v/v) conteniendo 1 % (v/v) de ácido acético, y se dejó reposar durante toda la noche, a 4 °C. El precipitado se colectó por centrifugación a 10000 × g por 10min, a 5 °C. Los extractos obtenidos se conservaron por liofilización y se almacenaron a -4 °C hasta su utilización.

**Determinación de la concentración de proteínas:** La concentración de proteínas en los extractos obtenidos se determinó por el método del ácido bicinónico (Fujimoto *et al.*, 1985). Como proteína estándar se utilizó albúmina sérica bovina.

**Purificación de las manoproteínas por cromatografía de afinidad:** La purificación de cada extracto se llevó a cabo por cromatografía de afinidad, utilizando Concanavalina A (Con A)-Sefarosa 4B. Las manoproteínas se eluyeron con 0,1mol L<sup>-1</sup> de metila-D-manopiranosido en buffer de equilibrio [0,01mol L<sup>-1</sup> Tris-HCl, (pH 7.5), conteniendo 0,5mol L<sup>-1</sup> NaCl, 1mmol L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub> y 1mmol L<sup>-1</sup> MnCl<sub>2</sub>] y se detectaron midiendo la absorbancia a 280nm. Cada extracto de manoproteína obtenido se dializó utilizando membranas con Cut off de 1kDa, y posteriormente fueron liofilizados y almacenados a -4 °C (Hafiz Ahmed, 2004).

**Digestión enzimática de manoproteínas:** En primer lugar se llevó a cabo la hidrólisis enzimática de cada uno de los extractos de manoproteínas con las enzimas tripsina, pepsina y proteinasa K (Sigma). Adicionalmente, cada uno de estos extractos hidrolizados fueron tratados con la enzima quimotripsina (Sigma). Dicha digestión se llevó a cabo a 37 °C durante 24h, para todas las enzimas excepto proteinasa K, enzima con la cual se llevó a cabo por 18h. En todos los ensayos se utilizó



una relación proteína-enzima de 50:1. Para la hidrólisis enzimática con tripsina, proteinasa K y quimotripsina se utilizó buffer Tris-HCl 30 mmol L<sup>-1</sup>, pH 8.0, y para la hidrólisis con pepsina se utilizó una solución de ácido acético al 5 % (v/v), pH 2.0. La hidrólisis enzimática se interrumpió, luego de transcurrido el tiempo determinado como óptimo para cada caso, por calentamiento a 100 °C durante 10 min.

**Análisis por SDS-PAGE:** Para las manoproteínas y sus hidrolizados, el análisis por SDS-PAGE se realizó en geles discontinuos de poliacrilamida (Gel de apilamiento: 4%; Gel de separación 16%) bajo condiciones reductoras, de acuerdo al método de Laemmli (1970), usando glicina como ión de arrastre. Las bandas de proteínas fueron visualizadas por tinción con plata (Nielsen *et al.*, 2001). Como marcadores de peso molecular se utilizó un Kit de proteínas patrón (LowRange, Molecular Weight 6.500-66.000 Da; Sigma).

**Medida de la actividad inhibitoria de AChE:** La determinación de la actividad inhibitoria de la AChE se llevó a cabo empleando el método espectrofotométrico descrito por Ellman *et al.* (1961). 100mL de cada muestra se incubaron con 7µL de una solución de glóbulos rojos humanos grupo "0" RH+, durante 30min a temperatura ambiente. Posteriormente se agregaron 450 µL de ácido 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoico (DTNB) y 450µL de acetiltiocolina a cada dilución, e inmediatamente se procedió a realizar la lectura espectrofotométrica a 405nm, obteniéndose como medida cinética la velocidad inicial enzimática (DAbsorbancia/30seg). Como control positivo de la inhibición se utilizó una solución de Galantamina 200µmol L<sup>-1</sup>, y como control de la actividad basal de la enzima se usó buffer fosfato pH 7.7.

**Determinación de la concentración inhibitoria 50 (CI50):** También se empleó un micrométodobasado en la técnica espectrofotométrica descrita por Ellman *et al.* (1961) con algunas modificaciones (López *et al.*, 2002), para la determinación de la CI50 de los extractos más activos. En este ensayo se utilizó la enzima acetilcolinesterasa comercial (Sigma). 50µL de cada muestra se incubaron con 50µl de acetilcolinesterasa (0.25U mL<sup>-1</sup>) en una microplaca de 96 pocillos, durante 30min a temperatura ambiente. Posteriormente, se agregaron 100µL de la solución sustrato conteniendo DTNB 0.2mmol L<sup>-1</sup>, yoduro de acetiltiocolina 0.24mmol L<sup>-1</sup> y Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.04mmol L<sup>-1</sup>, a pH 7.5. A continuación se procedió a realizar la lectura espectrofotométrica a 405nm en detector ELISA. Como control positivo de la inhibición se utilizó una solución de Galantamina 200µmol L<sup>-1</sup>, y como control de la actividad basal de la enzima se utilizó buffer fosfato salino, pH 7.5.

**Medida de la actividad inhibitoria de la ECA:** Se llevó a cabo empleando el método colorimétrico descrito por Hayakari *et al.* (1978) con modificaciones. Este método se basa en la reacción colorimétrica del ácido hipúrico con 2,4,6-tricloro-s-triazina (TT), desarrollado en una mezcla de incubación que contiene 15µL de NaCl, 175µL de buffer fosfato 0.1mol L<sup>-1</sup>(pH: 8.3), 20µL de hipuril-L-histidin-L-leucina (HHL) (Sigma) 0,07mol L<sup>-1</sup>, 20mL de la enzima ECA extraída de pulmón de conejo y 20µL de muestra a ensayar. La incubación se llevó a cabo por 45min a 37 °C. La reacción se finalizó por la adición de 665µL de 3 % (p/v) de TT en dioxano, seguido por 1.1ml de buffer fosfato 0.1mol L<sup>-1</sup>, pH: 8.3. Luego, la mezcla de reacción se centrifugó a 12000 × g por 10min. El producto de la reacción se determinó en el sobrenadante por medida de su absorbancia a 382nm.

**Determinación del efecto antimicrobiano:** Se emplearon las siguientes cepas blanco: *Escherichia coli* DBFIQ Ec 9, *Bacillus cereus* DBFIQ B 28, *Staphylococcus aureus*DBFIQ S 21 y *Listeria monocytogenes* DTUNLu 328, todas pertenecientes a la colección de las Cátedras de Microbiología y Biotecnología (FIQ-UNL). Para la detección de actividad antimicrobiana se usó el ensayo de difusión en agar (Tagg *et al.*, 1971), según el cual se agregaron 0.5mL de un cultivo de 12-16h de cada cepa blanco ensayada a 20 mL de Agar Nutritivo (Biokar), vertiéndolos luego en una placa de Petri estéril. Después de solidificar a temperatura ambiente, se realizaron pozos de 6mm de diámetro en las placas, y se colocaron 5mL de solución acuosa de cada hidrolizado de manoproteína en cada pozo, en una concentración de 1mg mL<sup>-1</sup>. Las placas se incubaron a 37 °C durante 24h y luego se midieron los diámetros correspondientes a los halos de inhibición generados.

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El proceso de extracción térmica aplicado a las cepas de levaduras permitió liberar significativas cantidades de crudos proteínicos no purificados, y su posterior purificación por cromatografía de afinidad permitió obtener cantidades similares de manoproteínas parcialmente purificadas. Se destacaron los valores obtenidos para las cepas de *C. blankii* y de *S. cerevisiae* (Tabla 1). Los extractos de manoproteínas resultantes fueron dializados, liofilizados y almacenados a -4 °C para su posterior utilización. Cuando los extractos crudos sin purificar y la fracción de manoproteínas obtenida por cromatografía de afinidad fueron analizadas por SDS-PAGE,

se observaron manchas difusas en cada calle correspondientes a los extractos crudos, y bandas de diferentes pesos moleculares (PM) en las calles pertenecientes a las manoproteínas purificadas. Estas bandas indican, en general, que los PM de las manoproteínas purificadas de cada cepa de levadura estudiada fueron similares en todos los casos y que dichos PM estuvieron comprendidos entre aproximadamente 6.5 y 30 kDa. Los resultados de hidrólisis con las enzimas proteolíticas sobre cada uno de los extractos de manoproteínas permitieron observar por SDS-PAGE una marcada disminución de las bandas proteicas luego del tratamiento enzimático. Estos resultados indican indirectamente la potencial formación de una gran cantidad y variedad de péptidos, cuya actividad biológica es importante estudiar.

En la Tabla 2 se presentan los resultados de actividad antimicrobiana para todos los hidrolizados de manoproteínas. Se observa que un único hidrolizado con una sola enzima fue activo frente a *L. monocytogenes*, siendo el mismo el hidrolizado de manoproteínas de la cepa de *P. anomala* con tripsina. Además, los extractos doblemente hidrolizados presentaron una mayor actividad frente a *L. monocytogenes*, con halos de inhibición similares entre sí. Estos extractos fueron los obtenidos de *C. blankii*, *S. cerevisiae* y *B. intermedius* hidrolizados con tripsina/quimotripsina, y los extractos de *C. blankii*, *C. famata*, *P. anomala* y *B. intermedius* con pepsina/quimotripsina. Además, se aprecia que *B. cereus* resultó fuertemente inhibido por los hidrolizados obtenidos por la acción única de tripsina sobre todos los extractos de manoproteínas estudiados, no observándose actividad con los extractos hidrolizados únicamente con pepsina y proteinasa K. En cambio, todos los extractos doblemente hidrolizados presentaron actividad frente a *B. cereus*, la cual resultó en general menor que la obtenida para los extractos hidrolizados sólo con tripsina. Las cepas de *E. coli* y de *S. aureus* no fueron inhibidas por ninguno de los extractos hidrolizados.

En la Tabla 3 se observan los valores de actividad inhibitoria de la AChE que presentaron los extractos hidrolizados en las tres concentraciones ensayadas. Los resultados fueron muy variados, presentando mayores valores de actividad inhibitoria los siguientes extractos de manoproteínas hidrolizados: *C. blankii* con tripsina, con tripsina/quimotripsina y con pepsina/quimotripsina; *C. famata* con tripsina/quimotripsina, pepsina/quimotripsina y con proteinasa K; *S. cerevisiae* con tripsina, tripsina/quimotripsina, pepsina/quimotripsina y con proteinasa K; *B. intermedius* con pepsina y *P. anomala* con pepsina/quimotripsina, dando valores de inhibición comprendidos entre 30 y 54 %.

Además, los extractos más activos fueron seleccionados para determinarles los valores de CI50, obteniéndose los siguientes resultados: *C. blankii* con tripsina (CI50: 28.5mg mL<sup>-1</sup>), con tripsina/quimotripsina (CI50: 14.4mg mL<sup>-1</sup>) y con pepsina/quimotripsina (CI50: 11,2mg mL<sup>-1</sup>), *S. cerevisiae* con tripsina (CI50: 13mg mL<sup>-1</sup>) y con pepsina/quimotripsina (CI50: 6.75mg mL<sup>-1</sup>) y *P. anómala* con pepsina/quimotripsina (CI50: 7.7mg mL<sup>-1</sup>).

En la Tabla 4 se observan los resultados de actividad inhibitoria frente a ECA de todos los extractos de manoproteínas hidrolizados, a una concentración de 5mg mL<sup>-1</sup>. Se puede observar que sólo logró detectarse una ligera inhibición de algunos de los extractos hidrolizados, con valores de actividad que no superan el 20 %, lo que indica que ningún extracto manoproteínico es un buen inhibidor frente a ECA.

## 5. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos demuestran que la extracción térmica de manoproteínas a partir de cepas de levaduras provenientes de ecosistemas alimentarios regionales, y su posterior purificación por Concanavalina A, permitieron obtener importantes cantidades de dichas proteínas, y que su posterior hidrólisis condujo a la formación de una gran cantidad y variedad de péptidos con propiedades antimicrobianas y antiacetilcolinesterásicas, pero carentes de propiedades antihipertensivas considerables. Por lo tanto, tales extractos peptídicos bioactivos deben ser considerados para futuros estudios en relación con la enfermedad de Alzheimer, debido a su importante actividad inhibitoria frente aAChE. Esta propiedad sumada a su actividad antimicrobiana, los hacen potencialmente aptos para ser utilizados como aditivos alimentarios funcionales y/o como agentes terapéuticos.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BLUM, H.; Beier, H. and Gross, H.J. (1987). Improved silver staining of plant proteins, RNA and DNA in polyacrylamide gels. *Electrophoresis*. 8: 93-99.
- CAMERON, D.; Cooper, D. and Neufeld, R. (1988). The mannoprotein of *Saccharomyces cerevisiae* is an effective bioemulsifier. *Applied and Environmental Microbiology*. 54: 1420-1425.
- ELLMAN, G.L.; Courtney, K.D.; Andres, V.Jr. and Feather-Stone, R.M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*. 7:88-95.

- FILHO, J.; Medeiros, K.; Diniz, M.; Batista, L.; Athayde-Filho, P. and Silva, M. (2006). Natural products inhibitors of the enzyme acetylcholinesterase. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*. 16: 258-285.
- FUJIMOTO, E.K.; Goeke, N.M.; Olson, B.J. and Klenk, D.C. (1985). Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Analytical Biochemistry*. 150: 76-85.
- GOBBETTI, M.; Stepaniak, L.; De Angelis, M.; Corsetti, A. and Di Cagno, R. (2002). Latent bioactive peptides in milk proteins: proteolytic activation and significance in dairy processing. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 42: 223-239.
- HAFIZ, A. (2004). Book: Principles and Reactions of Protein Extraction, Purification, and Characterization. Capitulo: Purification of glycoproteins and analysis of their oligosaccharides. Purification of glycoproteins. Purification of Glycoproteins on a Con A-Sepharose, pag: 341. Published: CRC Press.
- KANNEL, W.B. (1996). Blood pressure as a cardiovascular risk factor: prevention and treatment. *Journal of the American Medical Association*. 275:1571-1576.
- KEANE, S. and Ryan, M.F. (1999). Purification, characterization, and inhibition by monoterpenes of acetylcholinesterase from the wax moth, *Galleria Mellonella*. *Insect Biochemistry and molecular Biology*. 29: 1097-1104.
- KORHONEN, H. and Pihlanto, A. (2003). Food-derived bioactive peptides opportunities for designing future foods. *Current Pharmaceutical Design*. 9: 1297-1308.
- LAEMMLI, U.K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 227:680-85.
- LI, G.H.; Le, G.W.; Shi, Y.H. and Shrestha, S. (2004). Angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides derived from food proteins and their physiological and pharmacological effects. *Nutrition Research*. 24: 469-486.
- LÓPEZ, S.; Bastida, J.; Viladomat, F. and Codina, C. (2002). Acetylcholinesterase inhibitory activity of some Amaryllidaceae alkaloids and Narcissus extracts. *Life Sciences*. 71: 2521-2529.
- MEISEL, H. (2004). Multifunctional peptides encrypted in milk proteins. *Biofactors*. 21: 55-61.
- Nielsen, P.M.; Petersen, D. and Dambmann, C. (2001). Improved method for determining food protein degree of hydrolysis. *Journal of Food Science*. 66: 642-646.
- PEAT, S.; Whelan, W.J. and Edwards, T.E. (1961). Polysaccharides of baker's yeast. Part IV. Mannan. *Journal of the Chemical Society*. (London): 28-35.
- ROBERT, P.R. and Zaloga, G.P. (1994). Dietary bioactive peptides. *New Horizons*. 2: 237-243.
- SINGH, A.P. (2003). The role of natural products in pharmacotherapy of Alzheimer disease. *Ethnobotanical Leaflets*. 7: 1-5.

- TAGG, J.R. and Mcgiven A.R. (1971). Assay system for bacteriocins. *Applied Bacteriology*.21: 943.
- TAUZIN, J.; Miclo, L. and Gaillard, J.L. (2002). Angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides from tryptic hydrolysate of bovine as2-casein. *Federation of European Biochemical Societies Letters*. 531: 369-374.
- ZAROTSKY, V.; Sramek, J.J. and Cutler, N.R. (2003). Galanthamine hydrobromide: An agent for Alzheimer's disease. *American Journal of Health-System Pharmacy*. 60: 446-452.

## 7. TABLAS Y FIGURAS

**TABLA 1.** Rendimientos del proceso de extracción de manoproteínas

| LEVADURAS             | PESO HÚMEDO (CÉLULAS) (G) | PESO SECO CRUDO (G) | PESO SECO CRUDO (LIOFILIZADO) (MG) | CANTIDAD DE PROTEÍNA (MG DE PROTEÍNA TOTAL / G DE EXTRACTO) | % DE MANOPROTEÍNA [G/G DE CÉLULAS (PESO HÚMEDO)] |
|-----------------------|---------------------------|---------------------|------------------------------------|---|--|
| <i>P. anomala</i>     | 8.3                       | 1.9                 | 499.5                              | 330   | 3.41   |
| <i>C. blankii</i>     | 8                         | 1.2                 | 627.3                              | 390   | 5.3  |
| <i>C. famata</i>      | 7.8                       | 1.62                | 494.8                              | 410   | 3.52   |
| <i>S. cerevisiae</i>  | 9.3                       | 2.2                 | 514.8                              | 360   | 3.55   |
| <i>B. intermedius</i> | 2.8                       | 0.581               | 218.5                              | 245   | 3.45   |

**TABLA 2.** Evaluación de la actividad antimicrobiana de los hidrolizados de manoproteínas

| MÉTODO DE DIFUSIÓN EN AGAR. DIÁMETRO DE HALO DE INHIBICIÓN (MM). |                  |     |      |     |      |      |                         |      |      |      |      |      |
|--|------------------|-----|------|-----|------|------|-------------------------|------|------|------|------|------|
| Bacteria blanco  | <i>B. cereus</i> |     |      |     |      |      | <i>L. monocytogenes</i> |      |      |      |      |      |
| Extractos hidrolizados con:                                      | T                | T/Q | P    | P/Q | PK   | PK/Q | T                       | T/Q  | P    | P/Q  | PK   | PK/Q |
| <i>P. anomala</i>  | 17               | 11  | N.I. | 10  | N.I. | 11   | 7                       | N.I. | N.I. | 12   | N.I. | N.I. |
| <i>C. blankii</i>  | 18               | 12  | N.I. | 11  | N.I. | 11   | N.I.                    | 11   | N.I. | 14   | N.I. | N.I. |
| <i>C. famata</i>   | 17               | 9   | N.I. | 8   | N.I. | 13   | N.I.                    | N.I. | N.I. | 10   | N.I. | N.I. |
| <i>S. cerevisiae</i>   | 17               | 12  | N.I. | 14  | N.I. | 9    | N.I.                    | 11   | N.I. | N.I. | N.I. | N.I. |
| <i>B. intermedius</i>  | 14               | 14  | N.I. | 13  | N.I. | 15   | N.I.                    | 10   | N.I. | 10   | N.I. | N.I. |

Diámetro de los pozos: 6mm. Concentración de la muestra: 1mg mL<sup>-1</sup>, disueltas en agua MilliQ. N.I.: No Inhibió; T: tripsina; P: pepsina; PK: proteinasa K; T/Q: tripsina/quimotripsina; P/Q: pepsina/quimotripsina; PK/Q: proteinasa K/quimotripsina.

**TABLA 3.** Screening de la actividad inhibitoria frente a AChE de los hidrolizados de manoproteínas

| EXTRACTOS DE LEVADURAS | ENZIMAS PROTEOLITICAS |                        |                         |                              |                        |                         |
|------------------------|-----------------------|------------------------|-------------------------|------------------------------|------------------------|-------------------------|
|                        | TRIPSINA              |                        |                         | TRIPSINA + QUIMOTRIPSINA     |                        |                         |
|                        | 5mg mL <sup>-1</sup>  | 2.5mg mL <sup>-1</sup> | 1.25mg mL <sup>-1</sup> | 5mg mL <sup>-1</sup>         | 2.5mg mL <sup>-1</sup> | 1.25mg mL <sup>-1</sup> |
| <i>P. anomala</i>      | N.I.                  | N.I.                   | N.I.                    | 16.3 %                       | 15.6 %                 | 18.4 %                  |
| <i>C. blankii</i>      | 42.6 %                | N.I.                   | 9 %                     | 39.3 %                       | 11.2 %                 | 8.6 %                   |
| <i>S. cerevisiae</i>   | 8.5 %                 | 11.8 %                 | 16 %                    | N.I.                         | 13.29 %                | N.I.                    |
| <i>B. intermedius</i>  | N.I.                  | N.I.                   | N.I.                    | N.I.                         | N.I.                   | 1.84 %                  |
| <i>C. famata</i>       | N.I.                  | 4.3 %                  | 1.1 %                   | 33.8 %                       | 13.8 %                 | 23.2 %                  |
|                        | PEPSINA               |                        |                         | PEPSINA + QUIMOTRIPSINA      |                        |                         |
|                        | 5mg mL <sup>-1</sup>  | 2.5mg mL <sup>-1</sup> | 1.25mg mL <sup>-1</sup> | 5mg mL <sup>-1</sup>         | 2.5mg mL <sup>-1</sup> | 1.25mg mL <sup>-1</sup> |
|                        | <i>P. anomala</i>     | N.I.                   | N.I.                    | 6.9 %                        | 21.5 %                 | 29.2 %                  |
| <i>C. blankii</i>      | 7.2 %                 | N.I.                   | 12.1 %                  | 59 %                         | 31.6 %                 | 46.6 %                  |
| <i>S. cerevisiae</i>   | 7.6 %                 | N.I.                   | 9.6 %                   | 46.3 %                       | 46.4 %                 | 38.7 %                  |
| <i>B. intermedius</i>  | 30.6 %                | N.I.                   | 0.1                     | 1.7 %                        | 14.8 %                 | 14.9 %                  |
| <i>C. famata</i>       | N.I.                  | N.I.                   | N.I.                    | 34.6 %                       | 30.9 %                 | 19.3 %                  |
|                        | PROTEINASA K          |                        |                         | PROTEINASA K + QUIMOTRIPSINA |                        |                         |
|                        | 5mg mL <sup>-1</sup>  | 2.5mg mL <sup>-1</sup> | 1.25mg mL <sup>-1</sup> | 5mg mL <sup>-1</sup>         | 2.5mg mL <sup>-1</sup> | 1.25mg mL <sup>-1</sup> |
|                        | <i>P. anomala</i>     | N.I.                   | N.I.                    | N.I.                         | 21 %                   | 16.3 %                  |
| <i>C. blankii</i>      | N.I.                  | N.I.                   | 5.3 %                   | 1.7 %                        | 8.3 %                  | 13.1 %                  |
| <i>S. cerevisiae</i>   | 54.4 %                | 37.1 %                 | 18.5 %                  | 32.1 %                       | 1.1 %                  | 6.7 %                   |
| <i>B. intermedius</i>  | 7.5 %                 | N.I.                   | N.I.                    | 5.8                          | 9.5 %                  | 19.2 %                  |
| <i>C. famata</i>       | 37.3 %                | N.I.                   | 9.8 %                   | N.I.                         | 9 %                    | 9.8 %                   |

N.I.: No Inhibió. Control positivo: Galantamina 200mmol L<sup>-1</sup>; actividad inhibitoria frente a AChE: 94.04 %.

**TABLA 4.** Actividad inhibitoria frente a ECA de los hidrolizados de manoproteínas

| EXTRACTOS DE LEVADURA | ENZIMAS PROTEOLÍTICAS UTILIZADAS |                            |         |                           |                  |                                 |
|-----------------------|----------------------------------|----------------------------|---------|---------------------------|------------------|---------------------------------|
|                       | tripsina                         | tripsina/<br>quimotripsina | pepsina | pepsina/<br>quimotripsina | proteinasas<br>K | proteinasas K/<br>quimotripsina |
| <i>P. anomala</i>     | 5 %                              | 11.8 %                     | N.I.    | 5.4 %                     | 15.3 %           | 16.2 %                          |
| <i>C. blankii</i>     | 7 %                              | N.I.                       | N.I.    | N.I.                      | 2.1 %            | N.I.                            |
| <i>S. cerevisiae</i>  | 3.2 %                            | N.I.                       | N.I.    | 19.7 %                    | N.I.             | N.I.                            |
| <i>B. intermedius</i> | 4.6 %                            | N.I.                       | 12.4 %  | 12.9 %                    | N.I.             | N.I.                            |
| <i>C. famata</i>      | 12.8 %                           | 13.4 %                     | N.I.    | N.I.                      | 12.8 %           | 13.4 %                          |

Concentración de la muestra: 5mg mL<sup>-1</sup>, N.I.: No Inhibió.

# RELACIÓN ENTRE LA FRECUENCIA DE CONSUMO Y LA PREFERENCIA DE ALIMENTOS AMARGOS

Luciana León Bianchi<sup>1,2</sup>, David García Burgos<sup>3</sup>, María Clara Zamora<sup>1,2</sup>

## 1. RESUMEN

Se realizó una encuesta sobre preferencias alimentarias y frecuencia de consumo con especial énfasis en vegetales y otros alimentos amargos con el fin de detectar si existe alguna relación entre el nivel de consumo y la preferencia de alimentos amargos. Analizar las preferencias alimentarias por este tipo de sabores permitiría avanzar en el estudio de la selección e ingesta de alimentos. Asimismo, abriría nuevas vías en el diseño de intervenciones que favorezcan la aceptación y consumo de verduras y frutas, los cuales se han asociado con reducidas tasas de obesidad, cáncer y enfermedades coronarias. La hipótesis de partida es que si los consumidores han desarrollado una preferencia por sustancias amargas, esta preferencia adquirida reflejará cambios en el valor hedónico, y/o en el valor de incentivo, que probablemente lo lleven a aumentar la ingesta de estos alimentos. Una población de 144 personas de la Pontificia Universidad Católica de Argentina respondió un cuestionario de preferencia de alimentos, de frecuencia de consumo y del historial de dieta. A partir de la sumatoria de las respuestas obtenidas se calculó un índice de preferencias de alimentos amargos (IPBF). Los sujetos con puntuaciones extremas en el IPBF fueron asignados en dos grupos: “No Gustadores de amargo” y “Gustadores de amargo”. Se seleccionaron 59 sujetos (31 “Gustadores” y 28 “No Gustadores”; edad promedio 24 años; 50 % varones y 50 % mujeres), que además no presentaban alergias, regímenes hipocalóricos y trastornos de conducta alimentaria. El grupo

---

CONTACTO: Luciana León Bianchi [ing.leonbuca@yahoo.com.ar](mailto:ing.leonbuca@yahoo.com.ar)

1. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Buenos Aires, Argentina.

2. Facultad de Ciencias Agrarias, Pontificia Universidad Católica Argentina, Buenos Aires, Argentina.

3. Department of Psychology, Clinical Psychology and Psychotherapy, University of Fribourg, Switzerland.



seleccionado participó de un experimento en el que se evaluaron las preferencias en términos de valor hedónico y de incentivo de cuatro alimentos amargos: cerveza sin alcohol, café descafeinado, chocolate sin azúcar y pomelo. Sobre la base de los análisis realizados se puede concluir que el consumo de los cuatro alimentos amargos evaluados es el mismo independientemente que sean “Gustadores” o “No Gustadores” de amargo. Sin embargo, los valores promedios de aceptabilidad y valor de incentivo del grupo de “No Gustadores” fueron significativamente menores que los del grupo de “Gustadores”. Por lo tanto, el nivel de ingesta de alimentos amargos no estaría relacionado con su aceptación o valor de incentivo.

## 2. INTRODUCCIÓN

Varios estudios que analizan las preferencias en las conductas alimenticias indican que el componente hedónico de la comida sobrepasa los controles fisiológico-metabólicos del apetito y la regulación homeostática del balance energético (Zheng, Lenard, Shin y Berthoud, 2009). Este componente hedónico, llamado por Lowe y Butryn (2007) como “hambre hedónica”, es un estado subjetivo que no sólo tiene que ver con la ingesta real de alimentos y la satisfacción de la necesidad fisiológica, sino que además se relaciona con aspectos de consumo por placer y por la disponibilidad constante de alimentos. Estos autores indican que la orientación hedónica actual no solo es un fenómeno social que afecta los procesos de alimentación, sino que además, ayuda a configurar personas más susceptibles y proclives a patologías como la drogadicción o el juego compulsivo (Barreto, 2011). En los estudios de preferencias gustativas, tradicionalmente se ha empleado medir como única variable la evaluación hedónica. Sin embargo, existe otra variable que se está analizando como independiente del valor hedónico (liking) y que se denomina valor de incentivo (wanting) (Finlayson, King y Blundell, 2007). Mientras que el primer componente alude al proceso afectivo de placer derivado de la estimulación orosensorial de la comida, el segundo se refiere al proceso motivacional de disposición a comer o deseo por consumir un alimento por la recompensa (Berridge, 1996). En este sentido, resulta necesario un examen más exhaustivo de la conducta alimentaria para determinar el impacto de liking y wanting en las preferencias de los consumidores, ya que cada uno de ellos parece desempeñar un rol diferente en el control del apetito, la regulación del peso y la obesidad (Mela, 2006). Los estudios sobre el

efecto de cada componente del valor reforzante de la comida sobre las preferencias alimentarias por sabores amargos son hasta donde sabemos inexistentes, a pesar de la repercusión en nuestra dieta de productos como el chocolate, el café o las verduras. Dado que existe una predisposición inicial a rechazar sustancias amargas (Glendinning, 1994), parece evidente que las preferencias por este tipo de alimentos se adquieren a lo largo de la vida. Pero, ¿cuáles son los procesos que subyacen al desarrollo de la preferencia por el sabor amargo? También es conveniente resaltar que existe un amplio espectro de compuestos que confieren a los alimentos gusto amargo, tales como las isoflavonas (p.ej., en legumbres y soja), catequinas (p.ej., en el chocolate, vino tinto y té) o ácidos fenólicos (p. ej., en el café) (véase Drewnowski y Gomez-Carneros, 2000). Analizar las preferencias alimentarias por este tipo de sabores permitiría avanzar en el estudio de la selección e ingesta de alimentos. Asimismo, abriría nuevas vías en el diseño de intervenciones que favorezcan la aceptación y consumo de verduras y frutas, los cuales se han asociado con reducidas tasas de obesidad, cáncer y enfermedades coronarias (Heber, 2004).

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

Una población de 144 personas de la Pontificia Universidad Católica de Argentina respondió un cuestionario de preferencia de alimentos, de frecuencia de consumo y del historial de dieta. A partir de la sumatoria de las respuestas obtenidas se calculó un índice de preferencias de alimentos amargos (IPBF). Los sujetos con puntuaciones extremas en el IPBF fueron asignados en dos grupos: “No Gustadores de amargo” y “Gustadores de amargo”. Se seleccionaron 59 sujetos (31 “Gustadores” y 28 “No Gustadores”; edad promedio 24 años; 50 % varones y 50 % mujeres), que además no presentaban alergias, regímenes hipocalóricos y trastornos de conducta alimentaria. El grupo fue seleccionado utilizando un índice de preferencia por los alimentos amargos (IPBF), calculado mediante la suma de las puntuaciones de un cuestionario de preferencia de alimentos (FPQ), un cuestionario de frecuencia de alimentos (FFQ) y una versión del cuestionario del historial de dieta del Instituto Nacional del Cáncer (DHQ). Estos instrumentos preguntaron acerca de una variedad de alimentos de sabor amargo, incluyendo los alimentos utilizados en el estudio. Los sujetos también respondieron al cuestionario de elección de Alimentos (Food Choice Questionnaire), que mide los factores que influyen en los

hábitos dietéticos de la población. Los criterios de exclusión fueron aversiones, tabaquismo, enfermedades, historia de trastornos de la alimentación, dieta, diabetes y alergia a los alimentos ofrecidos. El experimento fue aprobado por el Comité de Ética de la Universidad Católica Pontificia Argentina. Los estímulos fueron seleccionados sacándoles el valor de incentivo: 1) Café descafeinado (Nescafé Decaf, Nestlé, Argentina) entendiendo que la cafeína es el incentivo; 2) Chocolate sin azúcar (licor de cacao; Cargill Agrícola S.A., Brasil), el valor de incentivo serían las calorías o el gusto dulce que no presentaba; 3) Cerveza sin alcohol (Quilmes Lieber, Cervecería y Maltería Quilmes S.A.I.C.A.y G, Argentina); 4) Jugo de pomelo. Los consumidores no sabían que el café era descafeinado, la cerveza sin alcohol o el chocolate era amargo antes de probarlo. Para analizar las preferencias se preguntó ¿Cuánto placer me da consumir este alimento? Y la escala estaba indicada desde no me gusta extremadamente (valor 1) hasta me gusta extremadamente (valor 9). El valor de incentivo respondía a la pregunta ¿Cuánto quiero comer otra vez este alimento? Y la escala estaba indicada desde no lo volvería a consumir hasta lo volvería a consumir. Las diferencias entre las dos condiciones de amargo (Gustadores y No Gustadores) fueron analizadas por Análisis de Varianza utilizando el programa estadístico PASW Statistics 18.

#### **4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En la Tabla 1 se indican las características de la muestra de los 59 sujetos seleccionados a partir de la muestra inicial de 144 participantes. En la Figura 1 se puede observar que el consumo de los alimentos evaluados, con especial atención en los cuatro alimentos seleccionados, no presenta diferencias significativas por preferencia de amargo. Los valores de aceptabilidad obtenidos variaban entre los alimentos evaluados reflejando una mayor preferencia para el jugo de pomelo, seguido por la cerveza, el café y por último el chocolate, que fue percibido como muy desagradable. Los promedios del grupo de “No Gustadores” de amargo fueron significativamente menores que los del grupo de “Gustadores”. Las diferencias entre ambos grupos estuvieron en el rango de 1.4 a 1.6, excepto para el chocolate, cuya diferencia fue solo del 0.7. Por lo tanto, un alimento muy desagradable decrece las diferencias de aceptabilidad entre “Gustadores” y “No Gustadores” de alimentos amargos. Cuanto más

intensamente amargo es un alimento menores son los valores de aceptabilidad. Las medidas de incentivo siguen la misma tendencia que los de aceptabilidad pero con valores promedios inferiores. La bebida más aceptada, pomelo, también tuvo el valor más alto de incentivo. En las figuras 2 y 3 se muestran los valores para la Aceptabilidad y valor de Incentivo según los “Gustadores” y “No Gustadores” de amargo en todo el rango de la escala. Para comparar ambos grupos se tomó el porcentaje de consumidores que dieron valores entre 6 y 9 en la escala hedónica porque es el rango de aceptación. Para el café la diferencia es de 27.1 % superior en los gustadores de amargo; para la cerveza es de 23.5 %, chocolate 7.6 % y 11.5 % para pomelo. Como puede verse las diferencias se reducen en los alimentos que menos gustaron (chocolate) y en los que más gustaron (pomelo). En el caso del valor de incentivo, las diferencias fueron, para el café 24.5 %, cerveza 23.5 %, chocolate 8.7 %, y para pomelo 24.3 %. El cambio observado respecto de las diferencias en aceptabilidad es en pomelo que fue el alimento tomado como neutro, es decir que no poseía ninguna característica como valor de incentivo. Probablemente, el incentivo haya sido que el pomelo presenta un nivel muy bajo de calorías. Los consumidores “gustadores” de amargo -que dieron en promedio un valor de aceptación de 6.9 para el jugo de pomelo- quizás lo volverían a consumir porque además de rico es dietético. La frecuencia de los “No Gustadores” de amargo que dieron el valor de 1 en la escala de incentivo para café y chocolate fue mayor que la de los “Gustadores” (48.4 % -50.7 % y 29.4 % -28.1 % , para “no gustadores” y “gustadores”, respectivamente). Pareciera que los “no gustadores” están más seguros de no querer consumir esos alimentos.

## 5. CONCLUSIONES

Sobre la base de los análisis realizados se puede concluir que el consumo de los cuatro alimentos amargos evaluados es el mismo independientemente que sean gustadores o no gustadores de amargo. Sin embargo, los valores promedios de aceptabilidad y valor de incentivo del grupo de “No Gustadores” fueron significativamente menores que los del grupo de “Gustadores”. Por lo tanto, el nivel de ingesta de alimentos amargos no estaría relacionado con su aceptación o valor de incentivo.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARRETO, I. (2011). *Representaciones sociales asociadas al consumo hedónico*. Bogotá, Colombia: Konrad Lorery Fundación Universitaria
- BERRIDGE, K. C. (1996). Food reward: brain substrates of wanting and liking. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 20, 1–25.
- DREWNOWSKI, A., & Gomez-Carneros, C. (2000). Bitter taste, phytonutrients, and the consumer: a review. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 72, 1424–1435.
- FINLAYSON, G., King, N. y Blundell, J. E. (2007). Liking versus wanting food: importance for human appetite control and weight regulation. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 31, 987–1002.
- GLENDINNING, J.I. (1994). Is the bitter rejection response always adaptive? *Physiology & Behavior*, 56, 1217–1227.
- HEBER, D., (2004). Vegetables, fruits and phytoestrogens in the prevention of diseases. *J. Postgrad. Med.* 50, 145–149.
- LOWE, M., & Butryn, M. (2007). *Hedonic hunger: a new dimension on appetite*. *Physiology & Behaviour*.
- MELA, D., (2006). Eating for pleasure Reconsidering sensory hedonic responses as a driver or obesity or just wanting to eat? *Apetite*.
- ZHENG, H., Lenard, N., Shin, A., & Berthoud, H.-R. (2009). Appetite control and energy balance regulation in the modern world: Reward-driven brain overrides repletion signals. US National Library of Medicine.

## 7. TABLAS Y FIGURAS

**TABLA 1.** Características de la población (59 personas) según sus preferencias por alimentos amargos

| CARACTERÍSTICAS          | NO GUSTADORES | GUSTADORES |
|--------------------------|---------------|------------|
| Hombres                  | 12            | 9          |
| Mujeres                  | 16            | 22         |
| Edad (años)              | 23.8 ± 4.5    | 25.8 ± 8.1 |
| IMC (kg/m <sup>2</sup> ) | 22.1 ± 2.7    | 21.9 ± 2.9 |

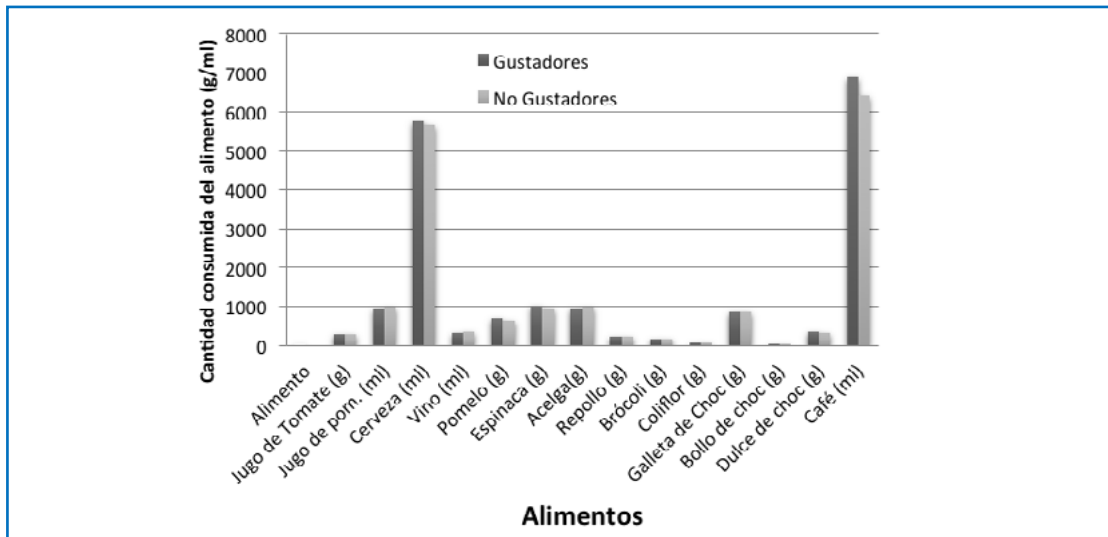
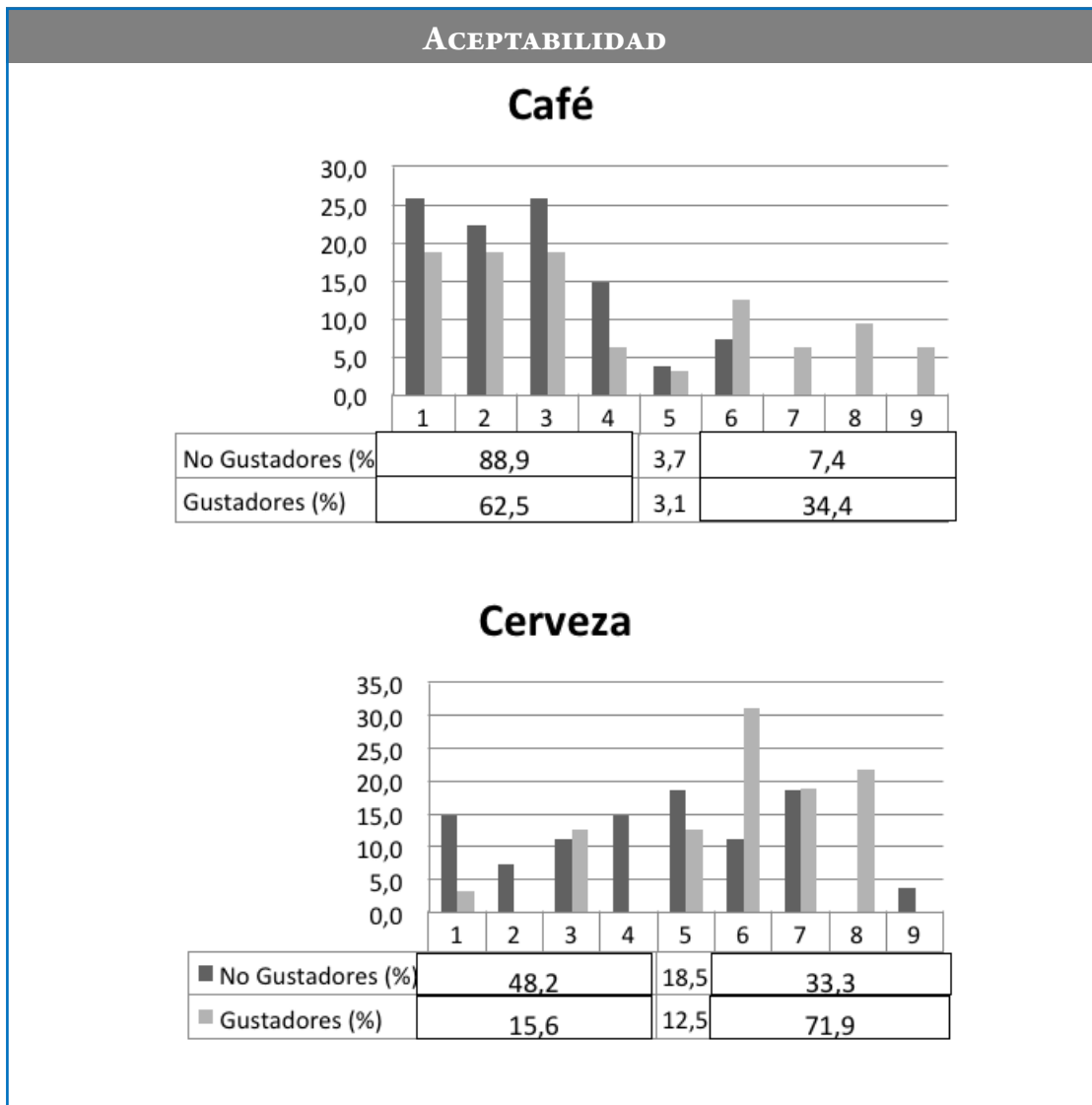
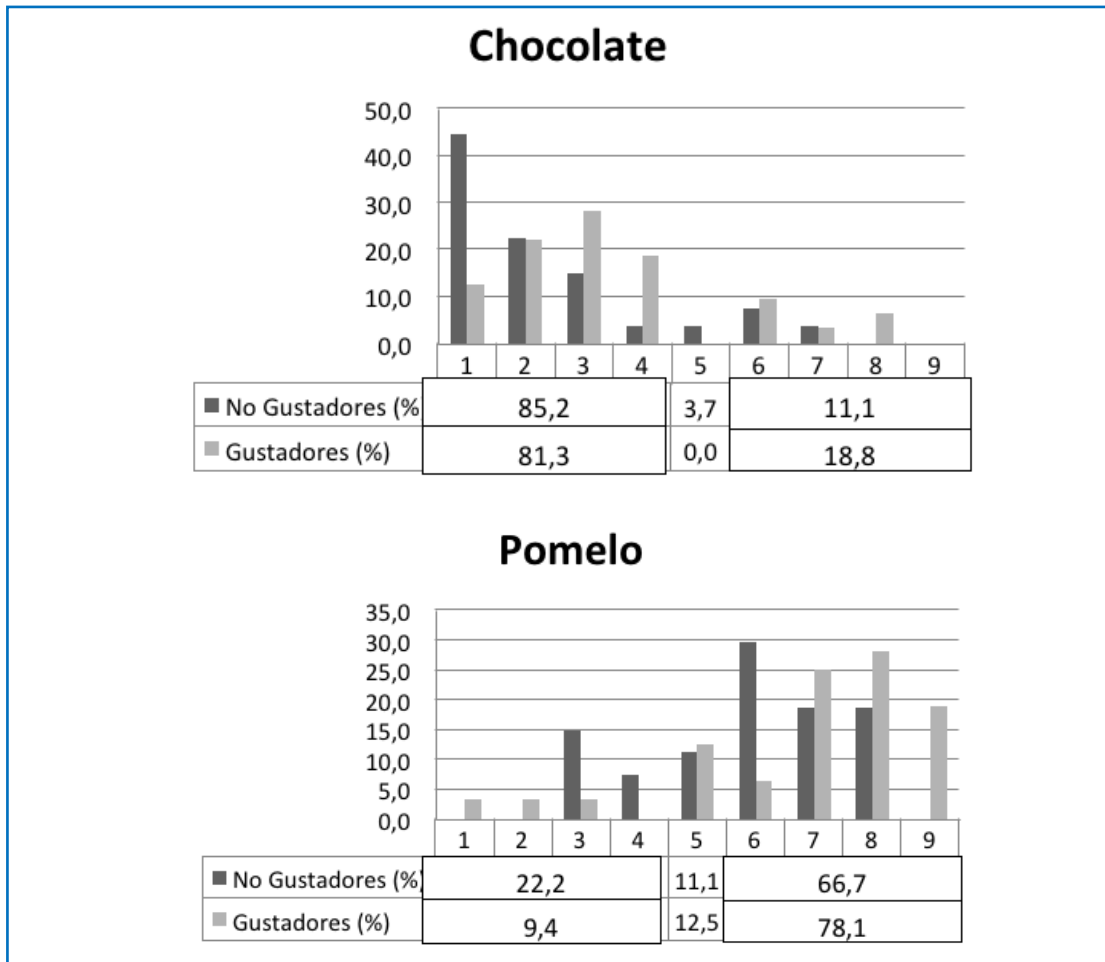
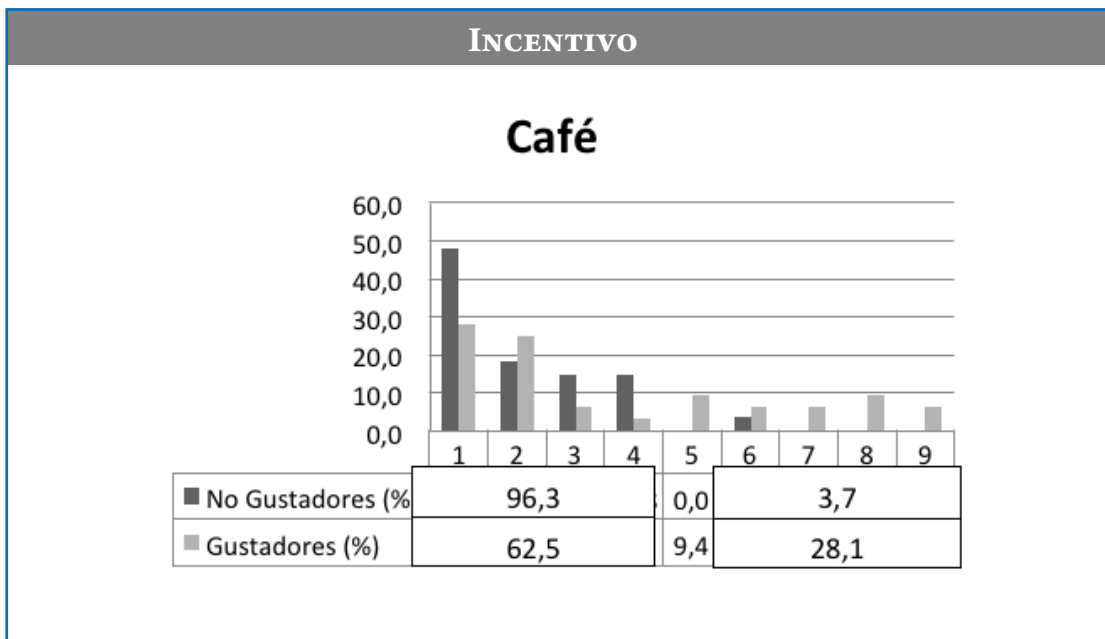


FIGURA 1. Consumo mensual de alimentos según “Gustadores” y “No Gustadores” de amargo

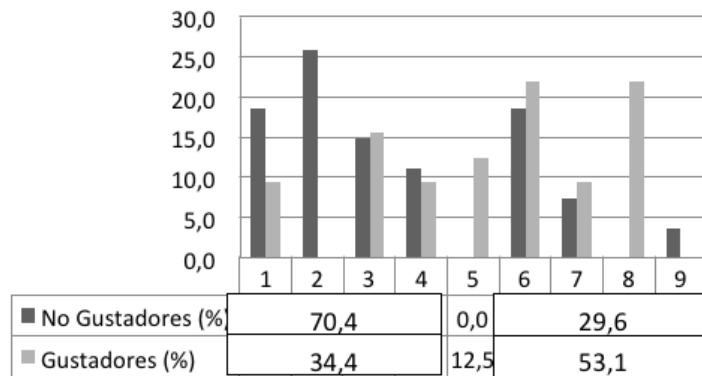




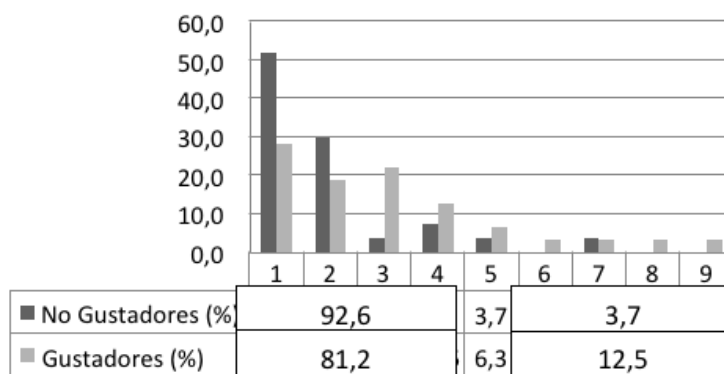
**FIGURA 2.** Valores de Aceptabilidad según la condición del gusto amargo para cada alimento analizado



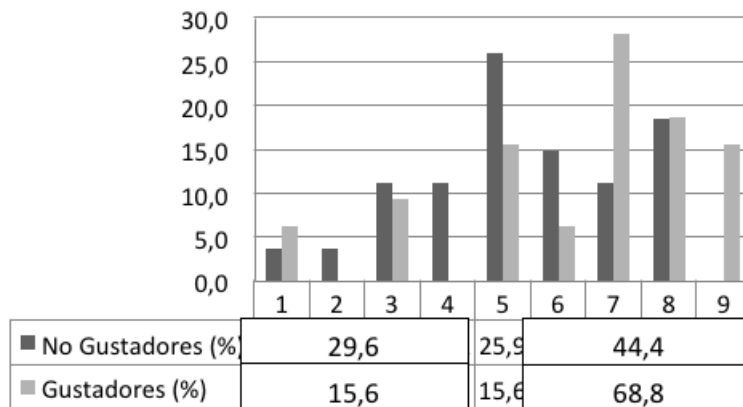
### Cerveza



### Chocolate



### Pomelo



**FIGURA 3.** Valor de Incentivo según la condición del gusto amargo para cada alimento analizado



# ANÁLISIS VALORATIVO DEL CONSUMO DE STEVIA EN DISTINTAS CONDICIONES BIOLÓGICAS Y ACEPTABILIDAD DE PRODUCTOS FORMULADOS CON ESTE EDULCORANTE

Daniela Del Zotto, María Cristina Ciappini

## 1. RESUMEN

La *Stevia rebaudiana* Bertoni es una planta de la familia de los crisantemos, que posee seis glicósidos edulcorantes. Entre éstos, el rebaudiósido A se destaca por ser el de mayor poder edulcorante y por no conferir resabio amargo. El uso de Stevia es de gran interés no sólo en la industria alimentaria, sino en el ámbito de la salud, ya que no aporta calorías, posee efectos hipoglicemiantes, antiarrítmicos y anticaries, entre otros. El objetivo principal de este trabajo fue valorar cuantitativamente el consumo de Stevia y de los glicósidos del esteviol, para establecer estrategias apropiadas, que orienten sobre su uso en la industria alimentaria y sobre su consumo, particularmente en ciertas situaciones en las que es recomendable sustituir el azúcar de la dieta (diabetes, obesidad) y/o controlar el consumo de edulcorantes artificiales (hipertensión, embarazo, lactancia). Se realizó una encuesta de consumo y aceptabilidad, en la que participaron 121 consumidores, de edades comprendidas entre 18 y 65 años, de los cuales el 63.4% eran mujeres. Se realizó un relevamiento en el mercado, registrando productos elaborados con Stevia y/o glicósidos de esteviol, que se comercializan en la actualidad en el mercado argentino. Entre estos productos, se seleccionó el dulce de leche de marca comercial “Triny”, para utilizar en las pruebas de grado de satisfacción, que se realizaron de acuerdo a ISO 11136 (2012). El 73.3% de los participantes, manifestó conocer la Stevia, aunque sólo el 39.2% la consumía. Este valor se incrementó al 60.5%, cuando se consideró al grupo de individuos que padecían obesidad, diabetes, hipertensión o atravesaban

---

CONTACTO: Daniela Del Zotto [danielzotto@yahoo.com.ar](mailto:danielzotto@yahoo.com.ar)  
Universidad Tecnológica Nacional, Facultad Regional Rosario  
E. Zeballos 1341, 2000 Rosario, Santa Fe, Argentina.

un período de embarazo o lactancia (60 personas). Este grupo percibió a la Stevia como un “producto sano, natural y no calórico”, mientras que quienes no se encontraban en alguna condición biológica especial, manifestaron “desagrado, falta de costumbre o desinterés”. La forma de presentación en sobres individuales fue la más distinguida entre quienes la conocían (62.2%), seguida por la de hojas. El valor máximo de consumo estimado de reabudósidos fue de 340 mg diarios. El grado de satisfacción del dulce de leche indicó que el producto gustó a los consumidores de dulce de leche, de cualquier condición biológica. Se estima que aún existe cierto desconocimiento acerca este edulcorante por parte de los consumidores, quienes en general no lo adquieren como tal, pero lo encuentran satisfactorio cuando lo ingieren en un producto elaborado.

## **2. INTRODUCCIÓN**

El endulzante más conocido es el azúcar común llamado también azúcar blanco, azúcar refinado o sacarosa. Debido a que un elevado consumo de azúcar puede favorecer la aparición de problemas como caries, sobrepeso, trastornos en el metabolismo de las grasas y diabetes, la industria alimentaria emplea cada vez más sustitutos del azúcar y edulcorantes. Los aditivos edulcorantes se caracterizan por no aportar calorías, carecer de valor nutritivo y contener un poder edulcorante muy superior al de la sacarosa (López y Suárez, 2002).

El uso de edulcorantes artificiales ha sido objeto de múltiples polémicas en lo que respecta a su seguridad a largo plazo. Actualmente no existen datos concluyentes sobre el efecto de los edulcorantes en cuanto a la ingesta energética, el apetito y su relación con el sabor dulce, y por otro lado tampoco se conocen las cantidades exactas de estos edulcorantes contenidas en los alimentos consumidos. Por eso resultaría interesante cuantificar lo más exactamente posible la prevalencia de consumo de los mismos, para mejorar el consumo racional de estas sustancias en nuestras dietas.

La seguridad de los edulcorantes es evaluada por las autoridades nacionales, por el Comité mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA) y por la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA). Dentro de la EFSA, la Comisión técnica de aditivos alimentarios y fuentes de nutrientes añadidos a los alimentos (ANS), es la responsable actual de la regulación legal de estas sustancias.

Los aspectos legales necesitan ser revisados continuamente para actualizar nuevos aportes científicos sobre eficacia o seguridad en el uso de estos edulcorantes. Al ser moléculas muy diversas, las fuentes de riesgos potenciales son múltiples: interferencia en la absorción, metabolismo o excreción de nutrientes o metabolitos intermedios, así como reacciones alérgicas, acumulación en los tejidos, efectos sobre la flora intestinal normal, alteración de regulación de la glicemia, interacción con fármacos o drogas (García y col., 2013). Por estos motivos, se estima una Ingesta Diaria Admisible (IDA) para cada una de estas sustancias. La IDA se puede definir como un índice capaz de medir el grado de peligrosidad de la ingesta de un aditivo alimentario. La definición más formal expresa que es la cantidad aproximada (en miligramos) de un edulcorante o aditivo presente en un alimento, expresada en relación con el peso corporal y que se puede ingerir a diario, durante toda la vida de una persona, sin que llegue a representar un riesgo apreciable para la salud. Esto último se refiere a la certeza real, de acuerdo con las investigaciones científicas realizadas. La IDA se representa normalmente en miligramos al día por kilogramo de peso corporal.

En Argentina los edulcorantes sintéticos están autorizados (Art. 1347 y 1348, Cap. XVII, Código Alimentario Argentino, 2010), sin embargo, la permanente sospecha de riesgos ocasionados por su consumo, particularmente en condiciones biológicas tales como embarazo y diabetes, conducen a la búsqueda y utilización de edulcorantes naturales, considerados inocuos para la salud.

En este sentido, en agosto del 2009, la Comisión Nacional de Alimentos (CONAL) acordó incluir la hierba *Stevia rebaudiana* Bertoni al Código Alimentario Argentino (CAA), en base a su consumo tradicional y ancestral. Por ello resolvieron, la inclusión de los artículos: 1192 tris, que admite la incorporación de hojas de *Stevia* al té y a las hierbas para infusiones; el Art. 1198 tris, que permite su agregado a la yerba mate y el Art. 1110, que admite su incorporación en bebidas alcohólicas (CAA, 2010).

En 2008, grupos de expertos emitieron opiniones apoyando la seguridad de los glicósidos de esteviol puros. En esa época se obtuvieron versiones del rebaudiósido A altamente purificados, que EEUU adoptó bajo el nombre de Rebiana y que Mercosur sigue denominando glicósidos de esteviol. Francia autorizó su uso a partir de 2009.

En los últimos años, una amplia variedad de productos con Stevia han sido introducidos al mercado. En nuestro país, se comercializa en una amplia gama de productos y de marcas comerciales, dentro de los que se encuentra desde el propio edulcorante líquido y en polvo, hasta cereales, yogures, refrescos y bebidas, cacao en polvo, polvo para postres dietéticos, entre otros.

Así como resulta de interés conocer el uso efectivo de este edulcorante por parte de los consumidores, para verificar que se encuadre en las recomendaciones de ingesta segura o, en su defecto, modificar los valores recomendados, cobra gran interés también conocer la aceptabilidad del producto y el grado de satisfacción que provoca. Esta información integrada, permitirá evaluar estrategias de promoción de consumo, particularmente entre quienes, por razones de salud, deban eliminar o sustituir el azúcar en sus dietas. De la aceptabilidad y satisfacción que provoca, depende el éxito de su incorporación efectiva a la dieta (Rolls, 1991).

Fue objetivo de este trabajo realizar un análisis valorativo cuali y cuantitativo sobre el consumo de Stevia rebaudiana y los glicósidos de esteviol, para proponer recomendaciones que orienten sobre su consumo y uso en la industria alimentaria.

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

Se llevó a cabo un relevamiento en el mercado, registrando los productos elaborados con Stevia y/o glicósidos de esteviol que se comercializan en la actualidad en el mercado argentino.

Se realizó una encuesta de consumo y aceptabilidad, de acuerdo a Moskowitz y col. (2009), que consistió en preguntas con respuestas semiestructuradas, en la que participaron 121 consumidores. Se llevó a cabo un ensayo previo para verificar que la encuesta era de fácil realización y que las preguntas eran unívocamente interpretadas (Kemp y col., 2011). Se incluyeron pacientes que estuvieran atravesando condiciones biológicas de interés para este estudio, en similar proporción a pacientes que no las atravesaban.

Se seleccionó el dulce de leche de marca comercial “Trini” para utilizar en las pruebas de grado de satisfacción, considerando que el dulce de leche es un producto que se consume fundamentalmente por satisfacción, por el placer que causa su ingesta. En virtud de ello, los consumidores no están dispuestos a tolerar defectos sensoriales en el mismo. Las pruebas para evaluar el grado de satisfacción se reali-

zaron de acuerdo a ISO 11136 (2012), utilizando una escala gráfica hedónica de 5 puntos.

Se utilizó una encuesta de frecuencia de consumo de los productos específicos que podrían contener el edulcorante bajo investigación, que indica la ingesta alimentaria habitual y tiene una tasa de respuesta elevada. Los datos se recolectaron utilizando un diario de 48 horas (Kim y col., 2004). En ensayos previos, se verificó la necesidad de orientar a los participantes en la realización de estos registros, tarea que se complementó entonces con una entrevista personal (Food Standards Australia New Zealand, 2004).

Para el procesamiento estadístico de los datos, se utilizó el paquete estadístico SAS v.9.3 (SAS Institute, Cary, Usa, 2011).

#### **4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Se aprecia que son numerosos los productos endulzados con Stevia presentes en el mercado, ofrecidos por marcas de primera línea, que apuestan por este edulcorante. Entre ellos se encuentran: la línea de productos Trini, de la empresa Cerro Azul; Green by 7Up y Aquafina plus de varios sabores, de Pepsico; Coca Cola Life, de Coca Cola Company; Cereal Free, hojuelas de cereales endulzados con Stevia de la empresa Granix; Nesquik, de Nestlé y Equalsweet, de Merisant, entre otros.

El grupo etario predominante entre los encuestados estuvo comprendido entre 26 y 35 años, del cual, el 63.4% eran mujeres. Las variables edad y sexo de los participantes, por tratarse de una investigación que buscaba entre otras cosas condiciones biológicas como embarazo y lactancia, encontraron su predominio en el grupo etario correspondiente a la etapa reproductiva de la mujer, como podía preverse. De los 121 participantes de las pruebas de aceptabilidad, 60 eran individuos que padecían obesidad, diabetes, hipertensión o atravesaban un período de embarazo o lactancia; se los denominó Grupo 2, mientras que las 61 personas restantes constituyeron el Grupo 1.

El 76.0% de los individuos del grupo 2 admitieron emplear edulcorantes, mientras que este porcentaje fue del 52.9% en el grupo 1. El 73.3% de las personas declaró conocer Stevia, aunque el 60.8% de quienes lo conocían, no lo consumía, porque no les gustaba, por desinterés, porque endulza poco o nada o no se consigue fácilmente.

El porcentaje de quienes sí lo consumían fue ampliamente mayor en el grupo 2 (60.5 %) que en el grupo 1 (16.7 %). Estos consumidores recomendarían Stevia porque es sano, natural y de bajas calorías (75.0 %).

En relación al grado de satisfacción, La Figura 1 muestra los resultados obtenidos, entre los que no se observó ninguna respuesta de total desagrado (puntaje igual a 1). El 51.49 % de los encuestados le asignó 4 puntos y el 26.73 %, 5 puntos. Solamente el 2.97 % le otorgó una nota de 2 puntos.

Se pudo observar que tanto el conocimiento de Stevia como su grado de aceptabilidad y agrado fueron mayores en las personas que por motivos de salud debían consumir edulcorantes no calóricos. Esto podría deberse a una adaptación sensorial por el consumo reiterado. Y a la vez, esto haría pensar que, si bien no puede modificarse la percepción de aquellos encuestados a quienes no les convenció el producto, su uso y consumo en mayor cantidad, podría incidir en esta respuesta.

En cuanto al grado de satisfacción obtenido del consumo de dulce de leche Trini, edulcorado con Stevia, se puede afirmar que más del 50 % de los encuestados (de ambos grupos de estudio) lo aprobó con las más altas calificaciones dentro de la escala hedónica. Un bajo porcentaje lo encontró desagradable y ningún encuestado le dio el puntaje más bajo de la escala (Figura 1).

Cuando se dividió a los participantes entre consumidores frecuentes y no frecuentes de dulce de leche, se pudo ver una mayor aceptación y agrado del producto en los primeros (Figura 2). De acuerdo a esto, podría inferirse que es probable que el menor agrado correspondiente al segundo grupo se deba a que cualquier dulce de leche les resulte poco agradable, no específicamente éste endulzado con Stevia.

En la entrevista, se pudo comprobar que los consumidores eran conscientes del consumo del edulcorante solo cuando lo agregaban a las infusiones o al agua para prepararlas. Cuando se les preguntaba acerca de los productos que ingerían a diario, surgía el consumo de edulcorantes en bebidas saborizadas o gaseosas, en postres, chicles, yogures, polvos para preparar bebidas sin alcohol u otros. Esto coincide con lo observado en otros trabajos, particularmente en estudios de consumo de edulcorantes en niños (Cagnaso y col., 2007). Esto puede deberse al desconocimiento por parte de los consumidores de la condición de dietéticos de los alimentos adquiridos. En el rubro bebidas, por ejemplo, las bebidas gasificadas de líneas “económicas”, no enfatizan en sus rótulos su condición de dietéticas y, en su mayoría, no indican con claridad que poseen, por ejemplo, ciclamato o sacarina entre sus ingredientes. Los

polvos para preparar bebidas sin alcohol presentan agregado de edulcorantes no nutritivos, circunstancia que a menudo es también desconocida por los consumidores. En relación a la Stevia, su empleo en bebidas en reemplazo de otros edulcorantes no nutritivos sólo se observa en las bebidas de las primeras marcas. En este caso están acompañadas por campañas publicitarias que informan al consumidor y que se basan fundamentalmente en promover la condición de edulcorar con un producto natural. Sin embargo, aún así, no existe una clara asociación por parte de los consumidores en relación a la ingesta de Stevia a partir de bebidas y alimentos ya preparados.

En la Figura 3 se observa la distribución del número de individuos que consumen Stevia en función del porcentaje que cubren de la ingesta diaria admisible (IDA). Sólo un individuo superó la IDA; habiendo declarado el consumo de 8 sobres diarios de Stevia.

La Comisión del Parlamento europeo en lo que respecta al consumo de glicósidos del esteviol, también encontró que: “Según unas estimaciones prudentes de la exposición a los glucósidos de esteviol, tanto en adultos como en niños, es probable que se supere dicha ingesta en la dosis máxima propuesta” (Diario Oficial de la Unión Europea, 2011). En su evaluación de la exposición a los glucósidos de esteviol como aditivo alimentario en los usos propuestos, concluyeron que los productos que contribuyen principalmente a la exposición total anticipada a los glucósidos de esteviol, son las bebidas no alcohólicas aromatizadas. Proponen, en consecuencia, que debe disminuirse la dosis permitida de este aditivo en dichas bebidas, respecto a las dosis propuestas anteriormente.

Si se estima el consumo potencial de Stevia teniendo en cuenta el registro de productos ingeridos y asumiendo que todos los productos dulces de ese grupo se edulcoraran con Stevia, la ingesta diaria estimada máxima alcanzaría el 175 % de la IDA.

## 5. CONCLUSIONES

Considerando que la Stevia ha encontrado su lugar en el mercado, tal como lo prueba el crecimiento de productos que lo contienen y el grado de satisfacción que los mismos generan, es factible promover su consumo, realzando sus cualidades nutricionales únicas: es natural (ventaja del azúcar y la miel) y no aporta calorías (ventaja de gran parte de los edulcorantes artificiales). Se le atribuyen otras ventajas para la salud, que reforzarían la promoción de su consumo.

Sin embargo, sería oportuno revisar la legislación actual y adecuarla, con el propósito de proteger al consumidor, pudiendo tomar como referencia la estrategia que pusiera en práctica la Unión Europea, que limita las cantidades máximas permitidas a ser usada en los diferentes productos alimenticios. Asimismo, y considerando que el consumidor no sólo ingiere productos industriales elaborados con Stevia y sus derivados, sino que también edulcora sus propias preparaciones, será indispensable encontrar el mecanismo de advertir al consumidor sobre estos límites.

Sería recomendable ensayar el grado de satisfacción que la Stevia produce en otras formas de presentación, además del dulce de leche, y aumentar el número de encuestas de consumo para que los resultados puedan ser extrapolables a la población en general.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CÓDIGO ALIMENTARIO ARGENTINO 2010. Disponible en [http://www.anmat.gov.ar/alimentos/normativas\\_alimentos\\_caa.asp](http://www.anmat.gov.ar/alimentos/normativas_alimentos_caa.asp). Consultado: julio 2014.
- CAGNASSO, C.; López, L.; Valencia, M. 2007. Edulcorantes no nutritivos en bebidas sin alcohol: estimación de la ingesta diaria en niños y adolescentes. Arch. Argentino Pediatría; 105(6):517-521.
- DIARIO OFICIAL DE LA UNIÓN EUROPEA. 2011. Reglamento (CE) n.º 1333/2008. DO L 354, p. 16 del 31.12.2008 y modificatorias: DO L 295, 205-211 del 11.11.11.
- FAO/WHO Guidelines for simple evaluation of food additive intake (1st ed.). Joint FAO/WHO Food Standards Program, Supplement to Codex Alimentarius Vol. XIV, 1989. Disponible en: <http://www.codexalimentarius.net>. (Consulta: 20 de Febrero 2012).
- FOOD STANDARDS AUSTRALIA NEW ZEALAND. 2004. Consumption of intense sweeteners in Australia and New Zealand: Benchmark Survey 2003. Evaluation Report Series n.º 8. ISBN 0 642 34598 8.
- GARCÍA ALMEIDA, J. M.; Casado Fernández, G. M.; García Alemán, J. 2013. Una visión global y actual de los edulcorantes. Aspectos de regulación. Nutrición Hospitalaria; vol. 28 (Supl. 4): 17-31.
- ISO 11136 2012. Sensory Analysis – Methodology – General guidance for conducting hedonic test with consumers in a controlled area. ISO: Ginebra, Suiza.
- KIM, H.Y.; Yoon, H.J.; Hong, K.H.; Choi, D.J.; Park, S.K.; Park, H.O.; Jin, M.S.; Choi, W.J.; Park, S.Y.; Lee, K.J.; Lee, C.W. 2004. Estimated dietary intake of sodium saccharin and



acesulfame potassium in Koreans. *Korean Journal of Food Science and Technology*, 36: S804-S81.

KEMP, L. 2001. *Fathers nurturing their children post divorce: The fathers' perspective*. Colorado State university.

LÓPEZ, L. y Suárez, M. 2002. *Fundamentos de Nutrición Normal*, Buenos Aires: El Ateneo.

MOSKOWITZ, G.B.; Grant, H. 2009. *The Psychology of Goals*. New York, NY: Guilford Press.

ROLLS, B. J.; Kim, S. Mc Neils, A. L.; Fischman, M. W.; Foltin, R. W.; Moran, T. H. 1991. Time course of effects of preloads high in fat or carbohydrate on food intake and hunger ratings in humans. *Am. J. Physiol.*, 260:R756-63.

## 7. TABLAS Y FIGURAS

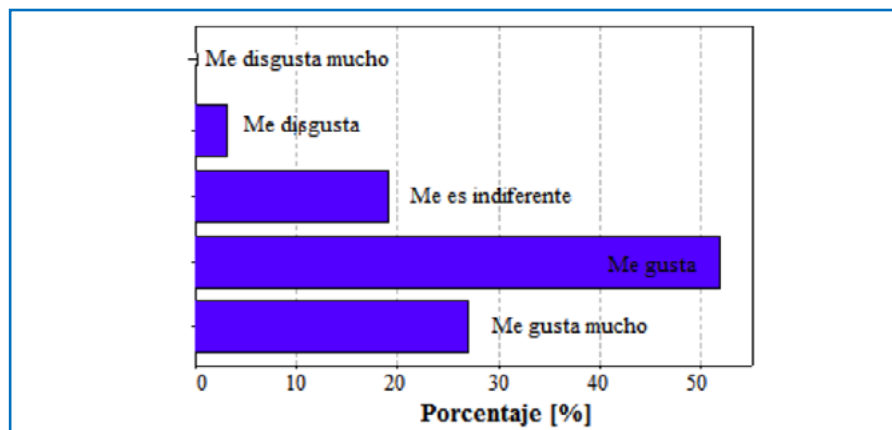


FIGURA 1. Grado de satisfacción con el dulce de leche degustado

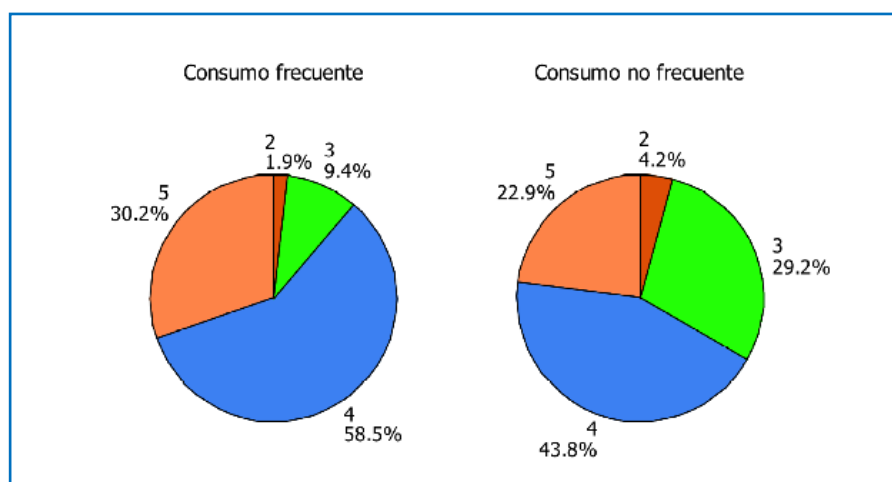
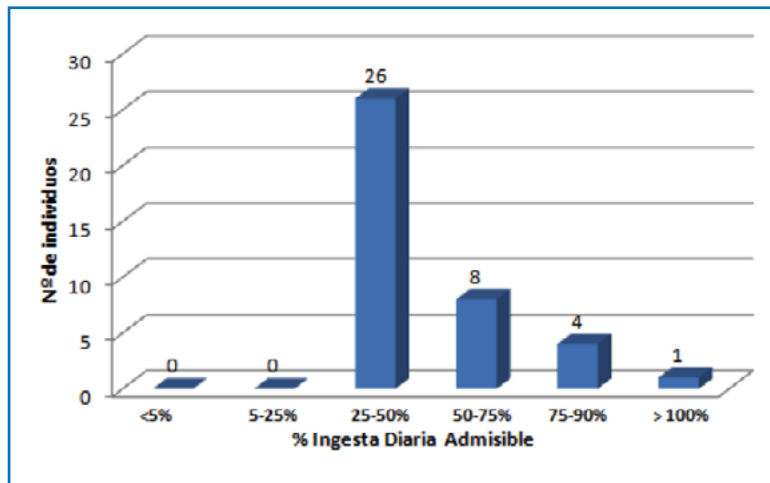


FIGURA 2. Grado de satisfacción con el dulce de leche degustado según frecuencia de consumo de dulce de leche



**FIGURA 3.** Número de individuos que consumen Stevia en función del porcentaje de Ingesta Diaria Admisible

# ACTIVIDAD ANTITROMBÓTICA DE PROTEÍNAS DE AMARANTO SOMETIDAS A DIGESTIÓN GASTROINTESTINAL SIMULADA

Ana Clara Sabbione, Adriana Scilingo, María Cristina Añón

## 1. RESUMEN

El amaranto es un pseudocereal americano que además de presentar ciertas ventajas agronómicas que lo convierten en un cultivo interesante, posee en sus semillas proteínas de muy buena calidad en cantidad apreciable. En este trabajo, con el objeto de evaluar la potencial actividad antitrombótica de las proteínas de amaranto o de los péptidos encriptados en ellas, se sometió a un aislado proteico de amaranto obtenido a partir de harina desgrasada a digestión gastrointestinal simulada (DGS). Las proteínas se hidrolizaron primero con pepsina (pH 2, 37 °C) y luego con pancreatina (pH 6, 37 °C), empleando el protocolo modificado de Roesler y Rao<sup>1</sup>. Se determinó el contenido de proteínas (Kjeldahl) en las muestras, el grado de hidrólisis (OPA), los perfiles electroforéticos de alícuotas tomadas a diferentes tiempos durante la DGS y la actividad antitrombótica *in vitro*<sup>2,3</sup>. El hidrolizado, comparado con el aislado exhibió diferentes perfiles electroforéticos (tricina-SDS-PAGE), evidenciando la presencia de diversas especies moleculares de menor masa molecular. El grado de hidrólisis alcanzado al finalizar la DGS fue  $51,1 \pm 3,8\%$ . Mediante los ensayos de inhibición de la coagulación se observó que el aislado de amaranto no presentó actividad antitrombótica a las concentraciones estudiadas, mientras que la muestra digerida sí logró inhibir la coagulación. En este caso la concentración que inhibe el 50% de la formación del coágulo ( $IC_{50}$ ) fue  $0,23 \pm 0,02$  mg/ml. Se halló una única fracción activa cuando el hidrolizado se separó mediante cromatografía de exclusión molecular como un primer paso para purificar los péptidos bioactivos. Los resultados obtenidos sugieren que en las proteínas de amaranto hay

---

CONTACTO: Ana Clara Sabbione [acsabbione@gmail.com](mailto:acsabbione@gmail.com)

Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA-FCE-UNLP), La Plata, Buenos Aires, Argentina.

encriptados péptidos con potencial actividad antitrombótica que podrían liberarse durante el proceso de digestión gastrointestinal.

## 2. INTRODUCCIÓN

Existe una importante relación entre la alimentación y algunas enfermedades prevalentes en el mundo. Tal concepto invita a explorar propiedades biológicas de interés para la salud en diversas fuentes alimentarias. El amaranto es un pseudocereal americano. Sus pequeñas semillas contienen un porcentaje alto de proteínas que se caracterizan por presentar un completo perfil aminoacídico y mayor contenido de lisina que los cereales<sup>4</sup>, por lo cual se presenta como un ingrediente alimentario interesante. Las proteínas de las semillas de amaranto han sido el objeto de estudio de nuestro grupo de investigación como fuente potencial de compuestos con acción fisiológica benéfica y, como otras proteínas alimentarias, ellas o los péptidos encriptados pueden presentar diversas actividades biológicas. Con el objetivo de generar mayor conocimiento, es de nuestro interés explorar la existencia de proteínas y péptidos de amaranto con actividad antitrombótica que podrían generar tales efectos al consumir este pseudocereal.

## 3. MATERIALES Y MÉTODOS

*Semillas de amaranto:* Se utilizaron semillas de *Amaranthus hypochondriacus* (UNRC, Córdoba, Argentina).

*Obtención de la harina:* Las semillas enteras se molieron en un molino Udy, que posee un filtro de 1 mm de malla y se tamizaron a través de un cedazo de malla de 92 micrones. La harina obtenida fue desgrasada mediante extracción con n-hexano, en una relación 10 % p/v, durante 5 horas con agitación constante a temperatura ambiente. Una vez transcurrido ese tiempo se la dejó aproximadamente 20 horas más de contacto en reposo. Para separar el solvente se realizó una filtración a temperatura ambiente empleando una bomba de vacío y luego se dejó secar en iguales condiciones durante otras 20 horas para asegurar la evaporación completa del hexano.

*Preparación de los aislados proteicos:* Los aislados proteicos de amaranto fueron obtenidos a partir de la harina desgrasada<sup>5</sup>, la cual se resuspendió en agua, en una relación 10 % p/v. La extracción de las proteínas se realizó ajustando el pH a 9,0

con NaOH 2 N y agitando la suspensión durante 1 hora a temperatura ambiente. El siguiente paso consistió en la centrifugación a 9000 g a 10 °C durante 20 minutos (centrífuga Beckman). El sobrenadante obtenido en la centrifugación se ajustó a pH 5,0 con HCl 2 N con el fin de precipitar las proteínas presentes al alcanzar su punto isoeléctrico. Para separarlas se centrifugó la dispersión obtenida a 9000 g y a 4 °C durante 20 minutos. Se descartó el sobrenadante; el precipitado fue resuspendido en agua, en una relación 1:3 y se neutralizó con NaOH 2 N hasta pH 7. Luego se congeló a -80 °C y se liofilizó. El sólido obtenido fue molido y almacenado a 4 °C en recipientes herméticos hasta su uso.

*Digestión gastrointestinal simulada (DGS):* A partir del aislado proteico se preparó una suspensión de proteína 2,5 % p/v en NaCl 0,03 M y se ajustó el pH a 2 con HCl 1 N. Luego de termostatar la suspensión proteica durante 30 minutos a 37 °C, se agregó pepsina en una relación 0,1 g pepsina/g de proteína y se incubó durante 1 hora a 37 °C con agitación (100 rpm, agitador orbital con termostato, (Orbit Environ Shaker de Lab-Line). Una vez finalizado el tiempo de reacción con pepsina, se ajustó el pH de la suspensión a 6 con NaOH 1 N y se agregó pancreatina en una relación 0,1 g pancreatina/g de proteína. Se incubó durante 1 hora a 37 °C con agitación (100 rpm en agitador orbital). Finalmente se detuvo la hidrólisis por calentamiento de la mezcla de reacción a 85 °C durante 10 minutos en baño de agua.

Se tomaron alícuotas a distintos tiempos de proteólisis con el objetivo de estudiar la cinética de reacción y realizar un seguimiento de la misma.

· *Solución de pepsina:* Pepsina comercial MP Biomedicals 1:15000. Se prepararon 0,4 g de pepsina 1:15000 en 2,5 ml de solución de HCl 0,1 N y NaCl 0,03 M. La solución se incubó a 37 °C durante 30 minutos con agitación antes de utilizarla.

· *Solución de pancreatina:* Pancreatina comercial MP Biomedicals 4xUSPgrade. Se solubilizaron 0,1 g de pancreatina con 25 ml de NaHCO<sub>3</sub> 0,1 N y se incubó 30 minutos a 37 °C con agitación antes de utilizarla.

*Determinación de proteínas totales:* Se utilizó el método de Kjeldahl<sup>6</sup> recogiendo el amoníaco destilado en ácido bórico 4 % p/v. Para convertir el nitrógeno en proteínas se utilizó como factor de conversión 5,85 g proteína/g de nitrógeno, que es el más adecuado para las proteínas de amaranto<sup>4</sup>.

*Determinación de proteínas solubles:* para cuantificar la cantidad de proteínas en las fracciones a las que se les estudió la actividad antitrombótica, se utilizó el método de Lowry<sup>7</sup>.

**Grado de hidrólisis:** Se determinó mediante la reacción de los grupos amino libres con el ortoftaldehído (OPA) método descrito por Dinnella *et al.*<sup>8</sup>, con algunas modificaciones<sup>9</sup>. La reacción específica entre el OPA y los aminos primarios para formar isoindoles, permite cuantificar los aminos mediante la lectura espectrofotométrica a 340 nm. Se utilizó como buffer de ensayo borato de sodio 0,15 M, 0,15 % p/v SDS, pH 9,5. El reactivo OPA 5,97 mM se preparó en el mismo buffer, adicionando, DTT 5,7 mM.

La curva de calibración se construyó con leucina (Sigma). A partir de una solución de leucina 1 mg/ml, se prepararon diluciones que cubran el rango de concentraciones entre 0,025 y 0,125 mg/ml.

La reacción se llevó a cabo adicionando 100 µl de muestra a 750 µl del reactivo de OPA, agitando y dejando reposar 2 minutos. Una vez realizada la reacción, se midió la absorbancia a 340 nm en un lector de placas Biotec Sinergy HT.

Para calcular el grado de hidrólisis se utilizó la siguiente expresión:

$$\text{GH}\% = \frac{(\text{NH}_{2t} - \text{NH}_{2t=0}) \times 100}{\text{NH}_{2 \text{ totales}}}$$

donde,

$\text{NH}_{2t}$ : grupos amino libres a tiempo de hidrólisis  $t$ .

$\text{NH}_{2t=0}$ : grupos amino libres a tiempo cero de hidrólisis.

$\text{NH}_{2 \text{ totales}}$ : grupos amino totales presentes en la proteína.

$\text{NH}_{2 \text{ totales}} = \text{NH}_{2 \infty} - \text{NH}_{2t=0}$ .

$\text{NH}_{2 \infty} = (1/\text{PM}_{\text{aa promedio}}) \times (1 + f_{\text{Lys}}) \times [\text{proteína aislado}] \times [\text{aislado}] \times 1000$ .

$\text{NH}_{2t=0} = (1/\text{PM}_{\text{aa promedio}}) \times (1/L + f_{\text{Lys}}) \times [\text{proteína aislado}] \times [\text{aislado}] \times 1000$ , y se mide experimentalmente con TNBS utilizando una muestra sin hidrolizar.

$\text{PM}_{\text{aa promedio}}$ : promedio de los pesos moleculares de los aminoácidos de las proteínas de la muestra. Para amaranto se considera 130 g/mol.

$f_{\text{Lys}}$ : proporción de lisina en las muestras (1/16).

$L$ : peso promedio de los péptidos (300 g/mol).

**Electroforesis Tricina-SDS-PAGE:** Se realizaron según lo descrito por Schagger<sup>10</sup>. Respecto a la preparación de las muestras, se mezclaron 20 µl de las alícuotas tomadas a distintos tiempos de proteólisis (concentración aproximada 10 mg/ml), con 10 µl del buffer de muestra con y sin β-mercaptoetanol. Para asegurar la acción del β-mercaptoetanol presente en el buffer de muestra en condiciones reductoras,

las dispersiones fueron calentadas a 100 °C en baño maría durante 1 minuto. Antes de sembrar las muestras en los geles de poliacrilamida, fueron centrifugadas a 10000g, a 15 °C, durante 15 minutos. Posteriormente en cada calle se colocó el volumen de muestra en buffer de muestra que permitiera sembrar entre 20 y 50 µg de proteína por calle. Se usaron patrones de bajo peso molecular (LMW) marca GE Health Care, que incluye las siguientes proteínas: fosforilasa b (94 kDa), seroalbúmina bovina (67 kDa), ovoalbúmina (43 kDa), anhidrasa carbónica (30 kDa), inhibidor de tripsina (20,1 kDa) y α-lactoalbúmina (14,4 kDa), y patrones de muy bajo peso molecular (VLMW) marca BIO-RAD. Las proteínas incluidas en esta mezcla son: triosa-fosfato isomerasa (26,6 kDa), mioglobina (16,95 kDa), α-lactoalbúmina (14,4 kDa), aprotinina (6,51 kDa), cadena β de la insulina (3,5 kDa) y bacitracina (1,4 kDa). Una vez realizadas las electroforesis, los geles fueron fijados y teñidos con Coomassie Brilliant blue R-250. En los casos en los que la sensibilidad de esta tinción fue insuficiente para revelar las proteínas se utilizó tinción con plata. Para ello se empleó un protocolo que requiere fijación de las bandas que luego fueron reveladas mediante una coloración rápida<sup>11</sup>.

Cromatografía rápida de proteínas en medio líquido (FPLC): Se utilizó el equipo de FPLC Pharmacia LKB y la columna Superdex 75 HR 10/30 de exclusión molecular pre-empacada (Amersham Biosciences), la cual presenta un volumen total de 25 ml y un rango de exclusión de 3-70 kDa para proteínas globulares.

Las muestras se dispersaron en el buffer de corrida (Tris-HCl 0,05 M, pH 7,2, NaCl 0,12 mM) con agitación (25 °C, 1 h, 700 rpm. Thermomixer comfort Eppendorf) y luego se centrifugaron a 10000 rpm durante 20 minutos y temperatura ambiente utilizando una microcentrífuga (Hermle Z 233 MK-2). Los sobrenadantes se filtraron a través de filtros de nylon (0,22 µm) y se inyectaron en la columna. Los ensayos se realizaron a temperatura ambiente y se colectaron las fracciones separadas (2 ml por fracción). La absorbancia a 280 nm fue leída de modo continuo a la salida de la columna.

Medida de la actividad antitrombótica *in vitro*: Se utilizó el método de las microplacas, descrito por Yang *et al.*<sup>2</sup> y Zhang *et al.*<sup>3</sup>. En este método la aparición de turbidez se asocia con la formación del coágulo por polimerización de la fibrina después que la trombina hidroliza el fibrinógeno a fibrina. En presencia de sustancias que inhiban la formación del coágulo, la turbidez detectada será menor o directamente no se desarrollará. Para realizar el ensayo, todas las soluciones se preincu-

baron a 37 °C. En cada pocillo de la microplaca se colocaron 140 µl de la solución de fibrinógeno y luego se adicionaron 40 µl de cada muestra, preparando un control positivo de inhibición de la coagulación (inhibición total) utilizando heparina y un control negativo (coagulación total) utilizando buffer de ensayo. La microplaca se agitó convenientemente y se realizó la primera medida de absorbancia a 405 nm en un lector de placas. Esta lectura permite obtener los valores de absorbancia de los que llamaremos blancos: muestra blanco y control blanco. A cada pocillo se le adicionó posteriormente 10 µl de la solución de trombina para iniciar la reacción de coagulación. La microplaca se incubó nuevamente a 37 °C durante 10 minutos y se realizó la medida de la absorbancia a 405 nm. Las lecturas de absorbancia obtenidas fueron las correspondientes a las muestras, al control negativo y al control positivo. Todas las medidas se realizaron al menos por duplicado.

- Buffer del ensayo: Tris-HCl 0,05 M, pH 7,2, NaCl 0,12 mM
- Fibrinógeno bovino: solución 0,1 % p/v de fibrinógeno (Sigma) en el buffer del ensayo.
- Trombina 12 UI/ml: a partir de trombina sólida (Sigma, 330 UI) en el buffer del ensayo.
- Heparina: Se utilizó una solución de heparina 0,3 mg/ml preparadas con heparina sódica (Abbott, 5000 U/ml, en la que 1 mg heparina corresponde a 100 U) en el buffer del ensayo.

Las muestras se analizaron solubilizándolas en el buffer del ensayo durante 1 hora con agitación constante a 700 rpm a 25 °C empleando el Thermomixer comfort (Eppendorf) y luego centrifugando 20 minutos a 10000 rpm y temperatura ambiente utilizando una microcentrífuga Hermle Z 233 MK-2.

Los efectos inhibitorios de la coagulación se calcularon según la siguiente ecuación:

$$\% \text{Inhibición} = [(C-CB) - (M-MB)] / (C-CB) \times 100$$

donde,

CB: Control blanco.

C: Control.

MB: Muestra blanco.

M: Muestra.



#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

*Concentración de proteínas:* Los aislados proteicos se prepararon a partir de harina desgrasada siguiendo el procedimiento antes mencionado en Materiales y métodos. Se determinó la concentración proteica del aislado y de su hidrolizado obtenido por acción de las enzimas digestivas. El aislado presentó  $82,4 \pm 1,6$  g de proteína/ 100 g de aislado, mientras que el hidrolizado exhibió una concentración de  $78,4 \pm 0,8$  g de proteína/ 100 g de hidrolizado.

*Hidrólisis gastrointestinal simulada del aislado:* Durante la DGS se tomaron alícuotas a diferentes tiempos de proteólisis y se realizaron geles electroforéticos sembrando las alícuotas obtenidas. La Figura 1 muestra los perfiles electroforéticos obtenidos en geles de tricina con el aislado de amaranto durante las diferentes etapas de la digestión gastrointestinal simulada. El aislado de amaranto (Figura 1, Asl1), constituido principalmente por globulinas, presenta numerosas bandas: agregados de alta masa molecular, unidades moleculares de aproximadamente 54-56 kDa, y los polipéptidos ácidos y básicos de aproximadamente 30 y 20 kDa, A y B, que se encuentran unidos por puentes disulfuro en las globulinas tipo 11S y P<sup>5</sup>. Además se observan algunas bandas de 67 kDa y de baja masa molecular que corresponden a polipéptidos de la globulina 7S, presente en menor cantidad en el amaranto, pero que se halla en los aislados, tal como describieron Quiroga *et al.*<sup>12</sup>. Cuando se somete a hidrólisis, el perfil electroforético se modifica. Se observa un gran aumento del número e intensidad de bandas de PM menor a 26 kDa aún a tiempos cortos de reacción. Cuando el tiempo de hidrólisis aumenta el perfil se vuelve más tenue, indicando que esos mismos péptidos son sustrato de las enzimas y se convierten en otros aún más pequeños. La Figura 1 muestra que tanto la pepsina como la pancreatina producen modificaciones en las proteínas de amaranto, sugiriendo que ambas etapas que corresponderían a modificaciones enzimáticas y por efecto del pH producidas en el estómago y en el intestino delgado son relevantes para generar potenciales compuestos activos (Figura 1, Asl2, Asl 3, Hdr).

El hidrolizado obtenido, Hdr, presentó un GH % de  $51,1 \pm 3,8$  determinado por el método OPA. Durante el ensayo que emula la digestión, el aislado de amaranto sufrió extensiva hidrólisis, algo mayor al informado por Orsini *et al.*<sup>13</sup>, quienes determinaron que el grado de hidrólisis alcanzado con el mismo protocolo de simulación gastrointestinal fue cercano al 40 %, utilizando semillas de *A. mantegazzianus* y el ensayo de TNBS para determinar el GH %.

*Actividad antitrombótica del aislado proteico de amaranto y sus hidrolizados:*

Las medidas de esta actividad *in vitro* se realizaron con el aislado y el aislado hidrolizado de amaranto (Hdr). El aislado no presentó inhibición de la coagulación para ninguna de las concentraciones analizadas en este trabajo (0,17-12 mg de proteína/ml). La Figura 2 muestra la curva de inhibición de la coagulación en función de la concentración de proteínas del Hdr. Se observa que la inhibición alcanzada depende de la concentración de proteínas, presentando un comportamiento tipo dosis-respuesta. El hidrolizado presentó actividad inhibitoria a partir de 0,1 mg proteína/ml. A concentraciones más altas, la inhibición aumenta con la concentración hasta que se alcanza un plateau cuando la concentración de proteínas es 0,75 mg/ml. Mediante el programa GraphPad Prism se ajustaron los puntos experimentales obtenidos a fin de obtener la concentración que produce el 50 % de la inhibición de la coagulación, IC<sub>50</sub>. Para esta muestra, dicha concentración resultó 0,23 ± 0,02 mg de proteína/ml.

Este resultado comprueba la efectividad del tratamiento de hidrólisis por medio de las enzimas digestivas para producir péptidos con actividad antitrombótica. Al comparar el aislado control con su hidrolizado se puede ver que evidentemente la hidrólisis ha liberado péptidos o polipéptidos que ejercen actividad antitrombótica y que antes se encontraban encriptados dentro de las proteínas. Es preciso destacar que el aumento de la inhibición de la coagulación de las proteínas de amaranto al ser sometidas a la digestión gastrointestinal simulada es un resultado muy promisorio, dado que los péptidos que potencialmente inhiben la coagulación se liberarían durante la digestión. Dicho comportamiento es buscado en péptidos bioactivos, donde se pretende que resistan la digestión gastrointestinal una vez consumidos o se produzcan por ella.

*Fraccionamiento del aislado sometido a digestión gastrointestinal simulada:*

El aislado que fue sometido a una digestión gastrointestinal simulada fue quien presentó la mayor inhibición de la coagulación. Con la finalidad de aproximarnos a conocer cuáles son las sustancias responsables de la bioactividad se empleó la cromatografía como paso de purificación. En esta oportunidad utilizamos cromatografía de filtración en gel (FPLC). Las condiciones de corrida y de fraccionamiento se describieron en Materiales y métodos. La muestra se solubilizó en buffer Tris-HCl 0,05 M, NaCl 0,12 mM, pH 7,2 y se eluyó con el mismo solvente. Se realizaron varias corridas sucesivas, colectando 2 ml por tubo, y se analizó la actividad antitrombótica de las fracciones colectadas utilizando el ensayo de las microplacas. Se estudió la bioactividad en todos los tubos colectados, y se encontró que la fracción

correspondiente al volumen de elución entre 14 y 16 ml, (recuadro verde marcado en la Figura 3) fue la única que presentó una considerable inhibición de la formación del coágulo. El siguiente paso será caracterizar la fracción activa encontrada e identificar los péptidos bioactivos contenidos en la misma.

## 5. CONCLUSIONES

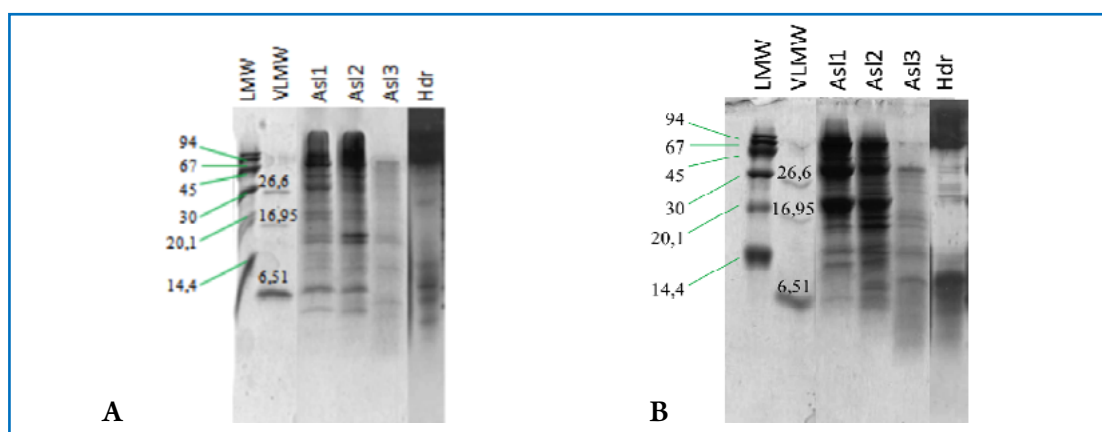
La acción de las enzimas digestivas utilizadas en condiciones adecuadas que permiten simular la digestión gastrointestinal sobre las proteínas del aislado de amaranto produce moléculas de baja e intermedia masa molecular, presentando importantes diferencias estructurales comparándolas con sus proteínas nativas. La hidrólisis generada resultó efectiva para producir péptidos con potencial actividad antitrombótica, dado que la muestra sin digerir no presentó inhibición de la formación del coágulo a las concentraciones estudiadas, mientras que el hidrolizado exhibió un  $IC_{50}$  de  $0,23 \pm 0,02$  mg de proteína/ml. Los resultados obtenidos son promisorios para seguir indagando y encontrar los péptidos activos responsables de inhibir la formación del coágulo. Con el fraccionamiento del hidrolizado, se halló una fracción activa mediante cromatografía de gel filtración. Se profundizará el estudio de esta fracción a fin de identificar los péptidos bioactivos presentes. Se pretende, a futuro, que las proteínas de amaranto como ingredientes de alimentos funcionales, aporten una vez digeridas, los péptidos bioactivos que contienen.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

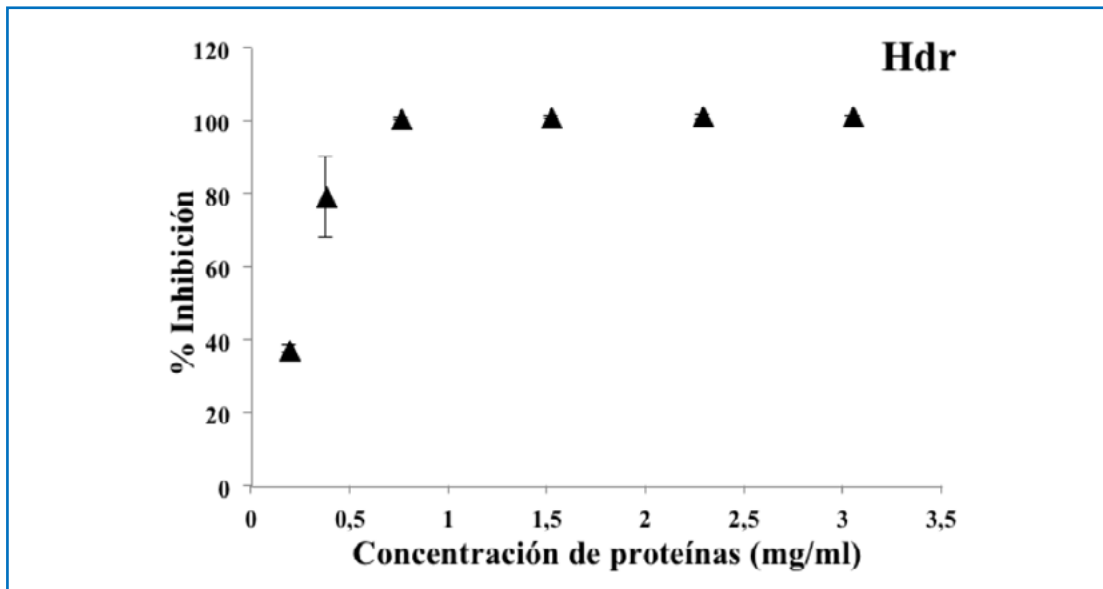
- ROESLER KR y Rao AG. Rapid Gastric Fluid Digestion and Biochemical Characterization of Engineered Proteins Enriched in Essential Amino Acids. *J. Agric. Food Chem.* 2001; 4: 3443-3451.
- YANG WG, Wang Z, Xu SY. A new method for determination of antithrombotic activity of egg white protein hydrolysate by microplate reader. *Chin. Chem. Lett.* 2006; 18: 449-451.
- ZHANG SB, Wang Z, Xu SY. Antioxidant and antithrombotic activities of rapeseed peptides. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 2008; 85: 521-527.
- PAREDES-LÓPEZ, O. *Amaranth: Biology, Chemistry and Technology*: CRC Press; 1994.
- MARTÍNEZ NE, Añón MC. Composition and structural characterization of amaranth proteins isolates. An electrophoretic and calorimetric study. *J. Agric. Food Chem.* 1996; 44: 2523-2530.

- AOAC. Association of Official Analytical Chemists Inc. Official Methods of Analysis, ed. 14. Ed Williams S., Arlington, VA. Método 2057, 16; 1984.
- LOWRY OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 1951; 193: 265-275.
- DINNELLA C, Gargaro MT, Rossano R, Monteleone E. Spectrophotometric assay using o-ph-taldialdehyde for the determination of transglutaminase activity on casein. Food Chem. 2002; 78: 363-368.
- CIAN RE, Martínez-Augustin O, Drago SR. Bioactive properties of peptides obtained by enzymatic hydrolysis from protein byproducts of *Porphyra columbina*. Food Res. Int. 2012; 49: 364-372.
- SCHÄGGER H. Tricine-SDS-PAGE. Nat. Protoc. 2006; 1: 16-22.
- BLUM H, Beier H, Gross H. Improved Silver Staining of Plant Proteins, RNA and DNA in Polyacrilamide Gels. Electrophoresis. 1987; 8: 93-99. <sup>12</sup>Quiroga AV, Martínez EN, Rogniaux H, Geairon A, Añón MC. Amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) vicilin subunit structure J. Agric. Food Chem. 2010; 58: 12957-12963.
- ORSINI DELGADO MC, Tironi VA, Añón MC. Antioxidant activity of amaranth protein or their hydrolysates under simulated gastrointestinal digestion. Food Sci Technol. 2011; 44: 1752-1760.

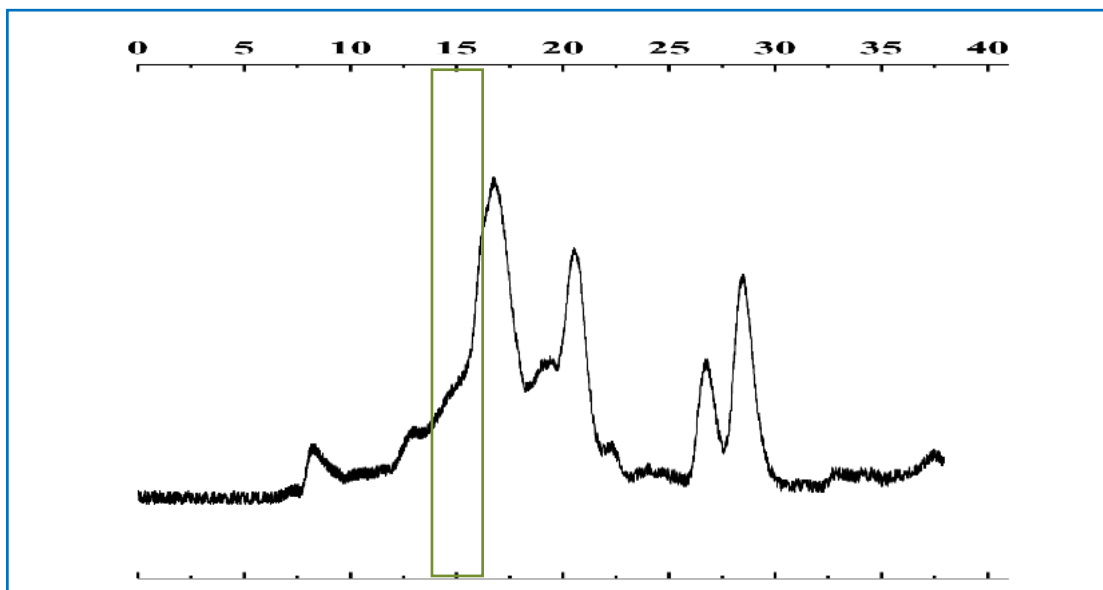
## 7. TABLAS Y FIGURAS



**FIGURA 1.** Gel electroforético Tricina-SDS-PAGE en ausencia de 2-ME (A) y con 2-ME (B). Aislado de amaranto (Asl) a distintos tiempos de reacción: tiempo 0 (Asl1), luego de 30 minutos a pH 2 (Asl2), a los 60 minutos de contacto con la pepsina (Asl3) y a los 60 minutos de contacto con la pancreatina (Hdr). LWM: patrones de bajo peso molecular. VLMW: patrones de muy bajo peso molecular.



**FIGURA 2.** Curva de inhibición de la coagulación obtenida con el aislado proteico sometido a la digestión gastrointestinal simulada (Hdr).



**FIGURA 3.** Cromatograma del hidrolizado obtenido mediante digestión gastrointestinal simulada (Hdr) eluido con buffer TRIS-HCl 0,05 M, NaCl 0,12 mM, pH 7,2. Con el recuadro verde se indica la fracción que presentó bioactividad.

# DESARROLLO DE UN QUESO FRESCO FUNCIONAL CON COLESTEROL REDUCIDO

Sandra Lazzaroni<sup>1,2</sup>, Micaela Galante<sup>1</sup>, Yanina Pavón<sup>1,2</sup>, Nora Sabbag<sup>2</sup>, Patricia Risso<sup>1,3</sup>,  
Valeria Boeris<sup>3</sup>, Sergio Rozycki<sup>2</sup>

## 1. RESUMEN

El objetivo fue desarrollar un Queso Fresco Funcional (QFF), con colesterol (Col) reducido (compuesto que promueve ACVs), y agregado de zinc (mineral que participa en más de 200 reacciones metabólicas). A Bases Lácteas Iniciales, con % grasa entre 10 y 15 %, se les extrajo el Col, utilizando  $\beta$ -ciclodextrina ( $\beta$ CD). Posteriormente se reconstituyó la leche con contenido graso normal agregando leche descremada. Utilizando los pasos de elaboración de un Queso Fresco tradicional se elaboraron 4 tipos de Queso Fresco: testigo (QFT, sin extracción de Col), control (QFC, con Col reducido), con Col reducido y agregado de  $ZnSO_4$  (QFS) y con Col reducido y agregado de  $ZnCl_2$  (QFCl). El % extracción de Col fue siempre mayor al 93 % y la cantidad de Zn que retuvo la masa fue más de 4 veces mayor (130 mg/Kg) que el QFT (30 mg/Kg). Una porción de este producto (30 g) aportaría el 56 % de la IDR para los hombres y el 80 % para las mujeres. La homogeneización fue quien más influyó sobre la derretibilidad del QFF, disminuyéndola a menos de la mitad respecto al QFT (único sin homogeneización previa), en mayor medida en QFS; QFCl tuvo un 15 % más derretibilidad que el QFC. En la evaluación sensorial a los 25 días se observó que el olor a crema se detectó en mayor intensidad en el QFT, y menos en QFS, el QFCl no tuvo diferencias con el QFT y QFC, pero sí con el QFS. El color característico amarillento fue más intenso y diferente en QFT. El aspecto

---

CONTACTO: Sergio Rozycki [sdrozycki@hotmail.com](mailto:sdrozycki@hotmail.com)

1. CONICET – Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Argentina.

2. Área Lácteos, Inst. Tec. Alimentos (ITA), Fac. Ing. Química (FIQ-UNL), Santa Fe, Argentina.

3. Universidad Nacional de Rosario (UNR). IFIR (CONICET), Rosario, Santa Fe, Argentina.

de la masa (cerrada) fue uniforme, sin diferencias entre las muestras, con puntajes muy altos. La elasticidad del QFS fue menor que las demás muestras. La adherencia al paladar fue mayor en QFS y QFCl, ocurriendo lo contrario para QFT. La cohesividad fue menor para QFS, y mayor para el QFC con puntajes intermedios. Todos presentaron similar masticabilidad y sensación al paladar. El gusto dulce fue detectado en baja intensidad en todas las muestras, por lo que el remanente de  $\beta$ CD no estaría influyendo en esta percepción. Los gustos ácido, salado y amargo fueron poco percibidos, no habiendo diferencias entre las mismas. El sabor a crema fue similar en todas las muestras, o sea, el proceso de extracción de colesterol no altera las propiedades organolépticas de la grasa. El sabor metálico, resultó “casi nada perceptible”. Por lo tanto, el agregado de sales cambia levemente algunas características, siendo el  $ZnSO_4$  quien más las desmejora, desmejorando la homogeneización la derretibilidad. Se logró desarrollar, por metodología tradicional de elaboración, un QFF con óptimas características sensoriales y nutricionales, concentración de Col muy reducida y muy elevada de Zn.

## 2. INTRODUCCIÓN

El Zinc (Zn) es un mineral que participa activamente y resulta esencial en varias funciones fisiológicas del organismo humano tales como el crecimiento, reproducción y respuesta inmune, entre otras (Aquilanti y col., 2012). A nivel celular, participa como cofactor en diferentes procesos enzimáticos y además tiene actividad antioxidante (Salgueiro y col., 2000). Debido a que el cuerpo humano tiene una capacidad limitada para reservar zinc, la deficiencia de este mineral puede provocar severos trastornos en la salud (Kahraman y Ustunol, 2012). Según el artículo 1381 del Código Alimentario Argentino (2010) la Ingesta Diaria Recomendada (IDR) de Zn para una persona adulta es de 7 mg/día en el caso de los hombres y 4,9 mg/día para las mujeres.

La fortificación de los alimentos con nutrientes esenciales surge como una forma de prevenir enfermedades, como consecuencia de deficiencias nutricionales. Sin embargo, la matriz alimenticia para ser fortificada así como el nutriente seleccionado juegan un rol fundamental en la fortificación y deben ser elegidos cuidadosamente (El-Din y col., 2012). Especialmente, los yogures y quesos resultan una opción lógica para la fortificación con Zn, no solo por su elevada preferencia de consumo, sino también

a que el bajo pH propio de estos productos aumenta la solubilización e incrementa la biodisponibilidad del elemento. Adicionalmente, este mineral se une principalmente a las caseínas, por lo que queda mayormente retenido en la cuajada de los quesos y muy poco se va con el suero (Alquilanti y col., 2012).

En Argentina, el 46 % de las muertes se debe a enfermedades cardiovasculares (ECV), siendo el colesterol (Col.) elevado uno de los principales factores de riesgo (Ministerio de Salud de la Nación, 2011). Las tendencias hacia hábitos alimenticios más saludables proporcionan creciente interés en los productos bajos en grasa. Sin embargo, la reducción de la grasa se convierte en una gran preocupación en la fabricación de productos lácteos, como los quesos, ya que afecta en gran medida el sabor derivado de los componentes grasos y la textura del producto final (McMahon, 1996). Además, hay varios indicios respecto a que sus ácidos grasos saturados serían aterogénicamente neutros e incluso levemente positivos (C18) en la prevención de ACVs (Parodi, 2009; review).

Las industrias han desarrollado varias estrategias para reducir el colesterol de los alimentos; sin embargo, la mayoría de estos métodos son relativamente no selectivos y remueven componentes nutricionales y flavors junto con el colesterol, además de tener costos operativos elevados. En este sentido, la  $\beta$ -ciclodextrina ( $\beta$ -CD) se plantea como una interesante opción para extraer el colesterol en forma específica y con alto porcentaje de extracción en leche (> 90 %) (Pavón y col., 2014).

El objetivo general del presente trabajo consistió en desarrollar y evaluar sensorialmente un Queso Fresco Funcional (QFF), con colesterol reducido y fortificado con Zinc, para consumo masivo, con miras a evitar el riesgo nutricional y/o cardiovascular.

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **MATERIALES**

Se utilizó crema de leche 48 % MG (Manfrey SA), leche fluída descremada (Milkaut SA), fermento láctico liofilizado STD (Diagrama SA), cloruro de calcio anhidro, cloruro de sodio (Lab. Cicarelli SRL), cuajo bacteriano (Chy Max, Chr. Hansen, Dinamarca) y sales de Zn: Sulfato de Zinc ( $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) (Lab. Novalquim SRL., Arg.) y cloruro de Zinc ( $\text{ZnCl}_2$ ) (Lab. Cicarelli, Arg.).



## **MÉTODOS**

### ***Preparación de las cremas base con colesterol reducido***

A partir de la crema y leche descremada, se obtuvo una base láctea (BL) con 10 % MG. Ésta se calentó y homogeneizó con un homogenizador (SIMES SA), se enfrió y se agregó  $\beta$ -CD, agitando por 30 minutos. El complejo  $\beta$ -CD/colesterol se separó por centrifugación, todo en condiciones tecnológicas optimizadas, obteniéndose el sobrenadante reducido en colesterol. Antes y después del tratamiento con  $\beta$ -CD, se tomaron muestras para cuantificar el porcentaje de extracción Col.

### ***Elaboración de queso fresco con colesterol reducido y fortificado con Zinc***

Se ajustó la BL con colesterol reducido al 3 % MG agregando leche descremada, se pasteurizó (70 °C – 1 min) y enfrió a 40 °C, se adicionó  $\text{CaCl}_2$  (200 ppm) y la sal de Zn ( $\text{ZnSO}_4$  ó  $\text{ZnCl}_2$ ). Se prepararon muestras testigo (QFT), sin extracción de colesterol (sin homogenización) y control (QFC) con colesterol reducido, sin agregado de sal de Zn. En cada caso, se inoculó el cultivo láctico iniciador (0,0103 g/Kg) y cuajo (0,5 mL/Kg) comerciales para realizar una coagulación ácido-enzimática en aproximadamente 30 minutos. Se lizó la cuajada, se dejó reposar 15 min y se realizaron 3 agitaciones suaves cada 5 min. Se moldeó la masa y se dejó desuerar a 40 °C hasta alcanzar un pH de 5,3. Finalmente, se realizó el salado en salmuera (20 % NaCl, 1 hr/kg de masa a 4 °C). Cada queso fresco obtenido (QFS, QFCl, QFT y QFC) se pesó a fin de determinar el rendimiento, se envasó al vacío y se dejó madurar durante 25 días en condiciones de refrigeración (4 °C). La Figura 1 muestra el diagrama de flujo de la elaboración de queso fresco con colesterol reducido y fortificado con Zn.

### ***Cuantificación del porcentaje de colesterol extraído***

Las muestras tomadas antes y después del tratamiento con  $\beta$ -CD se saponificaron y se extrajo el colesterol con n-hexano. La cuantificación de colesterol se realizó por un método enzimático-colorimétrico a 510nm (Pavón y col., 2014). La concentración de colesterol (mg %) se calculó aplicando la Ley de Beer (Skoog y Leary, 1988), junto con el porcentaje de extracción de colesterol.

### ***Determinación del contenido de Zn en los Quesos Frescos obtenidos***

El contenido de Zn de los quesos frescos se cuantificó mediante espectroscopía de absorción atómica (INTI, UNR). El porcentaje de fortificación con Zn (porcentaje de Zn recuperado en el queso luego de la fortificación), fue calculado a través de la ecuación 1.

$$\% \text{ Fortificación con Zn}^{2+} = \left( \frac{[\text{Zn}^{2+}]_{\text{QM}} - [\text{Zn}^{2+}]_{\text{QC}}}{[\text{Zn}^{2+}]_{\text{T}}} \right) * 100 \quad (1)$$

$[\text{Zn}^{2+}]_{\text{QM}}$  y  $[\text{Zn}^{2+}]_{\text{QC}}$  son las concentraciones de  $\text{Zn}^{2+}$  en las muestras de quesos fortificados y halladas en el QC (concentración de  $\text{Zn}^{2+}$  basal), y  $[\text{Zn}^{2+}]_{\text{T}}$  la concentración de  $\text{Zn}^{2+}$  total que corresponde al valor del 100 % de fortificación (retención del 100 % del  $\text{Zn}^{2+}$  en la cuajada).

### ***Evaluación sensorial de los quesos frescos obtenidos***

Muestras de queso fresco de 30 g, codificadas aleatoriamente y termostatizadas a 10 °C, fueron evaluadas a los 25 días de maduración por 9 panelistas entrenados. Los descriptores se evaluaron en escalas continuas de 10 cm, no estructuradas, ancladas en los extremos (Tabla 1). Los valores promedio de los descriptores se analizaron estadísticamente para cada tipo de queso estudiado mediante Test ANOVA y Test de LSD (mínima diferencia significativa) para un 95 % de confianza ( $p < 0,05$ ).

### ***Ensayo de capacidad de fusión (derretibilidad) de los quesos frescos obtenidos***

Se emplearon cilindros de 37 mm de diámetro y 12 mm de altura. Se descartaron los que presentaron variación de la masa mayor 5 %. Como superficie de ensayo se adoptó una placa de Petri.

Las muestras se mantuvieron a 4 °C durante 30 minutos y se colocaron en estufa con convección natural de aire a 130 °C durante 15 minutos (Mercanti y col., 2004). Luego fueron enfriadas a 4 °C y se procedió a determinar las áreas abarcadas para cuantificar la capacidad de fusión de los quesos. Los ensayos de fusión se realizaron por triplicado a los 25 días de maduración.

#### **4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

##### **CUANTIFICACIÓN DE COLESTEROL EN LA BASE LÁCTEA**

El contenido de colesterol promedio en la BL, antes y después del tratamiento, con  $\beta$ -CD fue  $10,07 \pm 2,01$  y  $0,68 \pm 0,10$  mg%, respectivamente, con un porcentaje de extracción promedio de  $93,2 \pm 1,04$  %, de esta manera se puede obtener un queso fresco con colesterol reducido en más del 90 %.

##### **RENDIMIENTO Y CONCENTRACIÓN DE ZN EN LOS QUESOS FRESCOS**

En la Tabla 2 se muestran los resultados de los valores de los rendimientos de los quesos frescos al final de la elaboración, la concentración de Zn y el porcentaje de fortificación.

Se obtuvieron muy buenos valores de rendimiento en todos los tipos de quesos frescos elaborados, entre 12 – 14 %, siendo el menor valor para el queso testigo (QFT) y el mayor en el caso del fortificado con  $ZnSO_4$  (QFS).

El porcentaje de fortificación con ambas sales fue mayor al 85 %, siendo más elevado en el caso del QFS, lo cual permite confirmar que existe una fuerte interacción entre el  $Zn^{2+}$  y las micelas de caseína (CN) (Alquilanti y col., 2012). Estudios recientes de la cinética de unión entre el  $Zn^{2+}$  y las CN mostraron que la misma comprende 2 etapas, en la primera (etapa inicial) las moléculas de  $Zn^{2+}$  se unirían a la superficie externa de las partículas de CN, mientras que en una segunda etapa el  $Zn^{2+}$  difundiría al interior de éstas, en donde el catión se une a distintos sitios activos. Se supone que en la etapa inicial el  $Zn^{2+}$  se uniría débilmente a los fosfopéptidos de las CN y a aminoácidos tales como el glutamato y al aspartato. En cuanto a la segunda etapa, el  $Zn^{2+}$  podría estar interaccionando con los aminoácidos no polares como la prolina, valina, leucina, isoleucina y fenilalanina, que representan un 35 % del total de aminoácidos presentes en las CN (Pomastowski y col., 2014).

##### **EVALUACIÓN SENSORIAL DE LOS QUESOS FRESCOS**

Los valores promedios de los descriptores sensoriales evaluados, junto con el análisis estadístico correspondiente, se muestran en la Tabla 3 y se resume en la Figura 2.

Se pudo observar que el olor a crema se detectó en mayor intensidad en el QFT, mientras que fue menor en el caso del QFS. Para el caso del QFCl, no se observaron diferencias estadísticamente significativas (DES) con el QFT y QFC, pero sí en el

caso del QFS. En cuanto al color característico fue más intenso y estadísticamente diferente en el caso del QFT, comparado con el resto de los quesos.

El aspecto de la masa fue homogéneo, no se presentaron DES entre las muestras, y los puntajes fueron altos, cercanos al extremo superior (9,0). Para el caso de la elasticidad, se observó que el QFS presentó menor elasticidad que las demás muestras, siendo estadísticamente significativa esta diferencia. La adherencia al paladar fue mayor en los casos de los quesos adicionados con sales, ocurriendo lo contrario para el QFT. La cohesividad fue menor para el QFS y mayor para el QFC. Todos los quesos presentaron similar masticabilidad. Lo mismo ocurrió con la sensación al paladar. No se detectaron DES entre las muestras para ambos descriptores. El gusto dulce fue detectado en baja intensidad (casi nada perceptible) en todas las muestras, por lo que el remanente de  $\beta$ -CD no estaría influyendo en la percepción del mismo. El gusto ácido, salado y amargo fue poco percibido entre las diferentes muestras, no habiendo DES entre las mismas. El sabor a crema se detectó de manera similar en todas las muestras, por lo que el proceso de extracción de colesterol no alteró las propiedades organolépticas de la materia grasa. No se detectó prácticamente sabor metálico, siendo casi nada perceptible. La astringencia fue muy baja entre las muestras y no encontraron DES entre las mismas.

Se ha reportado que el Zn altera los atributos sensoriales de los alimentos (Salgueiro y col., 2002). En este trabajo se observó que la fortificación con Zn no estaría afectando negativa y/o significativamente las características sensoriales, observándose que el  $ZnSO_4$  influye en mayor medida en este sentido.

### **CAPACIDAD DE FUSIÓN DE QUESOS FRESCOS**

Las propiedades funcionales de los quesos son aquellas que les confieren aptitudes para su almacenamiento, conservación, presentación y preparación culinaria. Se ha descrito un número elevado de propiedades funcionales en los quesos, que dependen del tipo de queso considerado. Como ejemplos se puede mencionar entre las propiedades funcionales: derretibilidad, viscosidad, color, cremosidad, etc. Particularmente, la derretibilidad o extensión durante el fundido se refiere a la capacidad de los trozos de queso desmenuzados para fluir y fusionarse, formando una masa derretida cuando aquellos se calientan, comportándose como una masa que fluye y se expande (Muthukumarappan y col. 1999).

El QFT (sin homogeneización) presentó mayor derretibilidad (mayor área final luego del ensayo de fusión) que el QFC y los adicionados con sales de  $Zn^{2+}$ , observándose DES ( $p < 0,05$ ) entre el QFT y el resto; de esta manera se observa que el proceso de homogeneización afecta significativamente esta propiedad funcional. Si bien entre el QFC y los adicionados con sales de  $Zn^{2+}$  no hubo diferencias significativas entre las áreas de fusión, se vio que para el caso del QFC el coeficiente de variación porcentual (incremento del área) fue mayor que para los otros dos casos, por lo tanto podría decirse que la adición de esta sal produciría una mejoría en el derretimiento del queso.

## 5. CONCLUSIONES

Se lograron obtener Quesos Frescos Funcionales de muy buen aspecto general, con óptimas características sensoriales y nutricionales, mediante la metodología tradicional de elaboración. La fortificación con Zn fue superior al 85 % que representa, en una porción de 30 g, un 56 % y 80 % de la IDR para hombres y mujeres, respectivamente. Además, se logró extraer el colesterol en más del 90 %, asegurando un contenido promedio menor a 5 mg% según lo establece la legislación vigente.

El agregado de sales cambia levemente algunas características, siendo el  $ZnSO_4$  el que más influye, y la homogeneización quien disminuye la derretibilidad. Combinando adecuadamente el nivel de homogeneización con el porcentaje de extracción de colesterol requerido, se puede lograr mantener adecuados niveles de derretibilidad.

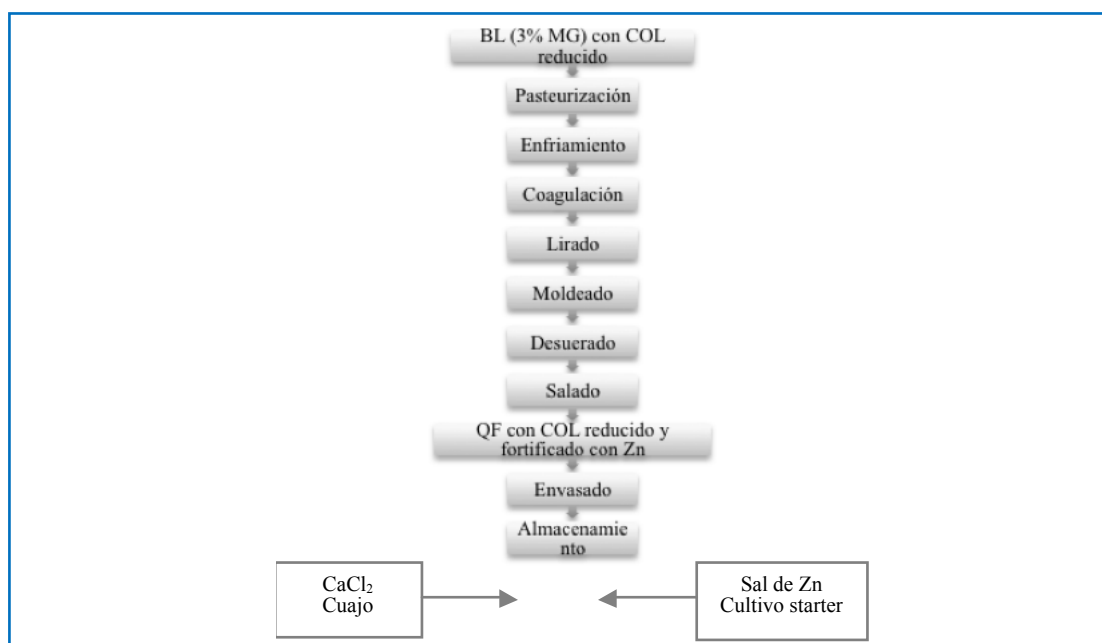
Este producto, y la metodología empleada, permiten inferir la posibilidad de fortificación con otros minerales funcionales también muy importantes, como el magnesio, calcio y hierro, permitiendo lograr productos saludables de consumo masivo y elevado volumen de venta, como el Queso Fresco.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AQUILANTI, L.; Kahraman, O.; Zannini, E.; Osimani, A.; Silvestri, G.; Ciarrocchi, F.; Garofalo, C.; Tekin, E.; Clementi, F. (2012). Response of lactic bacteria to milk fortification with dietary zinc salts. *Int. Dairy J.*, 25: 52-59.
- CÓDIGO ALIMENTARIO ARGENTINO. (2010). Resolución Conjunta 40/2004-SPRRS y 298/2004-SAGPA. [En línea] <<http://www4.neuquen.gov.ar/salud/images/archivo/Bro>

- EL-DIN, A. G.; Hassan, A.; El-Behairy, S.; Mohamed, E. (2012). Impact of Zinc and Iron Salts Fortification of Buffalo's Milk on the Dairy Product. *World J. Dairy & Food Sci.*, 7: 21-27.
- KAHMARAN, O.; Ustunol, Z. (2012). Effect of zinc fortification on cheddar cheese quality. *J. Dairy Sci.* 95: 2840-2847
- MCMAHON, D. J.; Alleyne, M.; Fife, R.; Oberg, C. (1996). Use of fat replacers in low fat Mozzarella cheese. *J. Dairy Sci.*, 79: 1911-1921.
- MERCANTI, D. J.; Wolf, I. V.; Meinardi, C. A.; Candiotti, M. C.; Zalazar, C. A. (2004). Influencia del contenido graso y de otras variables sobre la capacidad de fusión del queso cremoso argentino. *Grasas y Aceites*, 55 (3): 296-302.
- MINISTERIO DE SALUD DE LA NACIÓN. (2011). Segunda Encuesta Nacional de Factores de Riesgo para Enfermedades No Transmisibles. (1ª ed.). Argentina.
- MUTHUKUMARAPPAN, K., Wang, Y.; Gunasekaran, S. (1999). Short Communication: Modified Schreiber Test for Evaluation of Mozzarella Cheese Meltability. *J. Dairy Sci.* 82: 1068-1071.
- PARODI P. W. (2009). Has the association between saturated fatty acids, serum cholesterol and coronary heart disease been over emphasized? (Review article) *Int. Dairy Journal*. Elsevier Ltd.
- PAVÓN, Y. L.; Lazzaroni, S. M.; Sabbag, N. G.; Rozycki, S. D. (2014). Simultaneous effects of gelatin and espinosa gum on rheological, physical and sensory properties of cholesterol reduced probiotic yoghurts. *Int. J. Food Sci. Technol.* doi:10.1111/ijfs.12538.
- POMASTOWSKI, P.; Sprynskyy, M.; Buszewski, B. (2014). The study of zinc ions binding to casein. *Coll. Surf. B: Bioint.* 120: 21-27.
- SALGUEIRO, M. J.; Zubillaga, M.; Lysionek, A.; Sarabia, M. I.; Caro, R.; De Paoli, T.; Hager, A.; Weill, R.; Boccio, J. (2000). Zinc as an essential micronutrient: a review. *Nutr. Res.*, 20: 737-755.
- SKOOG D. A.; Leary J. J. (1988). Principles of instrumental analysis. *Saunders College Publication*. Philadelphia, PA.

## 7. TABLAS Y FIGURAS



**FIGURA 1.** Diagrama de flujo del proceso de manufactura de queso fresco reducido en colesterol fortificado con Zn

BL: Base láctea, MG: Materia grasa, COL: colesterol, QF: Queso fresco.

**TABLA 1.** Descriptores y referencias utilizadas en la evaluación sensorial de quesos frescos

| DESCRIPTOR               | REFERENCIAS       |                 |
|--------------------------|-------------------|-----------------|
| Olor (a crema)           | 1 = suave         | 9 = intenso     |
| Color (característico)   | 1 = blanco neutro | 9 = amarillento |
| Aspecto de la masa       | 1 = con agujeros  | 9 = ciega       |
| Elasticidad              | 1 = casi nada     | 9 = mucha       |
| Adherencia (pegajosidad) | 1 = casi nada     | 9 = mucha       |
| Cohesividad              | 1 = budín         | 9 = salchicha   |
| Masticabilidad           | 1 = casi nada     | 9 = mucha       |
| Sensación al paladar     | 1 = áspera        | 9 = cremosa     |
| Gusto dulce              | 1 = casi nada     | 9 = mucho       |
| Gusto salado             | 1 = suave         | 9 = intenso     |
| Gusto amargo             | 1 = casi nada     | 9 = mucho       |
| Gusto ácido              | 1 = casi nada     | 9 = mucho       |
| Sabor a crema            | 1 = suave         | 9 = intenso     |
| Sabor metálico           | 1 = casi nada     | 9 = mucho       |
| Astringencia             | 1 = leve          | 9 = intensa     |
| Flavor residual          | 1 = casi nada     | 9 = mucho       |

**TABLA 2.** Rendimiento queso después de la elaboración, concentraciones de Zn y porcentaje de fortificación en los QFF

| Muestra  | % Rendimiento de los quesos | Concentración de Zn (mg/Kg) | % Fortificación con Zn |
|--|-----------------------------|-----------------------------|------------------------|
| Queso testigo (QFT)                            | 12,2 ± 0,5                  | 33 ± 2                      |                        |
| Queso control (QFC)                            | 13,1 ± 0,5                  | 26 ± 2                      |                        |
| Queso fortificado con ZnCl <sub>2</sub> (QFCI) | 13,5 ± 0,1                  | 129 ± 8                     | 87 ± 7                 |
| Queso fortificado con ZnSO <sub>4</sub> (QFS)  | 14 ± 1                      | 131 ± 8                     | 94 ± 7                 |

**TABLA 3.** Valores promedios y ANOVA, para los diferentes descriptores evaluados en los Quesos Frescos Funcionales (QFF)

| DESCRIPTOR               | MUESTRA            |                    |   |   |
|--------------------------|--------------------|--------------------|---|---|
|                          | Queso testigo      | Queso control      | Queso fortificado con ZnCl <sub>2</sub> | Queso fortificado con ZnSO <sub>4</sub> |
| Olor (a crema)           | 4,15 <sup>c</sup>  | 2,4 <sup>ab</sup>  | 3,54 <sup>bc</sup>                      | 1,69 <sup>a</sup>                       |
| Color (característico)   | 4,71 <sup>b</sup>  | 2,98 <sup>a</sup>  | 2,71 <sup>a</sup>                       | 1,87 <sup>a</sup>                       |
| Aspecto de la masa       | 8,39               | 7,98               | 7,23                                    | 7,32                                    |
| Elasticidad              | 4,83 <sup>b</sup>  | 5,7 <sup>b</sup>   | 5,17 <sup>b</sup>                       | 2,76 <sup>a</sup>                       |
| Adherencia (pegajosidad) | 2,77 <sup>a</sup>  | 3,88 <sup>ab</sup> | 5,01 <sup>b</sup>                       | 5,58 <sup>b</sup>                       |
| Cohesividad              | 5,54 <sup>ab</sup> | 6,91 <sup>b</sup>  | 5,65 <sup>b</sup>                       | 4,09 <sup>a</sup>                       |
| Masticabilidad           | 3,34               | 4,29               | 3,79                                    | 2,77                                    |
| Sensación al paladar     | 5,43               | 6,39               | 5,61                                    | 6,14                                    |
| Gusto dulce              | 1,39               | 1,51               | 1,59                                    | 1,58                                    |
| Gusto salado             | 3,37               | 3,1                | 3,61                                    | 3,53                                    |
| Gusto amargo             | 4,29               | 3,67               | 3,81                                    | 3,97                                    |
| Gusto ácido              | 1,98               | 1,98               | 1,7                                     | 2,64                                    |
| Sabor a crema            | 3,44               | 4,38               | 4,1                                     | 2,8                                     |
| Sabor metálico           | 2,07               | 1,34               | 1,63                                    | 1,89                                    |
| Astringencia             | 1,84               | 2,3                | 2,68                                    | 3,53                                    |
| Flavor residual          | 4,29               | 3,49               | 4                                       | 4,42                                    |

<sup>a-c</sup> Letras diferentes en una misma fila indican diferencias estadísticamente significativas al 95 % de confianza.



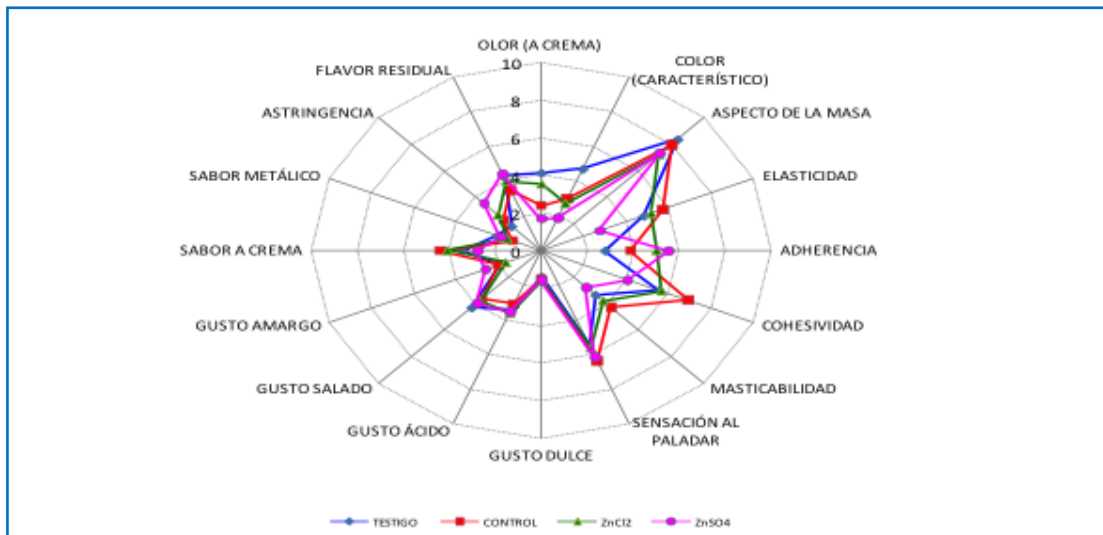


FIGURA 2. Diagrama de araña para los descriptores sensoriales evaluados en los diferentes quesos frescos obtenidos

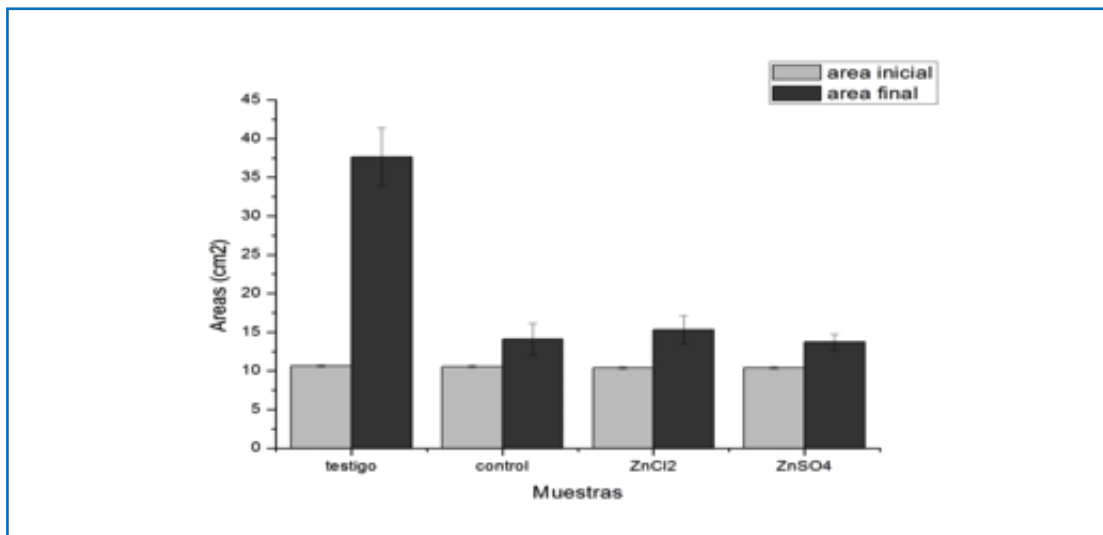


FIGURA 3. Áreas iniciales y finales de derretibilidad de los quesos frescos obtenidos

# ACEPTABILIDAD DE HORTALIZAS REGIONALES DE V GAMA

Beatriz Gómez, Sabrina Lencina, Rosa Abalos, Silvana Correa, María Brossard, Cristina Alfaro, Florencia Schargorodsky, Daniela Alcaraz, Bruno Vasconi

## 1. RESUMEN

En los últimos años la gastronomía ha comenzado a involucrarse en la investigación de nuevas tecnologías, las que constituyen una alternativa para modificar atributos sensoriales, resaltando el sabor y aroma de los alimentos y de este modo, mejorar la aceptabilidad de aquellos productos de escaso consumo en la dieta. A este desafío se le suma la posibilidad de incorporar valor agregado a alimentos producidos en la región. El objetivo de este trabajo fue, agregar sabor a través de la técnica de impregnación a vacío en hortalizas y comparar tres técnicas de cocción (al vapor, “sous-vide” y “cook-vide”). Se trabajó con muestras de calabaza y zucchini provenientes del E.E.A. INTA Concordia, E. R. Primeramente las muestras fueron impregnadas a vacío a través de un equipo culinario “Gastrovac” con dos soluciones: una de gazpacho (tomate, pepino, cebolla, morrón, ajo y sal) y otra aromática de verduras (zanahoria, puerro, cebolla, tomillo y estragón), a una presión de 0,8bar durante 35 minutos (zucchini) y 45 minutos (calabaza). La posterior restauración de la presión atmosférica se realizó en 35 y 45 minutos para zucchini y calabaza respectivamente. La combinación de tiempo y temperatura empleada para cada técnica de cocción fue de 100 °C y 20-15 minutos para vapor; 75 °C y 30-45 minutos para “sous-vide”; 75 °C y 20-35 minutos para “cook-vide”. Las características sensoriales fueron evaluadas por un grupo de 60 consumidores mediante las prueba de aceptabilidad y preguntas CATA (check-all-that-apply). Los resultados se analizaron estadísticamente mediante el programa R. El análisis instrumental del color se realizó en el espacio de color CIE L\*a\*b\* con un colorímetro Miniscan EZ (Minolta). Se evaluó

---

CONTACTO: Sabrina Lencina [mlencina@fb.uner.edu.ar](mailto:mlencina@fb.uner.edu.ar)  
Facultad de Bromatología. Pte. Perón 64. E. R. Argentina.  
Universidad Nacional de Entre Ríos.

la diferencia significativa entre las medias para cada parámetro según ANOVA y test de Tukey. Se obtuvieron hortalizas impregnadas con sabor a gazpacho y con sustancias aromáticas, organolépticamente aceptables. Los consumidores describieron a las hortalizas tratadas con estas nuevas técnicas de cocción (“sous-vide” y “cook-vidé”) como fibrosas, duras, con color y sabor intenso. El análisis de color instrumental indicó que los valores medios obtenidos de  $L^*a^*$  y  $b^*$  no muestran diferencia significativa ( $p>0,05$ ) entre “sous-vidé” y “cook-vidé” en muestras impregnadas con igual solución (gazpacho o aromático de verduras). Se observó en la calabaza una diferencia significativa ( $p<0,05$ ) para las medias del parámetro  $a^*$ , entre los tratamientos de cocción por vapor y “sous-vidé” y “cook-vidé” respectivamente; no siendo así para las medias de  $L^*$  y  $b^*$ . En el zucchini, en cambio, se encontró diferencia significativa ( $p<0,05$ ) en los parámetros  $L^* a^*$  y  $b^*$  al comparar vapor con el resto de los métodos de cocción. Se puede concluir que, si bien es necesario seguir mejorando las condiciones operativas de las técnicas de cocción a vacío estudiadas para lograr mayor aceptación por parte del consumidor, las mismas son una buena alternativa para el diseño de alimentos de V gama.

## 2. INTRODUCCIÓN

En los últimos años la gastronomía ha comenzado a involucrarse en la investigación de nuevas tecnologías, las que constituyen una alternativa para modificar atributos sensoriales, resaltando el sabor y aroma de los alimentos. De esto surge el empleo de nuevas tecnologías de impregnación y de cocción a baja presiones, como un modo de obtener un producto listo para consumir que mantengan las características de los alimentos frescos pero que a su vez presenten alta calidad organoléptica apetecible por los consumidores.

La impregnación a vacío es una técnica que consiste en el intercambio interno de gases ocluidos en la matriz de un producto por un líquido o solución elegida. En este proceso se aplica un sistema de vacío, que promueve la impregnación de los capilares de los tejidos, y al restablecer la presión atmosférica, los poros son extensamente inoculados con la solución externa. (Fito y col., 2001).

En cuanto a las nuevas técnicas de cocción “cook-vidé” y “soud-vidé” fueron desarrolladas en estos últimos 30 años en el campo de la alta cocina (Ibarra-Bernad y col, 2013). Las mismas técnicas en contraste con la tradicional cocción (hervido,

vapor) permiten trabajar a una baja temperatura produciendo menor pérdidas en las características organolépticas y nutricionales de los alimentos (García- Segovia y col, 2008).

En relación al desarrollo de un producto listo para consumir resulta necesario conocer cuál será el juicio por parte del consumidor de manera de reformular el producto final. Sin embargo existen pocos estudios que denoten información sobre descriptores de productos listos para consumir a base de hortalizas con el empleo de estas técnicas de cocción. Una técnica sensorial potente y versátil constituye la pregunta CATA (check-all-that-apply) la misma permite obtener información tanto de la aceptación como de las características sensoriales y no sensoriales (Ares y col; 2010). Por lo que el objetivo de este trabajo fue, agregar sabor a través de la técnica de impregnación a vacío en hortalizas y comparar tres técnicas de cocción (al vapor, “sous-vide” y “cook-vide”). Fueron empleadas las técnicas de evaluación sensorial e instrumentales de color para optimizar el desarrollo de productos listos para consumir V gama, a base de hortalizas regionales.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

**Materia prima:** Se emplearon calabazas (cubos de 10mm de espesor) y zucchinis (rodajas de 10mm de espesor) provenientes del E.E.A. INTA Concordia, E. R.

**Impregnación a vacío:** Primeramente las muestras fueron impregnadas a vacío a través de un equipo culinario Gastrovac (Patentado por Martínez-Monzó y col, 2004) con dos soluciones: una de gazpacho (tomate, pepino, cebolla, morrón, ajo y sal) y otra aromática (zanahoria, puerro, cebolla, tomillo y estragón), a una presión de 0,8bar durante 35 minutos (zucchini) y 45 minutos (calabaza). La posterior restauración de la presión atmosférica se realizó en 35 y 45 minutos para zucchini y calabaza respectivamente.

**Envasada al vacío:** Las muestras fueron empaquetadas y selladas en bolsas de poliamida-polietileno P7340 (permeabilidad al O<sub>2</sub> de 25 a 20cm<sup>3</sup>/m<sup>2</sup>, permeabilidad del vapor de agua de 5g/m<sup>2</sup>, Sealed Air Co; Argentina) con la envasadora al vacío (Vacuum Packing 80060/80080, España).

**Cocción:** Se empleo cocción a presión atmosférica vapor a 100 °C a tiempo de 20 minutos (zucchini) y 15 minutos (calabaza); cocción “sous-vide” (equipo Ronner Compact 80060/80080, España) a 75 °C a 30 minutos (zucchini) y 45 minutos

(calabaza); cocción “cook-vidé” en el equipo Gastrovac a 0,8bar, 75 °C a 20 minutos (zuchini) y 35 minutos (calabaza).

**Evaluación sensorial:** Las características sensoriales fueron evaluadas por un panel de 60 consumidores no entrenados mediante pruebas de aceptabilidad y preguntas CATA (check-all-that-apply) (Ares y col; 2010).

**Color:** Se realizó con un colorímetro Miniscan EZ (Minolta) en el espacio de color CIE de los parámetros  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ ; las muestras fueron evaluadas por triplicado en la zona central.

**Análisis estadístico:** Se calculó la media y desviación estándar. Se realizó un análisis estadísticos de los valores de color con el programa estadísticos SPSS 19. Se evaluó la diferencia significativa entre las medias ( $p < 0,05$ ) para cada parámetro de color según ANOVA y test de Tukey. Se realizó un análisis estadístico de la evaluación sensorial mediante el programa R, se evaluó la diferencia en cada uno de los términos de la pregunta CATA utilizando el test Q de Cochran y se obtuvo un mapa sensorial de las muestras según el análisis de correspondencia (CA) o Análisis de Factorial Múltiple (MFA)

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Aceptabilidad y caracterización sensorial de calabazas tratadas:** En relación a la aceptabilidad de calabaza se observa que el mejor puntualdo fue el control, un 93 % de los consumidores marcaron las opciones “me gusta” y “ni me gusta ni me disgusta”; en segundo orden de aceptabilidad con un 65 % las calabazas impregnadas con solución aromática tratadas con “sous-vidé” (Figura 1).

Considerando el listado de términos descriptivos que oportunamente se entregó a los consumidores y aplicando el test Q de Cochran se observó diferencia significativa ( $p < 0,0001$ ) entre las muestras para cada uno de los siguientes términos: seca, jugosa fibrosa, desabrida, sabor intenso, aromática, amarga, olor y color intenso (Tabla 1). Tanto la calabaza impregnada con solución aromática tratadas por “cook-vidé” fue descripta como dura, seca, fibrosa, desabrida, amarga, olor y color intenso; por otro lado la calabaza con la misma solución tratada con “sous-vidé” fue descripta como seca, picante, dura, fibrosa, sabor extraño, aromática, olor y sabor intenso. Los atributos seleccionados, por los consumidores para describir la muestra de calabaza sin impregnar al vapor, fueron jugosa, dulce, blanda, sabor a calabaza

y color intenso. La muestra impregnada con gazpachos tratada con “sous-vide” fue descrita como seca, fibrosa, aromática, dura, olor, color y sabor intenso, por otra parte la tratada con “cook-vide” fue descrita como seca, fibrosa, desabrida, amarga, olor y color intenso.

En el mapa sensorial de CATA (Figura 2) se observa que las dos dimensiones representan el 91,64 % de la información de las características sensoriales evaluadas de las calabazas. En el plano izquierdo están las muestras con tratamiento y en el plano derecho esta la muestra control.

**Aceptabilidad y caracterización sensorial de zucchinis tratados:** Del análisis de los resultados de la aceptabilidad del zucchini se observa que el mejor puntuado por los consumidores que eligieron la opción “me gusta” y “ni me gusta ni me disgusta” fue el control con un 81 % y en segundo lugar con un 79 % las muestras con fondo de gazpacho “sous-vide” (Figura 3).

Con respecto a los términos descriptivos, el test Q de Cochran indica diferencia significativa ( $p < 0,0001$ ) entre las muestras para cada uno de los siguientes términos: picante, opaco, dulce y color intenso (Tabla 2).

Considerando los términos de mayor frecuencia seleccionados por los consumidores para describir los productos (Tabla 2 y Figura 2), se observa que la muestra impregnada con gazpacho tratada con “sous-vide” fue descrita como jugosa, dulce, sabrosa, olor, sabor y color intenso, al mismo tiempo la muestra impregnada con la misma solución tratada con “cook-vide” fue descrita como dura, fibrosa, sabor extraño, amarga y picante. La muestra impregnada con solución aromática tratada con “sous-vide” fue descrita como dura, fibrosa y picante; por otro lado, la muestra con igual solución tratada por “cook-vide” fue descrita como dura, fibrosa, desabrida, opaca, picante y poco olor. En cambio, la muestra sin impregnar al vapor fue descrita como opaca, blanda, sabor a zucchini, jugosa, desabrida y poco olor.

En el mapa sensorial de CATA (Figura 2) se observó que las dos dimensiones representan el 93,55 % de la información de las características sensoriales evaluadas en zucchinis. En el plano izquierdo esta la muestra control y en el derecho las muestras con tratamiento.

Entre las características sensoriales más destacadas de zucchini y calabaza impregnadas por soluciones fueron aromática, picante, sabor y olor intenso según Tablas

de Frecuencia y Mapa sensorial. En este mapa se observa que estos atributos están ubicados en el mismo plano donde se encuentran las muestras impregnadas con solución aromática y/o gazpacho. Esto es posible dado que la impregnación a vacío permite incorporar compuestos al alimento que van a cumplir un rol particular, en este caso sensorial (Mújica-Paz, 2003). Del mismo modo el panel de consumidores caracterizó sensorialmente a las hortalizas envasadas a vacío y tratadas con “cook-vidé” y “sous-vidé” como fibrosas, color intenso, con sabor y olor intenso. El envasado al vacío de los alimentos en bolsas termoresistentes posibilita la retención de compuestos solubles y volátiles responsables del olor y sabor, por lo que se consigue productos de mejor la calidad sensorial (Díaz, 2009; Relucio Crespo, 2009).

**Color:** En calabazas los resultados denotaron que no existe diferencia significativa en los parámetros de color  $L^*$  y  $b^*$  ( $p > 0,05$ ) entre el tratamiento al vapor (control) y los tratamientos de cocción estudiados (Tabla 3); en cambio para  $a^*$  hubo diferencias significativas. Entre “cook-vidé” y “sous-vidé” con igual solución no se encontraron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) en los parámetros  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ , excepto en la solución gazpacho en el valor de  $a^*$ , que denota una disminución. En “sous-vidé” impregnadas con ambas soluciones no existieron diferencias significativa ( $p < 0,05$ ) en el parámetro  $L^*$  y  $b^*$ , excepto en el parámetro  $a^*$ .

En la Tabla 4 se puede observar los parámetros de color para muestras de zucchini tratadas al vapor, “cook-vidé” y “sous-vidé”, donde se encontraron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) en  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  entre estos tratamientos. Entre “cook-vidé” y “sous-vidé” con ambas soluciones no hubo diferencias significativas en  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ . En “cook-vidé” con ambas soluciones se encontraron diferencias significativa ( $p < 0,05$ ) en el parámetro  $L^*$  y  $a^*$ . Por su parte, en “sous-vidé” con ambas soluciones se hallaron diferencias significativas en el parámetro  $L^*$  y  $b^*$ .

Con relación a estudios realizados en papas violette (*Solanum tuberosum* var. Blue) sobre el efecto de tratamientos “cook-vidé”, “sous-vidé” y cocción a presión atmosférica en los valores de color, a temperaturas 100, 90 y 80 °C y tiempos entre 15 a 40 minutos, se evidenció diferencias significativa en los parámetros de color  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ . En cambio entre “cook-vidé” y “sous-vidé” no se encontró diferencias significativas entre los tratamientos (Relucio Crespo, 2009). De las hortalizas tratadas mediante los tres procedimientos de cocción, la muestra al vapor obtuvo valores más altos en los parámetros de color. La cocción a vapor trabaja a mayor tempe-

ratura (100 °C) pero a menor tiempo que el resto de las técnicas de cocción; por lo que el tiempo es una variable a seguir optimizando.

## 5. CONCLUSIONES

En las técnicas de cocción empleadas para este estudio las hortalizas no presentaban contacto directo del medio de cocción por lo que no hubo influencia del líquido de cocción en las variables estudiadas. En cuanto al tratamiento térmico, principalmente la relación tiempo y temperatura podría ser un factor relevante seguir optimizando de manera de evaluar su influencia en los parámetros de color entre la cocción a vapor y “cook-vidé” y “sous-vidé”. En cuanto a la aceptabilidad de calabazas y zucchinis con diferentes tratamiento resultaron organolépticamente aceptadas dentro de las escalas de “me gusta” y “ni me gusta ni me disgusta”. Por medio de la evaluación sensorial se obtuvo información de gran utilidad para continuar trabajando en la línea de aceptación y caracterización sensorial de estas hortalizas V gama por parte del consumidor. Si bien es necesario optimizar las condiciones de estas nuevas técnicas de cocción; queda claro que estas son una buena alternativa para el diseño de hortalizas de V gama, ya que permiten potenciar las características organolépticas de las hortalizas estudiadas en cuanto al color, olor y sabor de las mismas.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARES, G; Deliza, R; Barreiro, C; Gimenez, A. & Gámbaro, A. (2010). Comparison of two sensory profiling techniques based on consumer perception. *Food Quality and Preference*. 21:417 – 426.
- ARES, G; Jaeger, S. (2013) Check-all-that-apply questions: Influence of attribute orden on sensory product characterization. *Food Quality and Preference* 28:141–153.
- DÍAZ MOLLIS, P (2009) Tesis Doctoral. Calidad y deterioro de platos “sous-vidé” a base de carne y pescados y almacenados refrigerados. Universidad de Murcia.
- FITO; P. Chiralt, A. Barat, J. Andrés, A. Martínez Monzó, J. Martínez Navarrete, N. (2001) Vacuum impregnation for development of new dehydrated products. *Journal of Food Engineering*. 49: 297-302.



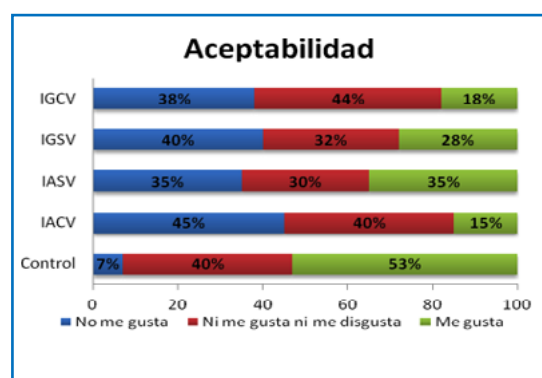
IBORRA-BERNAD, C; Philippon, D; García- Segovia, P; Martínez-Monzó, J. (2013) Optimizing the texture and color of “sous-vide” and “cook-vide” green bean pods. *Food science and technology*. 51:507-513.

MARTINEZ-MONZÓ, J; Salvador, J; Torres, S; Sanjuán, N; García-Segovia, P; 2004. System for vacuum cooking of food. ES 1057342U, (A47J27/04), 10 August 2004, U200400864, 1 April 2004, 8p.

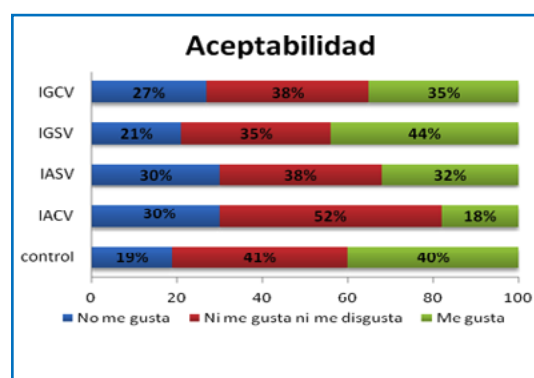
MÚJICA-PAZ, H; Valdez-Fragoso, A; López-Malo, A; Palou, E; Welti-Chanes, J. (2003) Impregnation properties of some fruits at vacuum pressure. *Journal of food engineering*. 56:307-314.

RELUCIO CRESPO, G. M; Garcia Segovia, P; Martinez Monzó, J. (2009) Tesis de Maestría Estudio del proceso de cocción de patatas violette. Universidad Politécnica de Valencia. <http://riunet.upv.es/handle/10251/14364>

## 7. TABLAS Y FIGURAS



**FIGURA 1.** Aceptabilidad en calabazas con diferentes tratamientos, CATA IGCV (Impregnada con gazpacho “cook-vide”); IGSV (Impregnada con gazpacho “sous-vide”); IASV (impregnada con solución aromática “sous-vide”); IACV (impregnada con solución aromática “cook-vide”)



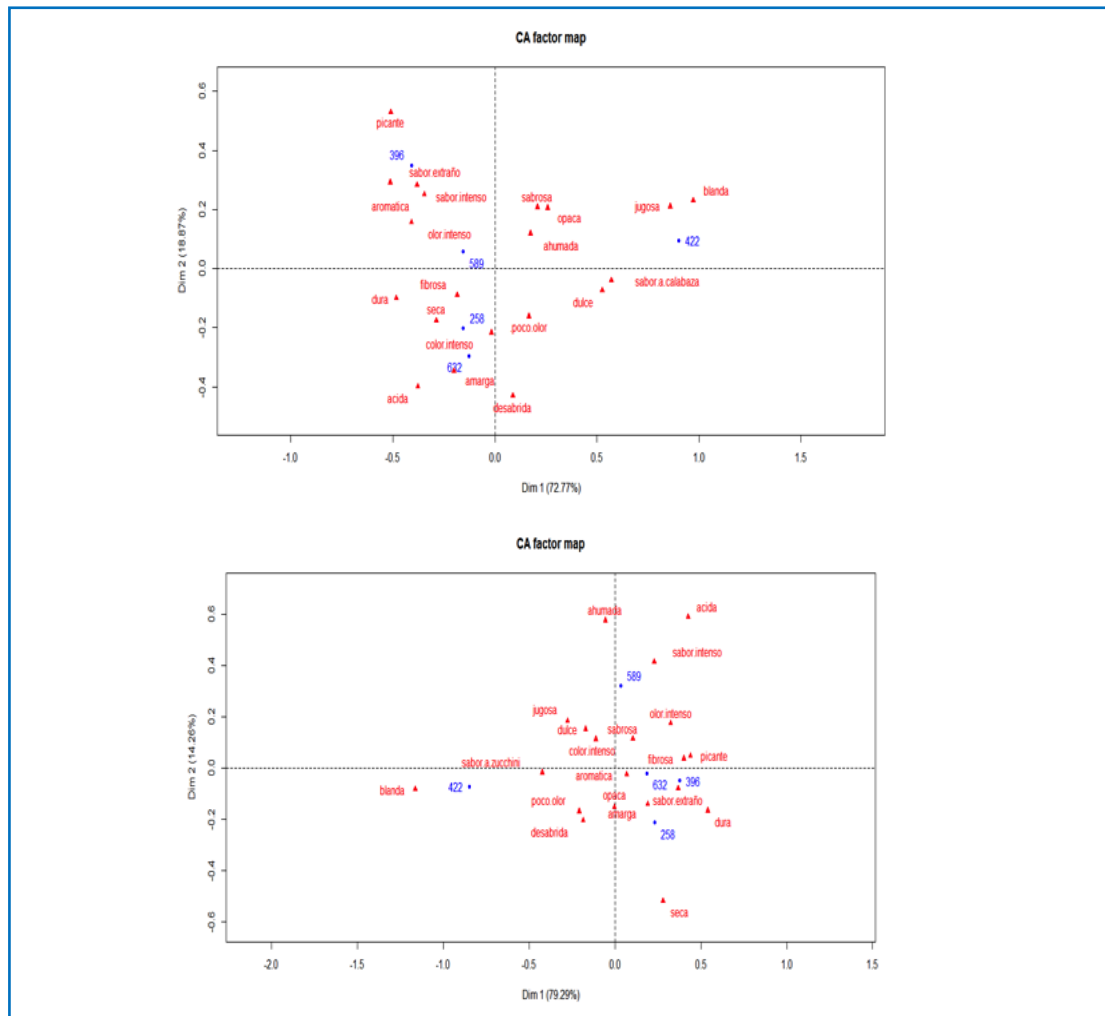
**FIGURA 3.** Aceptabilidad en zucchinis con diferentes tratamientos, CATA. IGCV (Impregnada con gazpacho “cook-vide”); IGSV (Impregnada con gazpacho “sous-vide”); IASV (impregnada con solución aromática “sous-vide”); IACV (impregnada con solución aromática “cook-vide”)

**TABLA 1.** Frecuencia de cada término de la pregunta CATA. Evaluación de muestras de calabazas con diferentes tratamientos

| TÉRMINOS                       | MUESTRAS DE CALABAZAS |    |       |              |    |
|--------------------------------|-----------------------|----|-------|--------------|----|
|                                | IV AROMÁTICA          |    | VAPOR | IV. GAZPACHO |    |
|                                | CV                    | SV |       | SV           | CV |
| Seca <sup>***</sup>            | 21                    | 14 | 5     | 24           | 20 |
| Blanda <sup>ns</sup>           | 10                    | 8  | 51    | 13           | 6  |
| Dura <sup>ns</sup>             | 29                    | 33 | 0     | 27           | 34 |
| Jugosa <sup>***</sup>          | 5                     | 3  | 14    | 3            | 1  |
| Fibrosa <sup>***</sup>         | 36                    | 28 | 15    | 24           | 27 |
| Sabor a calabaza <sup>ns</sup> | 12                    | 6  | 36    | 19           | 17 |
| Sabrosa <sup>ns</sup>          | 10                    | 14 | 18    | 13           | 8  |
| Desabrida <sup>***</sup>       | 20                    | 4  | 13    | 11           | 20 |
| Sabor intenso <sup>***</sup>   | 9                     | 16 | 3     | 15           | 6  |
| Sabor extraño <sup>ns</sup>    | 17                    | 33 | 2     | 15           | 13 |
| Aromática <sup>***</sup>       | 13                    | 17 | 4     | 12           | 5  |
| Picante <sup>ns</sup>          | 3                     | 16 | 1     | 16           | 4  |
| Amarga <sup>***</sup>          | 13                    | 4  | 3     | 8            | 8  |
| Dulce <sup>ns</sup>            | 12                    | 8  | 34    | 14           | 20 |
| Ácida <sup>ns</sup>            | 2                     | 1  | 0     | 4            | 4  |
| Ahumada <sup>ns</sup>          | 2                     | 2  | 2     | 0            | 1  |
| Olor intenso <sup>***</sup>    | 12                    | 21 | 3     | 17           | 13 |
| Poco olor <sup>ns</sup>        | 14                    | 6  | 14    | 13           | 12 |
| Opaca <sup>ns</sup>            | 4                     | 9  | 12    | 7            | 7  |
| Color intenso <sup>***</sup>   | 27                    | 16 | 19    | 22           | 30 |

\*\*\* Indica diferencias entre muestras para un nivel de significación  $p < 0,0001$  de acuerdo al test Q de Cochran;

<sup>ns</sup> indica que no existe diferencias significativas entre las muestras ( $p > 0,05$ ).



**FIGURA 2.** Mapa sensorial de la pregunta CATA de las muestras tratadas: Calabaza (superior), Zucchini (inferior). 422 (vapor); 589 (I.V. gazpacho “sous-vide”); 632 (I.V. gazpacho “cook-vide”); 396 (I.V. aromática “sous-vide”); 258 (I.V. aromática “cook-vide”)

**TABLA 2.** Frecuencia de cada término de la pregunta CATA. Evaluación de las muestras de zuchinis con diferentes tratamientos

| TÉRMINOS              | MUESTRAS DE ZUCHINI |    |       |               |    |
|-----------------------|---------------------|----|-------|---------------|----|
|                       | I.V. AROMÁTICA      |    | VAPOR | I.V. GAZPACHO |    |
|                       | CV                  | SV |       | SV            | CV |
| Seca <sup>ns</sup>    | 4                   | 5  | 2     | 0             | 3  |
| Blanda <sup>ns</sup>  | 5                   | 4  | 55    | 13            | 8  |
| Dura <sup>ns</sup>    | 48                  | 48 | 0     | 27            | 39 |
| Jugosa <sup>ns</sup>  | 18                  | 15 | 38    | 39            | 27 |
| Fibrosa <sup>ns</sup> | 29                  | 29 | 4     | 29            | 26 |

|                                |    |    |    |    |    |
|--------------------------------|----|----|----|----|----|
| Sabor a zucchini <sup>ns</sup> | 12 | 12 | 28 | 16 | 13 |
| Sabrosa <sup>ns</sup>          | 14 | 14 | 20 | 23 | 15 |
| Desabrida <sup>ns</sup>        | 22 | 22 | 25 | 13 | 19 |
| Sabor intenso <sup>ns</sup>    | 7  | 7  | 5  | 24 | 13 |
| Sabor extraño <sup>ns</sup>    | 8  | 8  | 3  | 7  | 15 |
| Aromática <sup>ns</sup>        | 9  | 9  | 9  | 10 | 12 |
| Picante <sup>***</sup>         | 8  | 8  | 1  | 9  | 10 |
| Amarga <sup>ns</sup>           | 13 | 13 | 8  | 9  | 17 |
| Dulce <sup>***</sup>           | 10 | 10 | 13 | 16 | 12 |
| Ácida <sup>ns</sup>            | 0  | 0  | 0  | 4  | 3  |
| Ahumada <sup>ns</sup>          | 1  | 1  | 1  | 3  | 0  |
| Olor intenso <sup>ns</sup>     | 8  | 8  | 2  | 12 | 12 |
| Poco olor <sup>ns</sup>        | 21 | 11 | 24 | 14 | 17 |
| Opaca <sup>***</sup>           | 14 | 7  | 10 | 9  | 12 |
| Color intenso <sup>***</sup>   | 9  | 9  | 7  | 13 | 12 |

\*\*\* Indica diferencias entre muestras para un nivel de significación  $p < 0,0001$  de acuerdo al test Q de Cochran;  
<sup>ns</sup> indica que no existe diferencias significativas entre las muestras ( $p > 0,05$ ).

**TABLA 3.** Color en CIE de los parámetros  $L^*a^*b^*$  en calabaza con diferentes tratamientos

| PARÁMETROS | CONTROL                   | IV GAZPACHO                     |                                 | IV AROMÁTICA                    |                                 |
|------------|---------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
|            | Vapor                     | CV                              | SV                              | CV                              | SV                              |
|            | 100 °C 15min              | 75 °C 35min                     | 75 °C 45min                     | 75 °C 35min                     | 75 °C 45min                     |
| $L^*$      | 59.1(0.9) <sup>*,ns</sup> | 54.7(1,6) <sup>*,ns,ns,ns</sup> | 54.1(3.9) <sup>*,ns,ns,ns</sup> | 53.4(2.2) <sup>*,1,ns,ns</sup>  | 56.4(1.6) <sup>*,ns,ns,ns</sup> |
| $a^*$      | 32.7(0.9) <sup>*,1</sup>  | 31.9(0.8) <sup>*,ns,2,ns</sup>  | 27.5(1.5) <sup>*,1,2,3</sup>    | 29.1(1.8) <sup>*,1,ns,ns</sup>  | 31.6(1.9) <sup>*,ns,ns,3</sup>  |
| $b^*$      | 52.3(3.7) <sup>*,ns</sup> | 55.5(3.7) <sup>*,ns,ns,ns</sup> | 45.8(6.7) <sup>*,ns,ns,ns</sup> | 45.8(6.7) <sup>*,ns,ns,ns</sup> | 48.3(9) <sup>*,ns,ns,ns</sup>   |

Media, (desviación estándar). <sup>ns</sup>: diferencia no significativa.

<sup>1</sup>Diferencia significativa entre los tratamientos de calor (Vapor-“cook-vidé”; Vapor-“sous-vidé”); <sup>2</sup> (“cook-vidé”-“sous-vidé” con igual fondo); <sup>3</sup> (“cook-vidé”-“cook-vidé”- diferentes fondos), (“sous-vidé”-“sous-vidé”- diferentes fondos) ( $p < 0.05$ ).

**TABLA 4.** Color en CIE de los parámetros  $L^*a^*b^*$  en zucchini con diferentes tratamientos

| PARÁMETROS | CONTROL                  | IV GAZPACHO                    |                               | IV AROMÁTICA                   |                               |
|------------|--------------------------|--------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
|            | Vapor                    | CV                             | SV                            | CV                             | SV                            |
|            | 100 °C 20min             | 75° 25min                      | 75° 35min                     | 75° 25min                      | 75° 35min                     |
| $L^*$      | 72.6(0.9) <sup>*,1</sup> | 66.8(0.9) <sup>*,1,ns,3</sup>  | 68.4(1.8) <sup>*,1,ns,3</sup> | 62.8(0.17) <sup>*,1,ns,3</sup> | 65.4(1.3) <sup>*,1,ns,3</sup> |
| $a^*$      | 2.4(0.1) <sup>*,1</sup>  | 0.9(0.7) <sup>*,1,ns,3</sup>   | 1.1(0.7) <sup>*,1,ns,ns</sup> | 3.6(0.5) <sup>*,1,ns,3</sup>   | 0.3(0.2) <sup>*,1,ns,ns</sup> |
| $b^*$      | 45.1(1.4) <sup>*,1</sup> | 39.9(2.7) <sup>*,1,ns,ns</sup> | 42.9(2.7) <sup>*,ns,3</sup>   | 40.7(1.9) <sup>*,1,ns,ns</sup> | 38.2(0.5) <sup>*,1,ns,3</sup> |

Media, (estándar de desviación) . <sup>ns</sup>: no significativa la diferencia.

<sup>1</sup>Diferencia significativa entre los tratamientos de calor (Vapor-“cook-vidé”; Vapor-“sous-vidé”); <sup>2</sup> (“cook-vidé”-“sous-vidé” con igual fondo); <sup>3</sup> (“cook-vidé”-“cook-vidé”- diferentes fondos), (“sous-vidé”-“sous-vidé”- diferentes fondos) ( $p < 0.05$ ).

# FORMULACIÓN DE BEBIDAS FUNCIONALES DIETÉTICAS SABORIZADAS A BASE DE YACÓN

Carolina Antonella Paulino<sup>1</sup>, Andrés Alberto Chavarri Altamirano<sup>1</sup>,  
Antonio De Michelis<sup>1,2</sup>, Mónica Roselva Ochoa<sup>1</sup>

## 1. RESUMEN

La ingesta de compuestos bioactivos es un factor importante para la protección de la salud, ya que éstos contribuyen eficientemente a disminuir los riesgos de patologías diversas tales como el cáncer, ciertas enfermedades cardíacas, etc. Su modo de acción estaría relacionado al hecho de proteger las células de los daños producidos por radicales libres. Las aguas saborizadas son un producto relativamente nuevo, surgido de la unión de aguas minerales con polvos frutales, que comenzaron a desarrollarse en el año 2002, a fin de crear nuevos mercados. El objetivo del presente trabajo es formular bebidas saborizadas dietéticas con características funcionales, utilizando como base, hojas deshidratadas de yacón que han sido estudiadas en los últimos años y se sabe que tienen sesquiterpenos, lactonas, flavonoides y alto contenido de potasio; con el agregado de polvo de cassis y de rosa mosqueta, frutas que se agregan por su contenido en flavonoides y/o ácido ascórbico. Se prepararon cinco extractos acuosos, en 125 ml de agua en ebullición constante durante 2 minutos y luego se separaron los sólidos a través de una filtración realizada mediante papel de filtración rápida, luego se endulzaron las mezclas con 0,3 ml del producto comercial Zucra® de Hileret. Los extractos y las determinaciones se realizaron por triplicado. Se analizó el contenido de fenoles totales por Folin&Ciocalteu, índice de actividad antioxidante con el radical estable 1,1-difenil-2-picrilhidracilo (DPPH) en metanol, flavonoides por el método del AlCl<sub>3</sub>, sodio y potasio mediante fotometría de llama y ácido ascórbico a través del

---

CONTACTO: Carolina A. Paulino [carolina.paulino@facta.uncoma.edu.ar](mailto:carolina.paulino@facta.uncoma.edu.ar)

1. Facultad de Ciencias y Tecnología de los Alimentos, Universidad Nacional del Comahue, Argentina.

2. CORFO Chubut, INTA AER El Bolson, CONICET, Argentina.

método del 2,6 diclorofenolindofenol o por HPLC según el protocolo AOAC- Brause-IFU Analytical Commission. Además se realizó un análisis sensorial, con un panel no entrenado, donde se evaluaron parámetros generales y otros específicos a través de escalas hedónicas (preferencia global, color y sabor) y escala “lo justo” (dulzor). El trabajo permitió desarrollar y optimizar una nueva forma de consumo de yacón, en una bebida saborizada dietética con rosa mosqueta y cassis. Teniendo en cuenta el contenido de compuestos bioactivos, la bebida que aportaría en mayor medida al mantenimiento de la salud sería la mezcla yacón-rosa mosqueta, con un alto valor de flavonoides, importante índice de actividad antioxidante, contenido de potasio mayor a otras bebidas similares disponibles en el mercado, bajo contenido en sodio y cantidad considerable de vitamina C, pudiendo alcanzarse la ingesta diaria recomendada con el consumo de tres vasos de esta bebida. La respuesta sensorial presenta un importante acierto que puede ser proyectado a un estudio de mercado.

## 2. INTRODUCCIÓN

Los “componentes bioactivos” son constituyentes extranutricionales que se encuentran en pequeñas cantidades en algunos alimentos. Entre estos componentes, se destacan el ácido ascórbico (vitamina C), tocoferoles y tocotrienoles (vitamina E), Carotenoides (Provitamina A) y los compuestos fenólicos, como los flavonoides presentes en cereales, legumbres, nueces, aceite de oliva, hortalizas, frutas, té y vino tinto entre otros (Kris-Etherton *et al.*, 2002). Se ha demostrado que éstos producen un efecto protector frente a enfermedades provocadas por el llamado estrés oxidativo.

El yacón (*Smallanthus sonchifolius*) es una planta que se desarrolla principalmente desde el sur de Colombia hasta el norte de Argentina, y se adapta fácilmente a una diversidad amplia de climas y suelos. La hoja presenta sesquiterpenos, lactonas y flavonoides. Además se demostró que la infusión de hojas de yacón tiene propiedades hipoglucemiantes (Seminario, Valderrama y Manrique, 2003).

La rosa mosqueta es una especie arbustiva exótica originaria de Europa ingresada a la Argentina desde Chile. Ha invadido grandes extensiones de tierra de la región andino – patagónica, a tal punto que se visualiza como una plaga. Sus frutos ya estudiados por su alto tenor de Vitamina C, también son ricos en pigmentos carotenoides, a los que debe su color naranja – rojizo intenso, responsables además de gran parte de la actividad nutricional y biológica (Caro, 2007).

La grosella negra (*Ribes nigrum*), también llamada cassis por su denominación francesa, es el fruto de un arbusto originario de Europa. El cassis nace en racimos formados por pequeñas bayas de piel lisa y oscura y es rico en antocianinas y vitamina C.

Las aguas saborizadas son un producto relativamente nuevo, surgido de la unión de aguas minerales con polvos frutales que comenzaron a desarrollarse en el año 2002. El consumo per cápita ha alcanzado aproximadamente los 22,4 litros por año. (Naso, 2012).

El objetivo de este trabajo fue formular bebidas saborizadas dietéticas con características funcionales, utilizando como base, hojas deshidratadas de Yacón, polvo de cassis y polvo de rosa mosqueta.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

Se trabajó con Cassis var. *Silver grietten* y Rosa Mosqueta silvestre var. *Rosa eglan-teria* provenientes de El Bolsón, provincia de Río Negro, Argentina. Los frutos se conservaron en freezer a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta el momento de su deshidratación, la cual se llevó a cabo en un secadero piloto con circulación de aire caliente a temperatura constante de  $70\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta una humedad de 12 y 9%, respectivamente. Luego se pulverizó la muestra mediante un molinillo marca CoolBrand y se homogenizó el tamaño utilizando un tamiz 18 mesh. Se utilizaron hojas micropulverizadas de yacon, “Te de Yacón”, aportadas por el productor Elio Morales de la zona del Alto Valle de Rio Negro.

**Preparación de los extractos:** Se prepararon cinco extractos acuosos, cada uno por triplicado, utilizando para los extractos puros 0,5 g de polvo, y para las mezclas, 0,5 g de Yacón mas 1g de RMD o 1 g de cassis en 125 ml de agua en ebullición.

Las mezclas permanecieron durante 2 min en ebullición constante y luego se separaron los sólidos a través de una filtración rápida, luego se endulzaron las mezclas con 0,3 ml del producto comercial Zucra® (Sucralosa 1310 mg/100 ml).

**Determinaciones:** Todos los extractos y las determinaciones se realizaron por triplicado.

*Fenoles totales (FT).* Se midió por el método descrito por Swain y Hillis (1959) con algunas modificaciones. Las lecturas de absorbancia fueron realizadas a 765 nm, contra un estándar externo de Ácido Gálico (mg/l). Los resultados se expresa-

ron como miligramos Ácido Gálico Equivalente por cada 100 mililitros de extracto (mg GAE/100 ml E).

*Flavonoides (Fv)*. Se determinaron por el método de formación de complejo con  $AlCl_3$ , contra un estándar externo de catequina (mg/l). Las lecturas de absorbancia fueron realizadas a 510 nm. Los resultados se expresaron como miligramos Catequina Equivalente por cada 100 mililitros de extracto (mg CE/100 ml E) (Zhishen *et al.*, 1999).

Índice de Actividad Antioxidante (IAA). El IAA fue analizado empleando el radical estable 1,1-difenil-2-picrilhidracilo (DPPH.) en metanol (Scherer y Godoy, 2008). Se midió la absorbancia a 515 nm y se calculó % DPPH. Remanente =  $(Abs_1/Abs_0) * 100$ , donde  $Abs_0$  es la absorbancia de la solución de trabajo de DPPH y  $Abs_1$  es la absorbancia en presencia de los extractos en distintas concentraciones. La concentración de extracto necesaria para disminuir la concentración inicial del DPPH en un 50 % se denominó  $EC_{50}$  y fue calculada gráficamente usando una curva de calibración DPPH remanente vs. concentración de extracto. El IAA se calculó como cociente entre: concentración de DPPH (ppm) y  $EC_{50}$ . La determinación del IAA se realizó en los extractos de las bebidas y también en dos estándares: ácido gálico y ácido ascórbico.

*Vitamina C*. Se utilizó el método de 2,6-diclorofenolindofenol modificado (Caro, 2007), se realizan las lecturas a 520 nm a través de una curva de calibrado se determina la cantidad de ácido ascórbico presente en la muestra. También se realizaron determinaciones de Ácido Ascórbico Total por HPLC según el método AOAC Collaborative Protocol, Brause, IFU Analytical Commission (1998), debido a que en el polvo de Cassis y en el extracto Yacón-Cassis (de color rojizo) se presentó una interferencia debido al color de las muestras. Los resultados se informaron como mg de ácido ascórbico total por cada kg de fruta deshidratada o L de extracto, según corresponda.

*Sodio y Potasio*. Se determinó según el método 973.53 y 973.54 de la AOAC (1990). Las lecturas fueron realizadas con un fotómetro de llama con patrón interno Metrolab 4100. Los resultados se informaron como mg de sodio y potasio por cada litro de extracto.

*Análisis sensorial*. Las muestras a analizar fueron preparadas de acuerdo a las proporciones especificadas y se presentaron en vasos de 50 ml, transparentes, codificados con números de tres cifras al azar. Se proporcionó agua mineral y galletitas sin sal para enjuagar la boca. Para este análisis se utilizó un panel no entrenado, forma-



do por una cantidad de 55 panelistas de diferentes edades. Se evaluaron parámetros generales y otros específicos a través de escalas hedónicas (Preferencia global, color y sabor) y escala “lo justo” (Dulzor) (Jimenez Herrera y Carpio Dueñas, 2002).

*Análisis estadístico.* Los datos fueron analizados estadísticamente determinando la media y la desviación estándar, utilizando el software estadístico Statistica 8.0.

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se muestra el contenido de Fenoles totales (FT), Flavonoides (Fv), Índice de Actividad Antioxidante (IAA), Potasio (K), Sodio (Na) y Vitamina C (Vit c) para los extractos de las materias primas y las mezclas Yacón-cassis (Y-Cs) y Yacón-Rosa Mosqueta (Y-RM).

Cuando se analizó la variable FT sobre el polvo de yacón, se obtuvo un resultado de  $5282 \pm 237$  mg GAE/100 gr, lo cual resulta un elevado valor trasladable a las bebidas que lo contengan, pero que no se ha podido cuantificar ya que la determinación presenta interferencia en muestras con alta concentración de ácido ascórbico, como es el caso de la rosa mosqueta y el cassis (Lester *et al.*, 2012).

La Figura 1 muestra el contenido de Fv y IAA. Se observa que si se considera un vaso de bebida de yacón o rosa mosqueta, las concentraciones de Fv alcanzadas son comparables a 100 gramos de manzana roja, pera o repollitos de Brusela; y mayores que los hallados en la misma cantidad de tomate, durazno, zanahoria y cerezas (Marinova y Ribarova, 2006). Las mezclas Y-RM y Y-Cs presentan aditividad respecto a los Fv y se observa un alto porcentaje de recuperación (92 % y 85 % respectivamente). Puede verse también el bajo contenido que presenta el Cassis por lo cual se atribuye la concentración final de la mezcla Y-Cs casi totalmente al yacón.

La concentración de Fv que contienen los extractos Y-Cs y Y-RM significarían un importante complemento a la dieta diaria ya que, dos vasos de estas bebidas aportarían entre 75 y 230 mg. Se calcula que la ingesta diaria de flavonoides provenientes de la dieta es de entre 50-800 mg/día (Pietta, 1999), aunque algunos autores (Middleton y Kandaswami, 1994) informan hasta 1 g. Una taza de té negro puede proporcionar hasta 140 mg de flavonoides totales y un vaso de vino hasta 200 mg (Vera Tudela, 2003).

Existen diversas formas de expresar los resultados del potencial antioxidante basados en la reducción del radical DPPH, pero es difícil compararlos debido a

las diferencias en las condiciones de ensayo. El IAA relaciona la concentración de DPPH inicial con el  $EC_{50}$  de la muestra, resultando en un valor constante para los estándares y extractos vegetales, mientras hayan sido obtenidos en iguales condiciones (Scherer y Godoy, 2009).

En este trabajo, los valores de IAA de las distintas muestras estuvieron en el rango de 1,9 a 16,6. Scherer y Godoy (2009) plantean una clasificación de acuerdo al IAA obtenido: baja actividad antioxidante cuando índice es  $< 0,5$ ; moderada en los casos que se encuentra entre 0,5 y 1,0; fuerte cuando el valor está entre 1,0 y 2,0 y muy fuerte cuando es  $> 2,0$ . Teniendo en cuenta que el IAA de los estándares Ácido Gálico y Ácido Ascórbico obtenidos fue de 29 y 10 respectivamente, y que dichos autores referencian valores de IAA para Ácido Cafeico 10,4; BHA (Butilhidroxianisol) 9; Quercetina 14,8 y Rutina 5,8; se puede inferir que todas las bebidas formuladas poseen una muy alta actividad antioxidante, comparable a compuestos de probado poder antirradicalario. Las mezclas Y-RM y Y-Cs presentan aditividad respecto a los IAA y se observa un alto porcentaje de recuperación (90% y 82% respectivamente).

En la Figura 2 se muestra el contenido de potasio de las diferentes bebidas. Para el polvo de Yacón, se obtuvo un resultado de  $2193,8 \pm 93$  mg de potasio cada 100 gr, lo cual resulta un elevado valor si se considera que la ingesta diaria recomendada por FAO es de 3510 mg por día y que el consumo de este mineral es escaso en la población (OMS, 2012).

Las mezclas Y-Cs y Y-RM presentan un alto porcentaje de recuperación, mayor a un 85% (173 y 176 ppm de K, respectivamente). Si comparamos la concentración de potasio en ellas con las bebidas disponibles en el mercado (Tabla 3), vemos que el aporte de las primeras es significativamente mayor (entre un 32 y 97%), representando una excelente fuente de este mineral que permitiría alcanzar valores de ingesta más cercanos a los recomendados. En el caso puntual de Powerade, el valor informado es mayor que el reportado para las bebidas en estudio. Este producto fue lanzado recientemente por Coca-Cola Company como una bebida isotónica dirigida a deportistas (nótese además el elevado valor de sodio), por lo cual su target difiere de la población objetiva de este estudio.

El contenido de sodio en todas las bebidas formuladas fue muy bajo, por lo cual según el Código Alimentario Argentino en su artículo 986, se encontrarían dentro de las denominadas “Bajas en sodio” (valores inferiores a 20 mg/l). Nue-

vamente en comparación con las bebidas comerciales, los valores obtenidos son significativamente menores; por ejemplo, el té negro que presenta la menor concentración de sodio de la lista, estaría aportando un 80 % más de sodio que los extractos formulados.

El contenido de vitamina C de las bebidas formuladas se puede visualizar en la Figura 3. Los frutos de la rosa mosqueta se caracterizan, entre otros, por su alto contenido en vitamina C, entre 500 y 2.200 mg por 100 g de fruta fresca, según la fecha de recolección, el grado de maduración, las condiciones climáticas imperantes y la zona de donde se la obtiene (Pirone *et al.*, 2002). Las bebidas que mayor concentración de vitamina presentaron fueron aquellas que tenían como materia prima este fruto (Y-RM 8,78 mg ac. ascórbico/100ml de bebida). Esto representa un aporte importante de vitamina C a la dieta, teniendo en cuenta que la ingesta diaria recomendada de este compuesto es de 60 mg/día según FAO. En los extractos de Yacón, cassis y su mezcla, la concentración de vitamina C detectada no fue significativa. Esta vitamina es muy sensible a diversos factores que pueden influir en los mecanismos degradativos, entre los cuales se pueden citar la temperatura, la concentración de sal y azúcar, el pH, el oxígeno, las enzimas, etc. Todos ellos están relacionados con las técnicas de proceso y con la composición del producto que se procese. En el caso de los frutos de la rosa mosqueta se concluye que el calentamiento inicial que se realiza para obtener las bebidas, durante 2 minutos a temperatura de ebullición, no ocasionó una pérdida significativa de este parámetro.

El panel de degustación se realizó para las dos bebidas mezclas. En la Tabla 4 se presentan los valores de preferencia global, sabor y color. Ambas bebidas tuvieron buena aceptación global por parte del panel, mayor a un 60 % siendo el extracto con Rosa Mosqueta el más aceptado (85 %). No se hallaron diferencias significativas de acuerdo al sexo del panelista. El color es el primer contacto que tiene el consumidor con un alimento, condicionando sus preferencias e influenciando su elección. Los colores de ambas bebidas tuvieron excelente aceptación en los panelistas. Al ser consultados por el consumo de bebidas saborizadas, el 51 % del panel expreso consumirlas más de una vez por semana; el 27 % solo una vez y el 22 % menos de una vez, lo que reafirma que se trata de un crecimiento espectacular logrado en gran medida a expensas del sector de las bebidas gaseosas, debido a los cambios de hábitos de los consumidores, que procuran mejores precios y costumbres más saludables.

## 5. CONCLUSIONES

El trabajo permitió desarrollar y optimizar una nueva forma de consumo de Yacón, en una bebida saborizada con Rosa Mosqueta y Cassis. Teniendo en cuenta el contenido de Flavonoides, Ácido ascórbico, potasio, sodio e Índice de Actividad Antioxidante, los productos de mejores características funcionales y que más aportarían al mantenimiento de la salud serían las bebidas mezclas, principalmente aquella que contiene Yacón y Rosa Mosqueta. La adición de los saborizantes resalta los sabores y colores en la mezcla final. Los componentes en general del producto y sus características organolépticas lo clasifican como un alimento funcional que puede ser consumido por un amplio grupo de personas.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY (1990). Official Methods of Analysis of the AOAC. 15th Edition. Washington D.C.
- CARO J., (2007). *Comparación entre un método enzimático y uno colorimétrico en la determinación de ácido ascórbico en Rosa Mosqueta*. Tesina Técnico en Control e Higiene de los Alimentos. UNCo, Argentina.
- JIMÉNEZ HERRERA B. y Carpio Dueñas A. (2002). *La cata de aceites: aceite de oliva virgen. Características organolépticas y análisis sensorial*. Edición a cargo de Junta de Andalucía. Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera, Consejería de Agricultura y Pesca, Sevilla.
- KRIS-ETHERTON, P.M., *et al.* (2002) "Bioactive compounds in Foods: Their role in the prevention on Cardiovascular disease and Cancer" en *The American Journal of Medicine* [En Línea]. Volumen 113, Diciembre de 2002, Universidad de Padua, disponible en: <http://aprendeonline.udea.edu.co> (27 de Agosto de 2014).
- LESTER, G., *et al.* (2012). "Comparative analysis of strawberry total phenolics via Fast Blue BB vs. Folin–Ciocalteu: Assay interference by ascorbic acid" en *Journal of Food Composition and Analysis*. [En Línea]. Volumen 27, Mayo de 2012, U.S. Department of Agriculture, UnitedStates, disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2012.05.003> (01 de Agosto de 2014).
- MARINOVA, D., Ribarova, F., (2006). "HPLC determination of carotenoids in Bulgarian berries" en *Journal of Food Composition and Analysis*, Volumen 20, pp. 370-374.

- MIDDLETON, E. y Kandaswami, C. (1994). "The impact of plant flavonoids on mammalian biology: implications for immunity, inflammation and cancer" en Harborne, J.B. Chapman and Hall (comp.), *The flavonoids: Advances in research since 1986*, London.
- NASO, P., (2012). "Aguas Saborizadas" en *Alimentos Argentinos*, Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación Argentina. Edición 55, Junio 2012, pp. 27-29.
- ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (2012). "Guideline: Potassium intake for adults and children" en *WHO Library Cataloguing*. [En Línea]. Ginebra, Suiza, disponible en : <http://www.who.int> (27 de Agosto de 2014)
- PIETTA P., (1999). "Natural-antioxidants in nutrition, health and disease" en *Proceedings 2<sup>nd</sup> International Conference on Natural Antioxidants and Anticarcinogens*. Helsinki, pp. 137-140
- PIRONE B.; et al. (2002). "Evolución de la concentración de ácido ascórbico durante el proceso de deshidratación de frutos de la Rosa Mosqueta (*Rosa eglanteria l.*)" en *Revista de Investigaciones Agropecuarias. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, INTA*. Volumen 31, número 001, pp. 85-98.
- SCHERER R.; Godoy, H. (2009). "Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method" en *Food Chemistry*. [En Línea]. Volumen 112, Junio 2008, Universidad de Campinas, Brasil, disponible en: [www.elsevier.com/locate/foodchem](http://www.elsevier.com/locate/foodchem) (24 de abril 2014).
- SEMINARIO J., Valderrama M. y Manrique I. (2003). *El Yacón: Fundamentos para el aprovechamiento de un recurso promisorio*. Edición del Centro Internacional de la Papa (CIP), Universidad Nacional de Cajamarca, Agencia Suiza para el Desarrollo y la Cooperación (COSUDE), Lima, Perú.
- SWAIN, T., Hillis, W. (1959). "The quantitative analysis of phenolic constituents" en *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Volumen 10, Edición 1, Enero 1959, pp. 63-68.
- VERA TUDELA R. (2003). *Infusiones heladas como bebidas alternativas en el Mercado Nacional*. Tesis para optar el Título de Ingeniero Industrial y Sistemas de la Facultad de Ingeniería. Área Departamental de Ciencias de la Ingeniería. Universidad de Piura, Perú
- ZHISHEN, J., Mengcheng, T., Jianming, W. (1999). "The determination of flavonoid content in mulberry and their effects on suppression radicals" en *Journal of Food Chemistry*. Volumen 64, Abril 1998, pp. 555-559.

## 7. TABLAS Y FIGURAS

**TABLA 1.** Valores de compuestos bioactivos y minerales para materias primas y mezclas

| DETERMINACIONES                                    | YACÓN      | CASSIS    | ROSA<br>MOSQUETA | YACÓN-CASSIS | YACÓN-ROSA<br>MOSQUETA |
|--|------------|-----------|------------------|--------------|------------------------|
| Polifenoles <sup>(a)</sup>                         | 21,3 ± 0,9 | -         | -                | -            | -                      |
| Flavonoides <sup>(b)</sup>                         | 14,4 ± 1,4 | 1,6 ± 0,1 | 18,1 ± 0,3       | 14,9 ± 0,6   | 46,6 ± 0,7             |
| Índice de Actividad<br>Antioxidante <sup>(c)</sup> | 3,6 ± 0,4  | 1,9 ± 0,0 | 7,4 ± 0,2        | 6,1 ± 0,1    | 16,6 ± 0,2             |
| Potasio <sup>(d)</sup>                             | 8,78 ± 0   | 5,88 ± 0  | 4,32 ± 0         | 17,27 ± 0    | 17,65 ± 0              |
| Sodio <sup>(e)</sup>                               | < 0,1      | < 0,1     | < 0,1            | < 0,1        | < 0,1                  |
| Vitamina C <sup>(f)</sup>                          | N/D        | 1,00 ± 0  | 4,69 ± 0,03      | 1,00 ± 0     | 8,78 ± 0,14            |

(a) mg GAE/100 ml bebida, (b) mg CE/100 ml bebida, (c) Concentración final DPPH/EC<sub>50</sub>, (d) mg K/100 ml bebida, (e) mgNa/100 ml bebida, (f) mg ascórbico Total/100 ml de bebida.

**TABLA 2.** Concentraciones de sodio y potasio en bebidas varias

| NOMBRE COMERCIAL                           | POTASIO (MG/LITRO) | SODIO (MG/LITRO) |
|--|--------------------|------------------|
| Aquarius Naranja <sup>(a)</sup>            | 67                 | 299              |
| Red Bull <sup>(a)</sup>                    | 51                 | 828              |
| Gatorade <sup>(b)</sup>                    | 120                | 450              |
| Coca-Cola <sup>(a)</sup>                   | 39                 | 115              |
| Pepsi <sup>(a)</sup>                       | 36                 | 115              |
| Powerade <sup>(c)</sup>                    | 380                | 630              |
| Agua Mineral Villa Vicencio <sup>(d)</sup> | 4,8                | 110              |
| Té negro <sup>(e)</sup>                    | 129                | 0,8              |

(a) Miñana, 2001. (b) [www.gatorade.com.ar](http://www.gatorade.com.ar) (c) [www.powerade.com.ar](http://www.powerade.com.ar) (d) [www.villavicencio.com.ar](http://www.villavicencio.com.ar) (e) Vera Tudela R., 2003. Acceso: abril 2014

**TABLA 3.** Análisis sensorial en las bebidas mezcla

| BEBIDAS MEZCLA      | GLOBAL    |              | COLOR     |              | SABOR     |              |
|---------------------|-----------|--------------|-----------|--------------|-----------|--------------|
|                     | Aceptable | No Aceptable | Aceptable | No Aceptable | Aceptable | No Aceptable |
| Yacón-Cassis        | 65 %      | 35 %         | 91 %      | 9 %          | 58 %      | 42 %         |
| Yacón-Rosa Mosqueta | 85 %      | 15 %         | 87 %      | 13 %         | 82 %      | 18 %         |

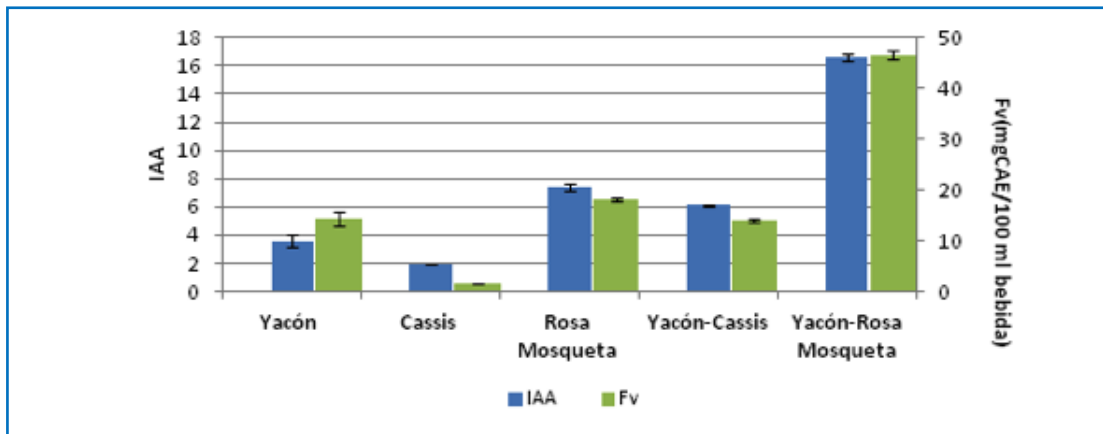


FIGURA 1. Concentración de flavonoides e Índice de Actividad Antioxidante para cada una de las bebidas formuladas

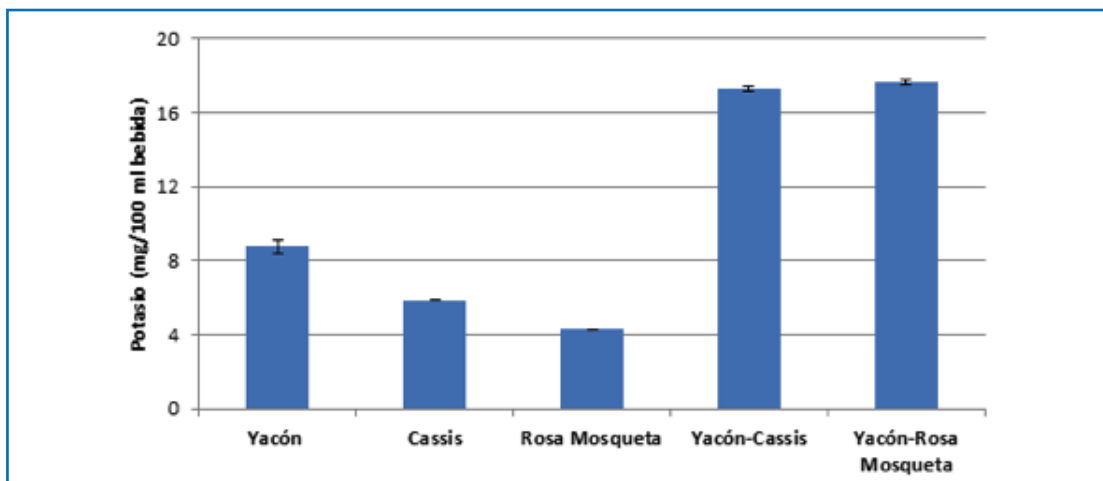


FIGURA 2. Concentración de Potasio para cada una de las bebidas formuladas

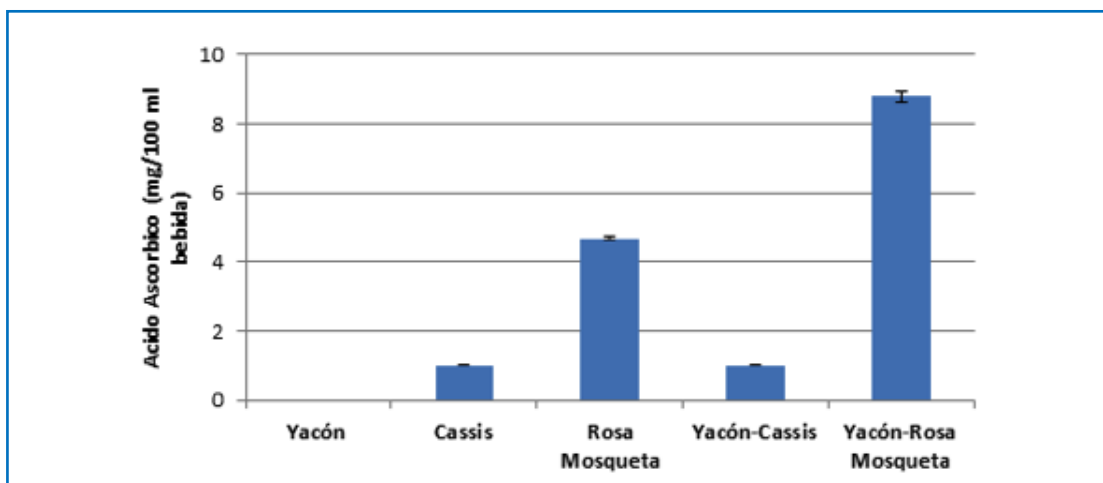


FIGURA 3. Concentración de Ácido Ascórbico para cada una de las bebidas formuladas

# ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS DE DULCES DE CONFITERÍA EN LA CIUDAD DE CASCAVEL, PARANÁ, BRASIL

Renata Daniela Saldanha Nandi<sup>1</sup>, Luciana Oliveira de Fariña<sup>2</sup>, Fabiana André Falconi<sup>2</sup>

## 1. RESUMEN

Los dulces producidos en confiterías comerciales, especialmente con rellenos, son perecederos porque tienen una composición que favorece la multiplicación de micro-organismos. Uno de los factores que contribuyen en ese requisito es el proceso de manipulación que, caso no acompañado, puede llevar a contaminaciones. El objetivo de este trabajo fue evaluar la calidad microbiológica de dulces de confitería comercializados en diversas confiterías del Cascavel, Paraná, Brasil. En el período de agosto de 2013 a febrero de 2014, fue realizada la colecta de 20 muestras de dulces de confitería las cuales fueron transportadas al Laboratorio de Microbiología de UNIOESTE, para la realización de los análisis de Recuento de *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva, de acuerdo a la metodología establecida por el Ministerio de Agricultura y Ganadería brasileiro. De las muestras evaluadas, once (55 %) presentaron *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva. Seis muestras (54,5 %) se presentaron inadecuadas para el consumo por sobrepasaren los límites establecidos por la legislación vigente ( $10^3$  UFC/g de alimento). Además, entre esas seis muestras, tres (50 %) presentaron índices iguales a  $10^5$  UFC/g, siendo esa cantidad capaz de producir entero toxinas suficientes para causar una intoxicación alimentaria considerable. Por estar presente en la microbiota normal del hombre, como en la piel y mucosas, la manipulación inadecuada de los alimentos constituye la principal fuente de contaminación con estafilococos y por eso, para prevenir una intoxicación es importante mantener la salud de los manipu-

---

CONTACTO: Fabiana André Falconi [fafalconi@hotmail.com](mailto:fafalconi@hotmail.com)

1. Alumna.

2. Profesoras. Curso de Farmácia, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, UNIOESTE, Cascavel, Brasil.



ladores y conservar los dulces bajo refrigeración, pues de esa forma la multiplicación bacteriana sería impedida. Además es necesario verificar si las Buenas Prácticas de Manipulación vienen siendo cumplidas en las confiterías, para mejor protección de la salud de los consumidores.

## 2. INTRODUCCIÓN

La preparación de los alimentos es una actividad que está directamente relacionada con la salud de la población. Dependiendo de las condiciones de preparación de los alimentos, puede ser una actividad de promoción de la salud y de la enfermedad para los que los consumen (Souza, 2012). Según Casalini (2008), las enfermedades transmitidas por alimentos (DTAs) son probablemente el mayor problema de salud en el mundo contemporáneo y por lo que es importante conocer las variables que pueden comprometer la calidad de los alimentos y la seguridad, en el que se destacan la condición higiénico-sanitaria durante el procesamiento, producción, manipulación y conservación de alimentos. Las enfermedades transmitidas por alimentos (DTAs) están relacionadas a diferentes microorganismos y toxinas preformadas, a la diversidad de productos que pueden relacionarlas a los períodos de incubación variables, a los cuadros clínicos diferenciados, consecuencias y secuelas (Faustino, 2007).

Los productos de confitería se definen como los obtenidos por cocción adecuada de masa preparada con harina, almidones y otras sustancias alimenticias, dulces o salados, rellenos o no. El producto final se es designado por nombres populares o de acuerdo con la sustancia que lo caracteriza (Brasil, 1978).

Los dulces de confitería son ampliamente comercializados y consumidos por todos los grupos de edad, que ocupa una posición destacada en la industria alimentaria. Se presentan complemento agradable al paladar y visualmente atractivos y con frecuencia son complementos de las comidas diarias (Monastier *et al.*, 2013). En la mayoría de las veces, están expuestos en las barras durante horas, incluso días, con o sin refrigeración, lo que pueden poner en riesgo la calidad y promover el crecimiento de microorganismos (Cavalcanti, 2006; Monastier *et al.*, 2013).

Los alimentos dulces, en particular los rellenos, son altamente perecederos por tener una composición que promueve la multiplicación de microorganismos. En la mayoría de los rellenos, el deterioro puede ser favorecido si en su formulación

haya la adición de fuentes de proteínas tales como huevos y leche, si la actividad de agua sea alta y si el pH esté cercano a la neutralidad (Cavalcanti, 2006). Los ingredientes de diferentes cremas utilizados en dulces son variables y generalmente contiene productos lácteos deshidratados emulsionados con grasa y azúcar. Cremas industrializadas son pasteurizadas antes de la distribución y al entrar en contacto con tartas, pasteles, natillas y otros dulces, los nutrientes son absorbidos, lo que favorece el crecimiento bacteriano (Peixoto, 2009).

En cuanto a las características microbiológicas, la Resolución de la Dirección Colegiada - RDC n.º 12 del 02/01/2001 que establecen para Productos de Confeitería las siguientes normas: índice máximo  $10^2$  CFU/g para Coliformes a 45 °C, índice máximo de  $10^3$  UFC/g para *Estafilococos* Coagulase Positivos, índice máximo  $10^3$  UFC/g para *Bacillus cereus* y ausencia de *Salmonella* sp en la muestra de 25g (Brasil, 2001).

Varios estudios muestran una alta tasa de brotes relacionados con *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* y *Salmonella* presentes en los alimentos preparados en las cocinas comerciales, cafeterías, panaderías, y entre muchos alimentos dulces que están involucrados, especialmente los que tienen cremas y rellenos en su composición, que favorecen el crecimiento bacteriano (Frantz, 2007; Peixoto, 2009).

Por lo tanto, el análisis microbiológico de dulces de confitería es esencial, ya que estos son una fuente importante de enfermedades para la población, sobre todo cuando las condiciones higiénico-sanitarias no están adecuadas. Además, el análisis microbiológico ayuda a identificar si las Buenas Prácticas de Fabricación se están cumpliendo en el lugar, y una de sus funciones es proteger la salud de los consumidores (Souza, 2012).

El objetivo de este trabajo fue evaluar la calidad microbiológica de dulces de confitería comercializados en diversas confiterías del Cascavel, Paraná, Brasil.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

De agosto 2013 a julio 2014, se recogieron 30 muestras de dulces que se venden en muchas panaderías en la ciudad de Cascavel, Paraná, Brasil. Las muestras fueron transportadas en sus embalajes originales y bajo-enfriamiento al Laboratorio de Control Microbiológico de Agua, Alimentos y Medicamentos de la Universidad Estadual del Oeste de Paraná (Unioeste), Campus de Cascavel.

Se realizaron análisis microbiológicos de Cuenta de Coliformes Totales y Coliformes Termotolerantes (Coliformes a 45 °C), Cuenta de Estafilococos coagulase positiva, Cuenta de *Bacillus cereus* e Investigación de *Salmonella* sp., de acuerdo con la metodología establecida por el MAPA (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Abastecimiento) (Brasil, 2003).

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos para el recuento de Coliformes Totales y Termotolerantes, el recuento e identificación de Estafilococos coagulase positiva, cuenta e identificación de *Bacillus cereus* y *Salmonella* sp se pueden ver en la Tabla 1.

De 30 muestras, 16 (53,33 %) presentaron Coliformes Totales y ninguna ha presentado Coliformes Termotolerantes. Para Coliformes Termotolerantes la legislación establece un límite de  $10^2$  NMP/g, lo que indica que las muestras están dentro de valores determinados, es decir, el índice de Coliformes Termotolerantes que se encontró fue  $<3.0$  NMP/g de muestra. Para Coliformes Totales RDC n.º 12 (BRASIL, 2001) no establece un índice máximo, sin embargo, una cuenta alta de ese microorganismo indica malas condiciones de higiene durante la manipulación de alimentos como se observa en tres muestras, donde el índice de Coliformes Totales encontrado fue  $> 1100$  NMP/g de alimento.

Monastier *et al.* (2013) evaluaron la calidad microbiológica de los pasteles de crema que se venden en la ciudad de Curitiba, Paraná, Brasil. A partir de la colección de 14 muestras fue posible observar la presencia de coliformes totales en 5 (35,7%), con cuentas variando entre  $10^2$  CFU/g y  $> 10^4$  UFC/g. La presencia de esos microorganismos no indica necesariamente la ocurrencia de enteropatógenos, sino condiciones higiénicas inadecuadas del producto durante el proceso de fabricación o la contaminación después de su procesamiento (Franz, 2007).

En cuanto a los Estafilococos Coagulase Positiva, nueve (30%) muestras estaban inadecuadas para el consumo por exceder de los límites establecidos por la legislación que es de  $10^3$  UFC/g de alimento (Brasil, 2001). Además, tres muestras presentaron cuenta de microorganismo superior a  $10^5$  UFC/g de alimentos, cantidad necesaria para que la toxina sea formada en niveles capaces de causar la intoxicación estafilocócica (Franco; Landgraf, 2008) y, así, estas muestras presentan un gran riesgo para los consumidores. La presencia en los alimentos de este

microorganismo se puede interpretar como un indicador de la contaminación de la piel, la boca y las fosas nasales de los manipuladores de alimentos, así como la limpieza y desinfección de materiales y equipos inadecuados. En general, alimentos que requieren una gran cantidad de manipulación durante su preparación y no mantenidos en refrigeración son una fuente potencial de intoxicación alimenticio por estafilocócica (Franco; Landgraf, 2002).

Silva *et al.* (2013) evaluaron la calidad microbiológica de dulces elaborados por las panaderías y confiterías de la región Depresión Fluminense (RJ). Se realizaron análisis de 40 muestras de pan dulce, a la base de crema, verificando la presencia de *Staphylococcus aureus* en siete (17,5 %) muestras, y tres (7,5 %) tenían cantidades de colonias superior de  $10^3$  UFC/g., máximo establecido por la ley.

La ausencia de *Bacillus cereus* en las 30 muestras analizadas condice con la literatura, ya que este microorganismo se encuentra en bajos niveles en los alimentos ( $< 10^2$  UFC/g) (PAIVA *et al.*, 2009). Sin embargo, la presencia de este microorganismo se puede producir y generar problemas económico y sociales debido a posibilidades de brote, como se observa en el estudio realizado por Gomes *et al.* (2004), en el que se investigó la presencia de *Bacillus cereus* en muestras de dulces industrializados comercializados por ambulantes en las ciudades de Seropédica e Itaguaí, en el Estado de Río de Janeiro. Se analizaron 200 muestras de dulces, siendo 90 de calabaza y 110 calabaza de maní. Como resultado, 10 (11,11 %) dulces de calabaza y 30 (27.27 %) de maní fueron positivos para microorganismo en relación con el total de cada dulce analizado.

La ausencia de *Salmonella* sp. es de suma importancia, ya que la frecuencia con la que este patógeno se asocia a enfermedades transmitidas por alimentos es alta. Debido a que es un microorganismo que se adapta fácilmente fuera del huésped, su dispersión en el medio ambiente se facilita. El grado de virulencia puede variar, así como el estado de la infección de persona a persona, y puede ser subclínica o incluso fulminante (Alves, 2012).

## 5. CONCLUSIONES

Se concluye que, de conformidad con la Resolución n.º 12 de 02 de Enero de 2001, los resultados en el análisis de los dulces de confitería están dentro de los límites establecidos con relación a Coliformes Termotolerantes y *Bacillus cereus*. Sin em-

bargo, de las 30 muestras analizadas, 9 (30 %) estaban impropias para el consumo por presentar *Estafilococos Coagulase Positiva* en conflicto con la legislación.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, A. R. F. Doenças alimentares de origem bacteriana. 2012. 73f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Fernando Pessoa, Portugal. 2012. Disponible en: <<http://bdigital.ufp.pt/>>. Acceso en: 31 Jul. 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para o controle de produtos de origem animal e água: Instrução Normativa 62, de 26 de agosto de 2003. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2003. Disponible en <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br>>. Acceso en: 31 Jul. 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. Resolução nº 12 de 02 de Janeiro de 2001. Brasília: Ministério da Saúde, 2001. Disponibil en: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acceso en: 31 Jul. 2014.

BRASIL, Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos – CNNPA, n.º 12 de 24 de Julho de 1978. Normas Técnicas Especiais, do Estado de São Paulo, revistas pela CNNPA, relativas a alimentos (e bebidas), para efeito em todo o território brasileiro. Disponible en: <<http://portal.anvisa.gov.br>> Acceso en: 18 de abril de 2013.

CASALINI, J.; Steurer, F.; Rodrigues, A. O.; Pacheco, D. O.; Pereira, G. W.; Paz, M. F.; Nogueira, M. B.; Ferreira, P. B.; Hallal, S. L. M.; Borges, C. D.; Machado, M. R. G., Qualidade higiênico-sanitária de doces de confeitaria comercializados no Campus da UFPel – RS, XVII CIC (Congresso de Iniciação Científica), UFPel, Pelotas, 2008.

CAVALCANTI, S. O. Avaliação bacteriológica de tortas doces comercializadas em feiras especiais da cidade de Goiânia. 2006. 101f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia. 2006.

FAUSTINO, J. S.; Passos, E. C.; Mello, A. R. P.; Araújo, A. L. M.; Souza, C. V.; Jorge, L. I. F.; Zamarioli, L.A. Análises microbiológicas de alimentos processados na Baixada Santista, envolvidos em doenças transmitidas por alimentos, no período de 2000 – 2006. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, São Paulo, v. 66, n. 1, p. 26–30, 2007.

FRANCO, B.D.G.M.; Landgraf, M. Microbiologia de Alimentos, São Paulo: Atheneu, 2008, 182 p.

FRANZ, C. B. *et al.* Análise dos Instrumentos de Controle de Produção em uma Amostra de Unidades de Alimentação e Nutrição de uma Empresa de Refeições Coletivas do Estado

- do Rio Grande do Sul. 2007. 73f. Trabalho de Conclusão de Curso – Bacharelado em Nutrição, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2007. Disponível em: < <http://www.ufrgs.br> >. Acesso em: 20 de abril de 2013.
- GOMES, L.P.; Rodrigues, M. M.; Soares, G.; Baroni, F. A.; Souza, M. M. S. *Bacillus cereus* em amostras de doces industrializados comercializados por ambulantes nos municípios de Seropédica e Itaguaí – RJ. *Rev. Univ. Rural, Sér. Ci. Vida. Seropédica*, Rio de Janeiro, v. 24, n.2, jul.- dez., p. 181-184, 2004.
- MONASTIER, R. A.; Benetti, T. M.; Abrahão, W. M. Avaliação da qualidade microbiológica de bolos cremosos comercializados em Curitiba, Paraná. *Cient. Ciênc. Biol. Saúde*, Curitiba, v. 15, p 8-343, 2013.
- PAIVA, E. P.; Fai, A. E. C.; Soares, D. S.; Stamford, T. L. M. *Bacillus cereus* e suas toxinas em alimentos. *Rev. Hig. Alimentar*, Recife, v. 23, n. 170/171, mar./abr., 2009.
- PEIXOTO, D.; Weckwerh, P. H.; Simionato, E. M. R. S. Avaliação da qualidade microbiológica de produtos de confeitaria comercializados na cidade de Ribeirão Preto/SP. *Rev. Alim. Nutr.*, Araraquara, v. 20, n. 4, p. 611 – 615, out./dez., 2009.
- SILVA, E. P.; Silva, G. M.; Norberg, A. N.; Oliveira, J. T. M.; Santa helena, A. A.; Sanches, F. G.; Serra-freire, N. M. Análise qualitativa e quantitativa de produtos de confeitaria comercializados na região da baixada fluminense, estado do Rio de Janeiro, Brasil, quanto à poluição por *Staphylococcus aureus*. *Rev. Saúde Fís. Mental*, Rio de Janeiro, v. 3, n. 2, ago./dez., 2013.
- SOUZA, M. A. *Boas Práticas para Padarias e Confeitarias*. 2012. 53f. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2012.

## 7. TABLAS Y FIGURAS

**TABLA 1.** Resultados obtenidos en el período de agosto de 2013 a julio de 2014 para cuenta de Coliformes Totales y Termotolerantes, cuenta e identificación de *Estafilococos* coagulase positiva, cuenta e identificación de *Bacillus cereus* e investigación de *Salmonella* sp

| Muestra (25g) | Coliformes Totales (NMP/g) | Coliformes Termotolerantes (NMP/g) | Estafilococos Coagulase Positiva (UFC/g) | Bacillus cereus (UFC/g) | Salmonella sp (Ausente/ Presente/25g) |
|---------------|----------------------------|------------------------------------|--|-------------------------|---------------------------------------|
| 01            | 1.100                      | < 3,0                              | < 10 <sup>2</sup>                        | < 10 <sup>2</sup>       | Ausente                               |
| 02            | 150                        | < 3,0                              | < 10 <sup>2</sup>                        | < 10 <sup>2</sup>       | Ausente                               |
| 03            | < 3,0                      | < 3,0                              | 4,0.10 <sup>2</sup>                      | < 10 <sup>2</sup>       | Ausente                               |
| 04            | 93                         | < 3,0                              | 6,0.10 <sup>2</sup>                      | < 10 <sup>2</sup>       | Ausente                               |
| 05            | < 3,0                      | < 3,0                              | < 10 <sup>2</sup>                        | < 10 <sup>2</sup>       | Ausente                               |
| 06            | < 3,0                      | < 3,0                              | 1,4.10 <sup>5</sup>                      | < 10 <sup>2</sup>       | Ausente                               |
| 07            | 23                         | < 3,0                              | 2,2.10 <sup>3</sup>                      | < 10 <sup>2</sup>       | Ausente                               |
| 08            | 460                        | < 3,0                              | < 10 <sup>2</sup>                        | < 10 <sup>2</sup>       | Ausente                               |
| 09            | < 3,0                      | < 3,0                              | < 10 <sup>2</sup>                        | < 10 <sup>2</sup>       | Ausente                               |
| 10            | 3,6                        | < 3,0                              | 3,8.10 <sup>4</sup>                      | < 10 <sup>2</sup>       | Ausente                               |
| 11            | 38                         | < 3,0                              | 9,3.10 <sup>4</sup>                      | < 10 <sup>2</sup>       | Ausente                               |
| 12            | < 3,0                      | < 3,0                              | < 10 <sup>2</sup>                        | < 10 <sup>2</sup>       | Ausente                               |
| 13            | < 3,0                      | < 3,0                              | < 10 <sup>2</sup>                        | < 10 <sup>2</sup>       | Ausente                               |
| 14            | 3,6                        | < 3,0                              | < 10 <sup>2</sup>                        | < 10 <sup>2</sup>       | Ausente                               |
| 15            | > 1.100                    | < 3,0                              | < 10 <sup>2</sup>                        | < 10 <sup>2</sup>       | Ausente                               |
| 16            | > 1.100                    | < 3,0                              | 1,2.10 <sup>5</sup>                      | < 10 <sup>2</sup>       | Ausente                               |
| 17            | 3,6                        | < 3,0                              | 7,6.10 <sup>4</sup>                      | < 10 <sup>2</sup>       | Ausente                               |
| 18            | < 3,0                      | < 3,0                              | < 10 <sup>2</sup>                        | < 10 <sup>2</sup>       | Ausente                               |
| 19            | < 3,0                      | < 3,0                              | 3,0 10 <sup>2</sup>                      | < 10 <sup>2</sup>       | Ausente                               |
| 20            | < 3,0                      | < 3,0                              | 3,0 10 <sup>2</sup>                      | < 10 <sup>2</sup>       | Ausente                               |
| 21            | < 3,0                      | < 3,0                              | < 10 <sup>2</sup>                        | < 10 <sup>2</sup>       | Ausente                               |
| 22            | < 3,0                      | < 3,0                              | 1,9.10 <sup>3</sup>                      | < 10 <sup>2</sup>       | Ausente                               |
| 23            | 290                        | < 3,0                              | < 10 <sup>2</sup>                        | < 10 <sup>2</sup>       | Ausente                               |
| 24            | < 3,0                      | < 3,0                              | 1,2.10 <sup>5</sup>                      | < 10 <sup>2</sup>       | Ausente                               |
| 25            | < 3,0                      | < 3,0                              | < 10 <sup>2</sup>                        | < 10 <sup>2</sup>       | Ausente                               |
| 26            | < 3,0                      | < 3,0                              | < 10 <sup>2</sup>                        | < 10 <sup>2</sup>       | Ausente                               |
| 27            | > 1.100                    | < 3,0                              | < 10 <sup>2</sup>                        | < 10 <sup>2</sup>       | Ausente                               |
| 28            | 75                         | < 3,0                              | < 10 <sup>2</sup>                        | < 10 <sup>2</sup>       | Ausente                               |
| 29            | 240                        | < 3,0                              | 9,0.10 <sup>2</sup>                      | < 10 <sup>2</sup>       | Ausente                               |
| 30            | 3,6                        | < 3,0                              | 1,0.10 <sup>4</sup>                      | < 10 <sup>2</sup>       | Ausente                               |

# CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LECHE HUMANA PROCESADAS EN EL MUNICIPIO DE CASCAVEL, PARANÁ, BRASIL

Kamilla Zabotti<sup>1</sup>, Anelise Vieczorek<sup>2</sup>, Poliana Becker<sup>2</sup>, Luciana Oliveira de Fariña<sup>1</sup>, Fabiana André Falconi<sup>1</sup>

## 1. RESUMEN

Los recién nacidos poseen como principal alimento la leche humana (LH), que tiene características nutricionales e inmunológicas necesarias para su desarrollo. El “Banco de leche humana” (BLH) es un servicio especializado vinculado a un hospital de atención materna infantil lo cual fornece LH procesado para recién nacidos imposibilitados de mamar. Para garantizar la calidad de la leche ordeñada por donadoras, la Red Brasileira de “Bancos de Leche Humana” posee como uno de los controles de calidad de este alimento el análisis microbiológica de LH pasteurizada e indica LH inapropiada para el consumo de neonatales cuando verifica presencia de coliformes. El objetivo de ese trabajo fue verificar la calidad microbiológica, a través de la presencia de coliformes totales, de muestras de leche humana procesadas el en BLH del Hospital Universitario de la ciudad de Cascavel, Paraná, Brasil. En el periodo de julio a setiembre de 2013, fueron analizadas 2.245 muestras de leche humana. A través de los resultados, se observó un alto grado de contaminación de LH pasteurizada, pues 169 (7,52 %) se presentaron positivas. En el mes de Julio fueron positivas 8,33 % de las muestras; en Agosto 9,90 % y en Setiembre 4,47 %. Esos resultados pueden indicar pasteurización no adecuada y también condiciones insatisfactorias de higiene y manipulación de materiales usados en el proceso. La presencia de contaminantes en LH ocasiona reducción del valor biológico por la utilización de nutrientes de LH por los microorganismos presentes, haciéndolo im-

---

CONTACTO: Fabiana André Falconi [fafalconi@hotmail.com](mailto:fafalconi@hotmail.com)

1. Curso de Farmácia - Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE. Cascavel, Brasil.

2. Banco de Leite Humano- Hospital Universitário – UNIOESTE, Cascavel, Brasil .



propio para el consumo de neonatos, además de aumentar el riesgo de infecciones, disminución del peso ponderal y exposición del neonato a proteínas extrañas que pueden desencadenar reacciones alérgicas.

## 2. INTRODUCCIÓN

Los recién nacidos poseen como principal alimento la leche humana (LH), la cual contiene valores nutricionales e inmunológicos necesarios para su desarrollo, y, permite un vínculo afectivo entre la madre y el neonato. Por esta razón la Organización Mundial de la Salud recomienda la lactancia materna exclusiva hasta los seis primeros meses de vida y mantener hasta los dos años (Silva *et al.*, 2008).

Sin embargo, los recién nacidos bebés prematuros no carecen de fuerza para succionar la leche materna y por eso tienen que alimentarlos por otros métodos. Todavía hay el hecho de que algunas madres, por algún problema fisiológico o emocional, no consiguen producir leche. Por otro lado, puede provocar alergia a los recién nacidos la leche procedentes de animales. Por esta y otras causas, muchos niños son alimentados con leche lograda a través de bancos de leche humanos (BLH), producto de donación voluntaria de mujeres que tiene una larga producción. (SERafini *et al.*, 2003).

El banco de leche humano (BLH) es un servicio especializado asociado a un hospital de atención materna y/o infantil lo cual ofrece LH procesado para recién nacidos que no pueden absorber. Pero, el LH es un alimento rico en nutrientes, siendo un excelente medio de multiplicación de micro organismos, tanto patogénicos como deterioradores (Costa; Souza; Santos, 2004). La presencia de tales microorganismos puede estar relacionada con técnicas inapropiadas en el momento de extraer por donadoras del LH, como condiciones insatisfactorias de higiene y, haciendo un error en el transporte, dejándolo susceptible a las altas temperaturas, cooperando con el crecimiento de bacterias. Este crecimiento de bacteria en la leche produce acidificación y fermentación que puede llevar a disminución de los componentes nutricionales e inmunológicos debido a utilización de nutrientes de la leche por el micro biota contaminante y la disminuir de los elementos de defensa. (Silva *et al.*, 2008; Novak; Cordeiro, 2007).

Además, este alimento será para recién nacidos, que exhiben una vitalidad vulnerable. Por lo tanto, el proceso del LH necesita de un estricto control de calidad en todo

ciclo de producción. Para garantizar la calidad de la leche ordeñada por la donadoras, la red Brasileña de Banco de Leche Humano adopta la pasteurización como control de calidad, así se pone el producto a temperaturas que permite la eliminación de la flora natural y principalmente la eliminación total de la flora patogénica de la LH donado, con pérdidas mínimas en su composición fisicoquímica (Souza *et al.*, 2007). Otro control de calidad de este alimento es la análisis microbiológica de la LH pasteurizado lo cual indica la LH impropia para el consumo de neonatales cuando se verifica la presencia de coliformes totales. Cuando se descubre la presencia de coliformes se comprueba la deficiencia en las buenas prácticas de manipulación del alimento y, sugiere también una posible presencia de otros microorganismos de grandes patogenicidad que hacen parte del grupo de coliformes. (Novak, Almeida, 2002).

El objetivo de este trabajo fue confirmar la calidad microbiológica, a través de la presencia de Coliformes totales, de muestra de leche humano procesadas en el Banco de Leche del Hospital Universitario de la ciudad de Cascavel, Paraná, Brasil.

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

En el periodo de julio a septiembre de 2013, fueron analizadas 2.245 muestras de leche humana. Las muestras de leche humano ordeñado fueron obtenidas en frascos que tuvieron su colecta domiciliar, de donadoras que fueron orientadas cuando el proceso de colecta y el almacenamiento del alimento. Las muestras recibidas por el Banco de Leche Humano del Hospital Universitario de la Universidad Estadual del Oeste del Paraná fueron pasteurizadas y después dirigidas al laboratorio para análisis de presencia/ausencia de coliformes fecales. El análisis resulto por la inoculación de 4mls de LH pasteurizado en un medio líquido conteniendo 10 ml de caldo bile verde brillante lactosa 2 % preparada en la concentración 5 % y distribuidas en tubos de ensayo conteniendo todo de Durham al contrario. Después de la inoculación, los tubos fueron incubados a una temperatura de  $36^{\circ} \pm 1^{\circ} \text{C}$  por 48 horas. Fue observada la presencia o ausencia de formación de gas en los tubos de Durham, siendo este el teste Probable. A partir de los tubos positivos, sembrado con la ayuda de una alza bacteriología, en nuevos tubos de caldo bile brillante, con concentración de 4 % y, se incubo a  $36 \pm 1^{\circ} \text{C}$  por 48 horas, observando la presencia o ausencia de coliformes a través de formación de gas en los tubos de Durham, siendo este el teste Confirmatorio (Novak, Almeida, 2002).

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 1 presenta los resultados de análisis de coliformes totales en 2.245 muestras de leche humano pasteurizado, entre los meses de julio y septiembre de 2013.

En la Tabla 1, se puede observar los resultados encontrados en tres meses de análisis de leche humano pasteurizado. Se observa que la mayoría de la contaminación ocurrió en el mes de agosto, seguido de los meses de julio y septiembre. El total analizado, 169 muestras presentaron coliformes totales y, por eso, fueron consideradas inadecuadas para consumo. Este valor es considerado muy alto, una vez que toda leche humano considerado no apta para consumo debe ser rechazado. El examen utilizado para este experimento es propuesto por la Rede Nacional de Banco de Leche Humano, donde los resultados son expreso en la ausencia/presencia de coliformes y no cuantificado. Sin embargo, de acuerdo Novak e Almeida (2002), el simple hecho de la presencia de coliformes, lo que puede ser y en qué cantidad son, ya hace el alimento impropio para el consumo para bebés prematuros. Todavía, segundo los autores la detección de microorganismos coliformes en productos pasteurizados es una indicación de existencia de contaminación, en algún punto en el camino recorrido por el LH. En una investigación realizada en el Banco de Leche Humano de Sorocaba (SP), fueron analizadas 3.883 muestras cuando a presencia de coliformes totales. Los resultados indicaron que 2,6% de las muestras fueron rechazadas debido a presencia del microorganismo (Scarso *et al.*, 2006).

En otra observación realizado por el Banco de Leche Humano del Hospital de Clínicas de Uberlândia, fueron analizadas muestras antes y después de una acción educativa de orientación de las donadoras de leche. Antes de la acción educativa, 7,34% de las muestras fueron consideradas positivas cuando a presencia de microorganismos y después de 8,33% de las muestras. Conforma la investigación, los resultados no enseñaron diferencias significativas cuando comparado con los dos grupos en relación a análisis microbiológica. (Silva *et al.*, 2008).

En trabajo realizado en Lactario del Hospital de Clínicas (HC) de la Universidad Federal del Triângulo (UFTM) fueron analizadas 80 muestras de leche humana y los resultados apuntaron 7,5% de los casos de muestras contaminadas. El estudio también revelo la existencia de algunas muestras de leche humana distribuidas por el Lactario del HC de la UFTM con contaminación por microorganismos potencialmente patógenos, como *Staphylococcus* sp y de *Streptococcus* sp y *Escherichia*

*coli*. Los autores destacaron que la presencia de contaminación de leche, aunque eso no es aceptable, es difícil de tener una inspección, teniendo en cuenta que la leche es un medio de cultura excelente para bacterias y en temperatura ideal, su crecimiento es más rápido. Puntualizan también que con respecto a protocolos rígido, la contaminación de algunas muestras pone en destaque la necesidad de una atención en el control y cuidado higiénico-sanitario (Silveira *et al.*, 2012).

La gran contaminación encontrada se debe al hecho que a pesar de LHO contiene muchas sustancias protectoras, esto no garantiza seguridad contra contaminación y crecimiento bacteriano, siendo un vehículo de microorganismo patogénico. Para evitar esta contaminación debe ser establecida las condiciones para obtención de leche con buena calidad: el control higiénico-sanitario de la colecta y de la manipulación del producto y la almacenamiento en baja temperatura durante todas las etapas del proceso, hasta la pasteurización y almacenaje (Novak; Cordeiro, 2007).

## 5. CONCLUSIONES

De las 2.245 muestras analizadas, 169 presentaron coliformes totales, o sea 7,56% de las muestras estaban impropias para consumo de neonatos. La presencia de contaminantes en la leche humano, puede producir una reducción de su valor biológico, pues los microorganismos, utilizan el alimento como nutriente para su crecimiento. Además, puede aumentar el riesgo de infecciones, disminución de peso y la exposición del recién nacido a las proteínas raras que pueden producir reacciones alérgicas.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- COSTA, A.C.; Sousa, C.P.; Santos, L. F.. Caracterização microbiológica do leite humano processado em banco de leite de João Pessoa – PB. Revista Brasileira de Análises Clínicas, v. 36, n. 4, p. 225-229, 2004.
- CORDEIRO, D.M.B. Correlação entre população de microrganismos mesófilos aeróbios e acidez Dornic no leite humano ordenhado. Jornal de Pediatria, v. 83, n.1, 2007.
- SCARSO, I.S.; Valle, R.V.; Lira, B.B.; Texeira, E.P; Fonseca, Y.S K.; Arine, M.L.B.; Silva, R.P.; Dias, H.G.; Cândido, V.L.C.; Pacheco, M.A.S. R.; Santos, E.A. Análise físico-química e bacteriológica do leite cru e pasteurizado do Banco de Leite Humano de Sorocaba, SP. Revista Higiene Alimentar, v. 20, n. 142, p. 85-89, 2006.

- SERAFINI, A.B.; André, M.C.D.P.B; Rodrigues, M.A.V; Kipnis, A.; Carvalho, C.O.; Campos, R.H.; Monteiro, E.C.; Martins, F.; Jubé, T.F.N. Qualidade microbiológica de leite humano obtido em banco de leite. *Revista Saúde Pública*, v. 37, n.º 6, p. 775-779, 2003.
- SILVA, E.R.; ABDALLAH, V.O.S.; OLIVEIRA, A.M.M. Qualidade microbiológica do leite humano ordenhado no domicílio: Eficácia de uma ação educativa. *Anais em: 4ª Semana do Servidor e 5ª Semana Acadêmica. Universidade Federal de Uberlândia*. 2008.
- SILVEIRA, L.A.M.; Amorim, M.F.G.; Silva, V.R.D.; Terra, A.P.S. Controle microbiológico do leite humano de um Hospital Universitário. *Revista Baiana de Saúde Pública*, v.36, n.3, p.844-850, 2012.
- SOUZA, C.L.; Neves, E.C.A.; Lourenço, L.F.H.; Lucena, M.R.; Lins, R.T. Diagnóstico da condições higiênicas e microbiológicas do Banco de Leite Humano do Hospital Santa Casa de Misericórdia, na cidade de Belém, Estado do Pará. *Revista Alimentos e Nutrição*, v. 18, n.º 2, p. 13-40, 2007

## 7. TABLAS Y FIGURAS

**TABLA 1.** Resultados de los análisis de coliformes totales en 2.245 muestras de leche humano pasteurizado, entre los meses de julio y septiembre de 2013

| Muestras   | POSITIVAS       |               | NEGATIVAS       |               | TOTAL |
|------------|-----------------|---------------|-----------------|---------------|-------|
|            | n.º de muestras | % de muestras | n.º de muestras | % de muestras |       |
| Julio      | 64              | 8,33          | 704             | 91,66         | 768   |
| Agosto     | 71              | 9,9           | 646             | 90,1          | 717   |
| Septiembre | 34              | 4,47          | 726             | 95,53         | 760   |
| Total      | 169             | 7,56          | 2074            | 92,43         | 2245  |

# JAMS WITH IMPROVED ANTIOXIDANT PROPERTIES BY PARTIAL REPLACEMENT OF WHITE SUGAR BY NON-CENTRIFUGAL CANE SUGAR

Lourdes Cervera, Lucía Seguí, Cristina Barrera, Noelia Betoret, Pedro Fito

## 1. ABSTRACT

In spite of the search for non-caloric and non-cariogenic alternatives to sugar, white sugar continues to be a basic food, used in the formulation of a wide variety of foods worldwide. On the other hand sugarcane, which has been used in traditional medicine, is a product of increasing interest due to its nutraceutical properties attributed to its content in phenolic compounds. Depending on degree of refining, sugarcane derived products such as non-centrifugal sugar contain some of these components. The aim of the present work was to develop a functional jam by partially replacing white sugar for a non-centrifugal sugar: jaggery. Jams were manufactured with more fruit than usual (67 % w/w of strawberry or kiwi, vs. the usual 50 %), and different degree of sugar substitution (0, 15, 30, 45, 60 y 75 % w/w). Products were evaluated with regard to their physicochemical and antioxidant properties. Results indicated that sugar replacement did not have a remarkable impact on total soluble solids, moisture or water activity; however, there was an increase in pH when the non-refined sugar was used. Adding the non-centrifugal sugar to the formulation improved the antioxidant properties of the jams, evaluated in terms of total phenolic content, total flavonoid content, and antiradical activity by the DPPH and ABTS methods. The improvement was proportional to the amount of cane sugar incorporated to the formulation and it was more important in the case of kiwi fruit, since the control samples had less antioxidant properties in this case. As a conclusion, a healthier product is obtained by partially substituting white sugar for jaggery in the manufacture of kiwi and strawberry jams.

---

CONTACTO: Lucía Seguí [lusegil@upvnet.upv.es](mailto:lusegil@upvnet.upv.es)

Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo, Universitat Politècnica de València, Camino de Vera s/n, Valencia, España.

## 2. INTRODUCCIÓN

El azúcar blanco o sacarosa es un alimento consumido en todo el mundo, valorado por sus características organolépticas y por su capacidad de contribuir a la conservación de alimentos (Harish-Nayaka *et al.*, 2009; Payet *et al.*, 2005). Sin embargo, se considera un alimento muy pobre con respecto a su aporte nutricional, y su consumo excesivo se asocia desórdenes metabólicos y a un mayor riesgo de caries. A pesar de la búsqueda de alternativas acalóricas y anticariogénicas como los edulcorantes, el azúcar sigue siendo un alimento básico utilizado en la formulación de gran cantidad de alimentos. La sacarosa puede provenir de la remolacha azucarera o de la caña de azúcar, la cual se ha utilizado en medicina tradicional desde tiempos ancestrales, y ha despertado un creciente interés por sus propiedades nutraceuticas. Los efectos beneficiosos de la caña de azúcar y sus extractos se han comprobado *in vivo* en animales de laboratorio, habiendo demostrado protección frente a daño hepático, recuperación de la función intestinal, protección frente a infecciones víricas y bacterianas, efecto anti-trombótico y anti-estrés, estimulación del crecimiento y del sistema inmune, etc. (Koge *et al.*, 2001; Noa *et al.*, 2002; El-Abasy *et al.*, 2003, 2004; Amer *et al.*, 2004; Lo *et al.*, 2005; Molina *et al.*, 2005; Motobu *et al.*, 2006; Yamauchi *et al.*, 2006). Estos efectos beneficiosos se han asociado a una potente actividad antioxidante del material vegetal atribuible a compuestos fenólicos (principalmente flavonoides) presentes (Payet *et al.*, 2005). En función del grado de refinado, los productos comerciales derivados de caña de azúcar conservan estas propiedades en mayor o menor medida (Calabuig *et al.*, 2012), por lo que su utilización en sustitución del azúcar común en la formulación de alimentos ricos en azúcares podría suponer una mejoría de sus propiedades funcionales, y por lo tanto un aumento de su valor nutricional.

En concreto, el objetivo del presente trabajo fue el de elaborar una mermelada funcional a partir de la sustitución parcial del azúcar blanco por panela granulada, un tipo de azúcar no refinado elegido por sus características fisicoquímicas y propiedades antioxidantes (Seguí *et al.*, 2012), y evaluar cómo se ven afectadas las propiedades fisicoquímicas y antioxidantes de las mermeladas formuladas, en comparación con una mermelada control elaborada con azúcar blanco.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### MATERIAS PRIMAS

Las frutas empleadas para la elaboración de las mermeladas fueron fresón (*Fragaria x ananassa*) y kiwi (*Actinidia deliciosa* cv. Hayward), seleccionadas por su disponibilidad a lo largo del año y por su intenso color, susceptible de disimular el efecto de la sustitución, respectivamente. Como sustituto del azúcar común se escogió la panela granulada, por ser la alternativa de entre los azúcares no refinados comercializados en el mercado local con mayores propiedades antioxidantes y propiedades fisicoquímicas adecuadas (Seguí *et al.*, 2012; 2014). En comparación con la panela en bloque y desde el punto de vista del proceso industrial, el uso de panela granulada no requeriría grandes modificaciones técnicas en la línea de producción debido a su presentación en forma granulada, lo que facilitaría su dosificación. Por último, para conferir a las mermeladas una consistencia adecuada, se añadió pectina de manzana (Sigma Aldrich) en diferentes proporciones: un 1 % o un 2 % del peso total de las materias primas antes de su cocción, según se trate de mermeladas de kiwi o de fresa, respectivamente.

#### PROCESO DE ELABORACIÓN

Las mermeladas se elaboraron con el procesador de alimentos Thermomix (Vorwerk) empleando una relación 2:1 en peso de fruta y azúcar. La fruta, seleccionada en función del grado de madurez, se lavó, se eliminaron las partes no comestibles (pedúnculo en el caso de la fresa y piel en el caso del kiwi) y se trituró a velocidad 5 durante 20 segundos. A continuación, se incorporaron el azúcar (mezcla de azúcar blanco y panela granulada en diferentes porcentajes de reemplazo, desde un 0 % hasta un 75 % del total de azúcar) y la pectina. La mezcla se procesó a 100 °C durante 20 minutos a velocidad 2 y con el cubilete puesto para facilitar la evaporación parcial del agua. Finalmente, la mermelada se vertió en caliente en botes de vidrio previamente esterilizados que, una vez cerrados, se voltearon para asegurar la esterilización de la tapa y la formación de vacío dentro del envase. Transcurridos 5 min, los frascos se voltearon nuevamente y, una vez fríos, se almacenaron en oscuridad y a temperatura ambiente hasta su análisis.



## DETERMINACIONES ANALÍTICAS

Las mermeladas se caracterizaron fisicoquímicamente (humedad, sólidos solubles totales, pH y perfil de azúcares), y con respecto a sus propiedades antioxidantes (fenoles totales, flavonoides totales y capacidad antiradical).

La humedad de las muestras se calculó según el método gravimétrico de doble pesada (AOAC, 1980), mediante secado en estufa de vacío a 60 °C durante 7 días. El contenido en sólidos solubles totales se midió con un refractómetro termostata-do a 20 °C (Abbe Atago, NAR T3), mediante la lectura directa del índice de refrac-ción en °Brix. El pH se determinó con un pHmetro (Mettler Toledo Seven Easy) previamente calibrado con tampones de pH 7,0 y 4,0. El perfil de azúcares (glucosa, fructosa y sacarosa) se obtuvo a partir de diluciones acuosas 1:5000 (p/v) median-te cromatografía líquida de intercambio iónico (Metrohm mod. 716 Compact IC) con una columna Metrosep Carb y NaOH 0,1 M como eluyente. La interpretación y lectura de los cromatogramas se realizó con el programa ICnet 2.0 (Metrohm) y para la cuantificación se obtuvieron curvas de calibrado de patrones de glucosa, fructosa y sacarosa (Sigma-Aldrich) en el rango de 2,5 a 50 ppm.

El contenido en fenoles totales se determinó según el método de Folin–Ciocal-teu (Singleton *et al.*, 1999) sobre extractos acuosos de las mermeladas, obtenidos por dilución en agua bidestilada (1:10 p/v) y centrifugación a 13000 rpm durante 5 minutos. Se pipetearon 0,125 mL del sobrenadante y se añadieron a una cubeta de espectrofotómetro junto con 0,5 mL de agua bidestilada y 0,125 mL del reactivo Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich). Tras 6 minutos en oscuridad, se añadieron 1,25 mL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 7 % en agua bidestilada y 1 mL de agua bidestilada. Al cabo de 90 minutos de reposo en oscuridad, se midió la absorbancia a 760 nm (especto-fotómetro Helios Zeta UV/Vis Thermo scientific). Los resultados se expresaron en equivalentes de ácido gálico, para lo que se obtuvo una curva de calibrado en el rango de 0 a 500 mg Equivalentes de Acido Gálico/L (mg EAG/L). Los flavonoi-des totales se determinaron según el método colorimétrico del cloruro de aluminio (Luximon-Ramma *et al.*, 2005). Para ello, se diluyó cada muestra de mermelada en agua bidestilada (relación 1:25 p/v) y se centrifugó a 13000 rpm durante 5 minu-tos. Se hizo reaccionar 1,5 mL del sobrenadante con 1,5 mL de una disolución de AlCl<sub>3</sub>•3H<sub>2</sub>O al 2 % en metanol durante 90 minutos en oscuridad y se midió la ab-sorbancia a 337 nm con un espectofotómetro Helios Zeta UV/Vis Thermo scienti-

fic. Para la cuantificación se obtuvo la curva de calibrado de apigenina en el rango de 0 a 300 ppm.

La capacidad antioxidante se midió por el método del radical libre 2,2-Difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) (Brand-Williams *et al.*, 1995), y por el método de decoloración del ácido 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazoline-6-sulfónico (ABTS) (Re *et al.*, 1999). En el primer caso, las muestras se diluyeron en metanol-agua al 80 % (1:20 p/v) y se centrifugaron a 13000 rpm durante 5 minutos. Se hicieron reaccionar 100 µL del sobrenadante con 2,9 mL de una disolución de DPPH en metanol en una concentración de 0,024 g/L. Tras 120 minutos de reposo en oscuridad, se midió la absorbancia a 515 nm. Los resultados se expresaron en mg de DPPH reducido por g de mermelada, obtenidos a partir de una curva patrón de concentración de DPPH (0-20 ppm) frente a absorbancia a 515 nm. Para medir la capacidad antioxidante por el método del reactivo ABTS se prepararon diluciones de mermelada en agua destilada en una proporción 1:20 (p/v) para las mermeladas que contenían menor proporción de panela (0 y 15 % de reemplazo) y en una proporción 1:40 (p/v) para el resto de mermeladas. Las diluciones se centrifugaron a 13000 rpm durante 5 minutos. A continuación, se hicieron reaccionar 90 µL de sobrenadante con 2,91 mL de una disolución 7 mM de ABTS y 2,45 mM de persulfato potásico en tampón fosfato hasta absorbancia de 0,7 a 734 nm. Tras 30 minutos de reacción en oscuridad, se midió la absorbancia a 734 nm. Para la cuantificación se empleó trólox como antioxidante de referencia en el rango comprendido entre 0 y 1000 µM en tampón fosfato.

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se muestran los valores de humedad, Brix, actividad del agua y pH de las mermeladas de kiwi y fresa elaboradas con diferentes concentraciones de azúcar blanco y panela granulada. Como se puede observar, todas las mermeladas analizadas cumplieron con la legislación vigente (Real Decreto 670/1990) ya que la cantidad de fruta empleada para la fabricación de 1000 gramos resultó superior a 300 gramos y el contenido en materia seca soluble, determinado por refractometría, fue en todos los casos superior al 40 % e inferior al 60 %. Por lo que respecta al efecto del porcentaje de reemplazo, no se observó una correlación clara entre la cantidad de panela empleada y la concentración de agua y solutos. Sin embargo, los valores de pH experimentaron un aumento notable y proporcional a la cantidad de

azúcar blanco reemplazado por panela granulada. En cuanto a la actividad del agua, ésta pareció aumentar con la cantidad de panela incorporada en la formulación de la mermelada, pero no de forma tan clara y evidente como en el caso del pH.

En cuanto a los azúcares presentes en las mermeladas, en la Tabla 2 se muestran los gramos de sacarosa, fructosa y glucosa por cada gramo de azúcar total. Como se puede observar, el contenido en azúcares reductores (glucosa y fructosa) disminuyó notablemente al aumentar el porcentaje de sustitución de azúcar blanco por panela granulada, especialmente cuando se utilizó kiwi como fruta para elaborar las mermeladas. Este resultado, a priori anómalo puesto que la panela granulada contiene mayor cantidad de glucosa y fructosa que el azúcar blanco o común, puede ser explicado teniendo en cuenta que la sacarosa, en medio ácido, se hidroliza en fructosa y glucosa (Pinheiro-Torres *et al.*, 1993). Puesto que las mermeladas con mayor porcentaje de panela presentaron un pH mayor, la hidrólisis ácida de la sacarosa estaría menos favorecida en estos casos. De esta forma se podría explicar también el hecho de que las mermeladas con mayor porcentaje de reemplazo presentaran una mayor actividad del agua, ya que la glucosa y la fructosa tienen menor capacidad para deprimir la actividad del agua en comparación con la sacarosa (NordicSugar, 2014).

Los resultados de la caracterización funcional de las mermeladas se muestran en la Tabla 3. Los resultados obtenidos ponen de manifiesto que la adición de azúcar no refinado aumentó significativamente el contenido en compuestos fenólicos totales (incluidos los flavonoides) y, por consiguiente, la capacidad antioxidante de la mermelada. El efecto de la adición de panela granulada tuvo un efecto bastante más acusado en los productos elaborados a partir de kiwi, cuyo contenido en compuestos con capacidad antioxidante es naturalmente inferior al de la fresa (Rios de Souza *et al.*, 2014). Los principales compuestos antioxidantes están presentes en la fresa en forma de flavonoides y antocianos, que se detectan fácilmente por los métodos ABTS y DPPH. Cabe destacar que los valores obtenidos en este trabajo para las mermeladas control (las que se elaboran exclusivamente con azúcar blanco o común) resultaron similares a los obtenidos por otros autores (Wu *et al.*, 2000). Habiendo conseguido aumentar la capacidad antioxidante de una mermelada elaborada a partir de fresa, siendo una de las frutas con mayor capacidad antioxidante, parece que se podría generalizar este resultado para el resto de frutas, siendo necesaria una mayor atención para los frutos del bosque por su elevada capacidad antioxidante (Wu *et al.*, 2004).

## 5. CONCLUSIONES

Como conclusión del presente trabajo cabe destacar que se ha conseguido mejorar las propiedades antioxidantes de mermeladas de fresa y kiwi por sustitución parcial del azúcar por panela granulada. A pesar de que dicha mejoría depende de los antioxidantes presentes en la fruta y, en consecuencia, en las mermeladas, el método ha resultado válido en ambos casos, habiéndose constatado un incremento del contenido en fenoles y flavonoides y una mayor capacidad antirradical. En definitiva, se ha conseguido formular mermeladas con mejores propiedades funcionales, y por lo tanto más beneficiosas para la salud, al sustituir parcialmente el azúcar blanco por panela granulada.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRAND-WILLIAMS W., Cuvelier M.E., Berset C., (1995) Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebens.-Wiss.u.-Technol.*,28, 25-30.
- CALABUIG M. (2012) Evaluación de las propiedades fisicoquímicas y antioxidantes de azúcares comerciales de caña no refinados. Universidad Politécnica de Valencia.
- DUARTE-ALMEIDA, J.M., Vidal Novoa, A., Fallarero Linares, A., Lajolo, F.J. and Genovese, M.I. (2006). Antioxidant Activity of Phenolics Compounds From Sugar Cane (*Saccharum officinarum* L.) Juice. *Plant Foods for Human Nutrition* 61, 187–192.
- LO, D.Y., Chen, T.H., Chien, M.S., Koge, K., Hosono, A., Kaminogawa, S. and Lee, W.C. (2005). Effects of Sugar Cane Extract on the modulation of immunity in pigs. *Journal of Veterinary Medicine Sci.* 67(6). 591-597.
- MOTOBU, M., Amer, A., Koyama, Y., Hikosaka, K., Sameshima, T., Yamada, M., Nakamura, K., Koge, K., Kang, C.B., Hayasidani, H. and Hirota Y. (2006). Protective Effects of Sugar Cane Extract on Endotoxic Shock in Mice. *Phytotherapy research*, 20, 359–363.
- YAMAUCHI, K., Buwjoom, T., Koge, K. and Ebashi, T. (2006) Histological Intestinal Recovery in Chickens Refed Dietary Sugar Cane Extract. *Poultry Science* 85, 645–65.
- HARISH NAYAKA, M.A., Sathisha, U.V., Manohara, M.P., Chandrashekara, K.B. and Dharmesh, S.M. (2009) Cytoprotective and antioxidant activity studies of jaggery sugar. *Food Chemistry* 11, 113–118
- LUXIMON-RAMMA, A., Bahouran, T., Soobrattee, M. A., & Auroma, O. I. (2002). Antioxidant activities of phenolic, proanthocyanidin and flavonoid components in extracts of *Cassia fistula*. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 50, 5042–5047.

- MARTINEZ NAVARRETE N., Andrés Grau A.M., Chiralt Boix A., Fito Maupoey P. (2011) Termodinámica y cinética de sistemas alimento entorno. Editorial Universitat Politècnica de València. Pag. 151, ecuación 5.15.
- MOLINA V., Noa M, Arruzazabala L, Carbajal D, Mas R (2005) Effect of D-003, a mixture of very-long-chain aliphatic acids purified from sugarcane wax, on cerebral ischemia in Mongolian gerbils. *J Med Food* 8(4): 482–487.
- NOA M., Mendoza S, Mas R, Mendoza N (2002) Effect of D-003, a mixture of high molecular weight primary acids from sugar cane wax, on CL<sub>4</sub>C-induced liver acute injury in rats. *Drugs Exp Clin Res* 28(5): 177–183.
- KOGE, K., Yukie, N., Takeo, M., Mamoru, S. and Seiichi, A. (2001). Inhibitory Effects of Sugar Cane Extracts on Liver Injuries in Mice. *Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology*, 48 (4), 231-137.
- AMER, S., Naa K.J., El-Abasya, M., Motobua, M., Koyamaa, Y., Kogee, K. and Hirotaa, Y. (2004). Immunostimulating effects of sugar cane extract on X-ray radiation induced immunosuppression in the chicken. *International Immunopharmacology* 4, 71–77.
- NORDICSUGAR, (2014) The functional proprieties of sugar. Member of Nordzucker Group.
- PAYET B., Cheong AS, Smadja J (2005) Assessment of antioxidant activity of cane brown sugars by ABTS and DPPH radical scavenging assays: determination of their polyphenolic and volatile constituents. *J Agric Food Chem* 53: 10074–10079.
- PINHEIRO TORRES A., Oliveira F.A.R., Silva C.L.M, Fortuna S,P. (1993) The influence of pH on the kinetics os acid hydrilysis of sucrose. Escola Superior de Biotenologia R. Dr Antonio Bernardino de Almeida. P-4200 Porto, Portugal.
- RE R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. (1999) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, Vol. 26, Nos. 9/10, pp 1231-1237.1999.
- REAL DECRETO 670/1990. de 25 de mayo, por el que se aprueba la norma de calidad para confiruras, jaleas y marmalade di' /rUlas, crema de caslañas J' mermelada de/rUlas.
- RIOS DE SOUZA V., Pimenta Pereira P.A., Teodoro da Silva T. L., De Oliveira Lima L. C., Pio R., Queiroz F. (2014) Determination of the bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Brazilian blackberry, red raspberry, strawberry, blueberry and sweet cherry fruits. *Food Chem* 156 (2014) 362–368.
- EL-ABASY, M., Motobu, M., Nakamura, K., Koge, K., Onodera, T., Vainio, O., Toivanen, P. and Hirota, Y. (2004). Preventive and therapeutic effects of sugar cane extract on cyclophos-

phamide-induced immunosuppression in chickens. *International Immunopharmacology* 4 (2004) 983–990.

SEGUÍ, L., Calabuig, L., López, J.C. y Fito, P. (2013). Propiedades antioxidantes de los azúcares de caña no refinados. VII Congreso en Ciencia y Tecnología de los Alimentos. CyTA2013.

SEGUÍ, L., Barrera, C., Betoret, N. y Fito, P. (2014) Propiedades antioxidantes y antimicrobianas de productos derivados de la caña de azúcar y sus extractos. CIBIA IX (Congreso Iberoamericano de Ingeniería de Alimentos).

SINGLETON V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventós R.M., Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in enzymology*. Vol 299.1999.

WU X., Beecher G.R., Holden J.M., Haytowitz D.B., Gebhardt S.E., and Prior R.L. (2004) Lipophilic and Hydrophilic Antioxidant Capacities of Common Foods in the United States. *J. Agric. Food Chem.* 4026. 52, 4026-4037.

## 7. TABLAS Y FIGURAS

**TABLA 1.** Propiedades físico-químicas de las mermeladas de kiwi (K) y fresa (F) formuladas con diferentes porcentajes de azúcar de caña no refinado (desde 0 hasta un 75 % de reemplazo)

| MUESTRA | x <sup>w</sup> (g agua/g)  | a <sub>w</sub>             | BRIX                     | pH                          |
|---------|----------------------------|----------------------------|--------------------------|-----------------------------|
| K0      | 0,454 ± 0,003 <sup>c</sup> | 0,924 ± 0,003 <sup>c</sup> | 49,5 ± 0,2 <sup>b</sup>  | 3,58 ± 0,04 <sup>a</sup>    |
| K15     | 0,454 ± 0,001 <sup>c</sup> | 0,925 ± 0,003 <sup>c</sup> | 49,6 ± 0,2 <sup>b</sup>  | 3,61 ± 0,10 <sup>bc</sup>   |
| K30     | 0,425 ± 0,002 <sup>b</sup> | 0,913 ± 0,003 <sup>b</sup> | 52,3 ± 0,3 <sup>d</sup>  | 3,60 ± 0,02 <sup>a</sup>    |
| K45     | 0,399 ± 0,003 <sup>a</sup> | 0,910 ± 0,003 <sup>a</sup> | 54,6 ± 0,2 <sup>e</sup>  | 3,627 ± 0,012 <sup>ab</sup> |
| K60     | 0,45 ± 0,02 <sup>c</sup>   | 0,926 ± 0,003 <sup>c</sup> | 50,0 ± 0,3 <sup>c</sup>  | 3,69 ± 0,02 <sup>c</sup>    |
| K75     | 0,489 ± 0,006 <sup>d</sup> | 0,932 ± 0,003 <sup>d</sup> | 46,7 ± 0,1 <sup>a</sup>  | 3,75 ± 0,01 <sup>d</sup>    |
| F0      | 0,510 ± 0,005 <sup>c</sup> | 0,933 ± 0,004 <sup>a</sup> | 46,5 ± 0,6 <sup>cd</sup> | 3,453 ± 0,012 <sup>a</sup>  |
| F15     | 0,498 ± 0,003 <sup>b</sup> | 0,935 ± 0,003 <sup>a</sup> | 46,7 ± 0,1 <sup>d</sup>  | 3,56 ± 0,02 <sup>b</sup>    |
| F30     | 0,502 ± 0,003 <sup>b</sup> | 0,938 ± 0,003 <sup>b</sup> | 46,4 ± 0,3 <sup>cd</sup> | 3,62 ± 0,03 <sup>b</sup>    |
| F45     | 0,522 ± 0,003 <sup>d</sup> | 0,943 ± 0,003 <sup>c</sup> | 44,3 ± 0,1 <sup>a</sup>  | 3,70 ± 0,04 <sup>c</sup>    |
| F60     | 0,510 ± 0,008 <sup>c</sup> | 0,942 ± 0,003 <sup>c</sup> | 45,6 ± 0,5 <sup>b</sup>  | 3,76 ± 0,06 <sup>cd</sup>   |
| F75     | 0,490 ± 0,005 <sup>a</sup> | 0,941 ± 0,003 <sup>c</sup> | 46,0 ± 0,3 <sup>bc</sup> | 3,82 ± 0,05 <sup>d</sup>    |

<sup>a,b,c...</sup> Para cada tipo de fruta, letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas con un nivel de confianza del 95 %.

**TABLA 2.** Perfil de azúcares (g azúcar/g de azúcar total) de las mermeladas de kiwi (K) y fresa (F) formuladas con diferentes porcentajes de azúcar de caña no refinado (desde 0 hasta un 75 % de reemplazo)

| MUESTRA | GLUCOSA                       | FRUCTOSA                     | SACAROSA                     |
|---------|-------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| K0      | 0,1995 ± 0,0003 <sup>d</sup>  | 0,1907 ± 0,0008 <sup>c</sup> | 0,6098 ± 0,0004 <sup>a</sup> |
| K15     | 0,199 ± 0,002 <sup>d</sup>    | 0,182 ± 0,007 <sup>c</sup>   | 0,619 ± 0,005 <sup>b</sup>   |
| K30     | 0,171 ± 0,003 <sup>b</sup>    | 0,146 ± 0,003 <sup>b</sup>   | 0,6831 ± 0,0004 <sup>d</sup> |
| K45     | 0,1814 ± 0,0008 <sup>c</sup>  | 0,154 ± 0,004 <sup>b</sup>   | 0,665 ± 0,005 <sup>c</sup>   |
| K60     | 0,161 ± 0,004 <sup>a</sup>    | 0,1340 ± 0,0005 <sup>a</sup> | 0,705 ± 0,004 <sup>e</sup>   |
| K75     | 0,162 ± 0,004 <sup>a</sup>    | 0,133 ± 0,006 <sup>a</sup>   | 0,706 ± 0,002 <sup>e</sup>   |
| F0      | 0,126 ± 0,002 <sup>e</sup>    | 0,109 ± 0,003 <sup>b</sup>   | 0,7649 ± 0,0013 <sup>a</sup> |
| F15     | 0,108 ± 0,002 <sup>cd</sup>   | 0,098 ± 0,003 <sup>ab</sup>  | 0,7940 ± 0,0007 <sup>b</sup> |
| F30     | 0,111 ± 0,002 <sup>d</sup>    | 0,102 ± 0,010 <sup>ab</sup>  | 0,787 ± 0,010 <sup>bc</sup>  |
| F45     | 0,101 ± 0,003 <sup>a</sup>    | 0,087 ± 0,003 <sup>a</sup>   | 0,812 ± 0,006 <sup>cd</sup>  |
| F60     | 0,1006 ± 0,0012 <sup>ab</sup> | 0,088 ± 0,011 <sup>a</sup>   | 0,811 ± 0,010 <sup>d</sup>   |
| F75     | 0,105 ± 0,002 <sup>bc</sup>   | 0,087 ± 0,004 <sup>a</sup>   | 0,807 ± 0,002 <sup>d</sup>   |

<sup>a,b,c...</sup> Para cada tipo de fruta, letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas con un nivel de confianza del 95 %.

**TABLA 3.** Propiedades antioxidantes de las mermeladas de kiwi (K) y fresa (F) formuladas con diferentes porcentajes de azúcar de caña no refinado (desde 0 hasta un 75 % de reemplazo)

| MUESTRA | ABTS<br>(mg ET/g)        | DPPH<br>(mg DPPH <sub>red</sub> /g) | FENOLES<br>(mg EAG/g)      | FLAVONOIDES<br>(mg EAP/g)  |
|---------|--------------------------|-------------------------------------|----------------------------|----------------------------|
| K0      | 1,33 ± 0,06 <sup>a</sup> | 1,01 ± 0,06 <sup>a</sup>            | 0,430 ± 0,014 <sup>a</sup> | 0,137 ± 0,003 <sup>a</sup> |
| K15     | 1,72 ± 0,02 <sup>b</sup> | 1,71 ± 0,09 <sup>b</sup>            | 0,63 ± 0,04 <sup>b</sup>   | 0,44 ± 0,05 <sup>b</sup>   |
| K30     | 2,12 ± 0,07 <sup>c</sup> | 2,90 ± 0,11 <sup>c</sup>            | 0,93 ± 0,10 <sup>c</sup>   | 0,74 ± 0,02 <sup>c</sup>   |
| K45     | 2,64 ± 0,08 <sup>d</sup> | 3,7 ± 0,2 <sup>d</sup>              | 1,01 ± 0,08 <sup>cd</sup>  | 0,935 ± 0,008 <sup>d</sup> |
| K60     | 3,0 ± 0,2 <sup>e</sup>   | 4,4 ± 0,2 <sup>e</sup>              | 1,17 ± 0,10 <sup>d</sup>   | 1,148 ± 0,007 <sup>e</sup> |
| K75     | 3,19 ± 0,09 <sup>f</sup> | 4,2 ± 0,2 <sup>e</sup>              | 1,2 ± 0,2 <sup>d</sup>     | 1,439 ± 0,013 <sup>f</sup> |

| MUESTRA | ABTS<br>(mg ET/g)        | DPPH<br>(mg DPPH <sub>red</sub> /g) | FENOLES<br>(mg EAG/g)     | FLAVONOIDES<br>(mg EAP/g) |
|---------|--------------------------|-------------------------------------|---------------------------|---------------------------|
| F0      | 2,44 ± 0,05 <sup>a</sup> | 4,6 ± 0,2 <sup>ab</sup>             | 0,78 ± 0,06 <sup>a</sup>  | 0,43 ± 0,08 <sup>a</sup>  |
| F15     | 2,52 ± 0,02 <sup>b</sup> | 4,7 ± 0,2 <sup>ab</sup>             | 0,83 ± 0,10 <sup>ab</sup> | 0,54 ± 0,04 <sup>b</sup>  |
| F30     | 3,69 ± 0,03 <sup>c</sup> | 4,5 ± 0,3 <sup>a</sup>              | 0,90 ± 0,04 <sup>b</sup>  | 0,61 ± 0,03 <sup>b</sup>  |
| F45     | 3,71 ± 0,03 <sup>c</sup> | 4,69 ± 0,13 <sup>ab</sup>           | 1,07 ± 0,02 <sup>c</sup>  | 0,63 ± 0,02 <sup>b</sup>  |
| F60     | 3,79 ± 0,03 <sup>d</sup> | 4,94 ± 0,05 <sup>b</sup>            | 1,22 ± 0,03 <sup>d</sup>  | 0,78 ± 0,05 <sup>c</sup>  |
| F75     | 3,95 ± 0,03 <sup>e</sup> | 4,9 ± 0,4 <sup>b</sup>              | 1,30 ± 0,03 <sup>d</sup>  | 0,76 ± 0,13 <sup>c</sup>  |

<sup>a,b,c...</sup> Para cada tipo de fruta, letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas con un nivel de confianza del 95 %.





Universidad Nacional  
de **Entre Ríos**



UNIVERSITAT  
POLITÈCNICA  
DE VALÈNCIA



INSTITUTO DE INGENIERÍA DE  
ALIMENTOS PARA EL DESARROLLO

**KM4fi**

KNOWLEDGE MANAGEMENT  
FOR FOOD INNOVATION



Argentina



