

International Conference on Food Innovation

*food*Innova
2014

ARTÍCULOS

TOMO II

Jorge Amado Gerard

Pedro Fito Maupoey

(Editores)

Tercera edición | Third edition

20 al 23 de octubre de 2014 | 20th to 23rd october 2014

Concordia | Entre Ríos | Argentina



Universidad Nacional
de Entre Ríos

INTERNATIONAL CONFERENCE
ON FOOD INNOVATION
Food innova 2014

ARTÍCULOS

TOMO II

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 978-950-698-380-2

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 II 978-950-698-380-2

Directora de EDUNER: María Elena Lothringer

Coordinación de la edición: Gustavo Esteban Martínez

Corrección: Martín Maldonado

Maquetación: Gabriela Resett

Diseño gráfico: Hugo Espinosa

© Matta, Eliana; Tavera Quiroz, María José; Urriza, Marina; Bertola, Nor; Osuna, Mariana Beatriz; *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 INNOVATIONS

PREPARACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE PELÍCULAS DE METILCELULOSA CON JUGO DE CÁSCARA DE MANZANA VERDE	12
<i>Eliana Matta, María José Tavera-Quiroz, Marina Urriza, Nora Bertola</i>	
SUSTITUCIÓN DE LA GRASA ANIMAL POR ACEITES VEGETALES EN LAS FORMULACIONES DE PANES FUNCIONALES	22
<i>Mariana Beatriz Osuna, Ana María Romero, María Alicia Judis, Nora Bertola</i>	
ANÁLISIS SENSORIAL Y FÍSICOQUÍMICO DE BEBIDAS EN POLVO A BASE DE YERBA MATE (<i>ILEX PARAGUARIENSIS</i>) Y CASSIS (<i>RIBES NIGRUM</i>)	33
<i>Juliana Marcela Orjuela-Palacio, Damián Marino, María Clara Zamora, María Cecilia Lanari</i>	
CAMBIOS DURANTE EL ALMACENAMIENTO DE SALCHICHAS MAGRAS SALUDABLES. EFECTO DEL REEMPLAZO PARCIAL DE SODIO	43
<i>Lucas Marchetti, Silvina Andrés, Alicia Califano</i>	
COMBINACIONES DE ADITIVOS EN PANIFICADOS CON FÉCULA DE MANDIOCA Y SU EFECTO DURANTE EL ALMACENAMIENTO CONGELADO	55
<i>Laura Beatriz Milde, Paola Soledad Chigal, María de la Trinidad Liotta, Beatriz del Valle Argüello</i>	
REVALORIZACIÓN DE HORTALIZAS SUBUTILIZADAS: CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN DE HOJAS DE REMOLACHA Y SU POTENCIAL COMO FUENTE DE COMPUESTOS BENEFICIOSOS PARA LA SALUD	64
<i>María Verónica Fernández, Rosa Jagus, María Victoria Agüero</i>	
ANÁLISIS DE LA CALIDAD DE SNACKS OBTENIDOS A PARTIR DE MANZANAS VERDES E ISOMALT	76
<i>María José Tavera-Quiroz, Marina Urriza, Adriana Pinotti, Nora Bertola</i>	

<p>PRESERVACIÓN DE <i>LACTOBACILLUS DELBRUECKII</i> SUBSP. <i>BULGARICUS</i> Y <i>LACTOBACILLUS PLANTARUM</i> EN PELÍCULAS BIODEGRADABLES DE METILCELULOSA</p> <p><i>Nelson Romano, María José Tavera-Quiroz, Nora Bertola, Pablo Mobili, Adriana Pinotti, Andrea Gómez-Zavaglia</i></p>	86
<p>ANÁLISIS DE LAS EMULSIONES OBTENIDAS EN MEDIO ÁCIDO A PARTIR DE SOLUCIONES DE BETA-LACTOGLOBULINA GLICOSILADA CON GLUCOSA</p> <p><i>Griselda Ballerini, Luis Canna, Marta Ortega, Virginia Giordanengo</i></p>	97
<p>BREA GUM AS WALL MATERIAL FOR ENCAPSULATION OF HYDROPHOBIC COMPOUNDS OR CONTROLLED RELEASE APPLICATIONS</p> <p><i>Emiliano Buseghin, Virginia Castel, Andrea Piagentin, Carlos Carrara, Amelia Rubiolo</i></p>	107
<p>DESARROLLO DE UN PRODUCTO CÁRNICO INNOVADOR UTILIZANDO ALTA PRESIÓN HIDROSTÁTICA</p> <p><i>María Belén Gimenez, Natalia Gisel Graiver, Alicia Califano Noemí Elisabet Zaritzky</i></p>	117
<p>STUDY OF THE EFFECT OF pH ON COLOR OF FLAVORED SOLUTIONS OF <i>SPIRULINA</i> SPP.</p> <p><i>A. Catarina Correia, Pilar Morais, M. Helena Gomes, Carla Barbosa, Rita Pinheiro, Manuela Vaz Velho</i></p>	127
<p>EFFECTO ANTIMICROBIANO DE CITRAL EN SISTEMAS MODELO DE BEBIDAS FORMULADAS A BASE DE SUERO DE QUESO</p> <p><i>Valentín Cucagna, Sandra Lía Mugliaroli, Rosa Jagus</i></p>	133
<p>NEW INSIGHTS IN BREWER SPENT YEAST EXTRACT USED AS GEL STABILIZER IN COOKED HAM PRODUCTION</p> <p><i>Gastón Ignacio Pancrazio, Sara Cunha, Paula Guedes de Pinho, Isabel Maria Pinto Leite Viegas Oliveira Ferreira, Olívia Maria de Castro Pinho</i></p>	143
<p>VALOR NUTRICIONAL Y GRADO DE SATISFACCIÓN DE UN ALFAJOR FORMULADO CON PALTA</p> <p><i>María Sol Labadié, Alejandra Viele, Macarena Vigo, María Cristina Ciappini</i></p>	153
<p>EFFECTO DE CARACTERÍSTICAS ENOLÓGICAS Y VARIABLES DE PROCESO SOBRE PROPIEDADES TENSOACTIVAS DE ESPUMANTES DE NARANJA</p> <p><i>María Cristina Cayetano Arteaga, Andreína Stefani, Rodrigo González, María Mercedes Ferreyra, María del Carmen Schwab</i></p>	162
<p>PROPIEDADES DE ADSORCIÓN DE AGUA DE BEBIDAS EN POLVO A BASE DE YERBA MATE (<i>ILEX PARAGUARIENSIS</i>) Y CASSIS (<i>RIBES NIGRUM</i>)</p> <p><i>Juliana Marcela Orjuela-Palacio, María Clara Zamora, María Cecilia Lanari</i></p>	172

CARACTERÍSTICAS SENSORIALES Y FÍSICOQUÍMICAS DE UNA BEBIDA SALUDABLE EN POLVO, A BASE DE EXTRACTOS DE YERBA MATE (<i>ILEX PARAGUARIENSIS</i>) Y JUGO DE POMELO (<i>CITRUS PARADISI</i>)	181
<i>Juan Palacio-Díaz, Juliana Orjuela-Palacio, Damián Marino, Clara Zamora, Cecilia Lanari</i>	
DESARROLLO DE BOLSAS PARA COCCIÓN DE CARNES AL HORNO A PARTIR DE PELÍCULAS PROTEICAS DE SOJA Y GELATINA ACTIVADAS CON CURRY	191
<i>Luciana Di Giorgio, Pablo Rodrigo Salgado, Adriana Noemí Mauri</i>	
OBTENCIÓN DE VINAGRE A PARTIR DE HIGOS PRODUCIDOS EN LA ZONA CENTRAL DE SANTA FE	201
<i>Daniel Alberto Alsina, Isabel Nescier, Zulma Santini, Norberto Gariglio, Lisandro Lozano, Hugo Cives</i>	
DESARROLLO DE UN QUESO UNTABLE FUNCIONAL CON AGREGADO DE CHÍA	207
<i>Ma. Florencia Galván, Sandra M. S. Lazzaroni, Yanina L. Pavón, Natalia Bortolotto, Silvia C. Costa, Víctor Rozycki, Sergio D. Rozycki</i>	
BEET ROOT AS POTENTIAL INGREDIENT FOR FUNCTIONAL FOODS DEVELOPMENT	219
<i>Sonia Paula Fuertes, Alba Sofía Navarro</i>	
ELABORACIÓN DE GALLETITAS DULCES LIBRES DE GLUTEN CON HARINA DE <i>PACHYRHIZUS AHIPA</i>	229
<i>Fernanda Sacco, María Cecilia Doporto, Cecilia Dini, Sonia Z. Viña, María Alejandra García</i>	
OBTENCIÓN DE UN ALIMENTO POTENCIALMENTE PROBIÓTICO MEDIANTE FERMENTACIÓN LÁCTICA DE UN TUBÉRCULO ANDINO	239
<i>Ana Laura Mosso, Norma Sammán, Eugenia Jiménez, Manuel Lobo</i>	
PROPIEDADES FÍSICAS DE PELÍCULAS BIODEGRADABLES DE ALMIDÓN DE YUCA Y QUITOSANO OBTENIDAS POR MOLDEADO POR COMPRESIÓN	249
<i>Cristina Valencia-Sullca, Lorena Atarés, María Vargas, Amparo Chiralt</i>	
PHYSICAL PROPERTIES OF PEA STARCH AND PEA STARCH:CHITOSAN FILMS AS AFFECTED BY TANNIC ACID ADDITION	258
<i>Emma Talón, Kata T. Trifković, Chelo González-Martínez, María Vargas, Amparo Chiralt</i>	
FILMS COMESTIBLES DE WPC PARA EXTENDER LA VIDA ÚTIL DE GALLETITAS DULCES	265
<i>Juan Pablo Cecchini, María Julia Spotti, Carlos Osella, Viviana Guadalupe Milt, Carlos Carrara</i>	
CAMBIOS EN LAS PROPIEDADES FUNCIONALES DE QUESO TIPO MOZZARELLA ELABORADO CON LECHE TRATADA POR TERMOSONICACIÓN	272
<i>Mayra Guadalupe Pérez Mata, Irving Israel Ruiz López, Edith Corona Jiménez, Aurora Quintero Lira, Héctor Ruiz Espinosa</i>	

EFFECTOS DEL PRETRATAMIENTO DE TERMOSONICACIÓN EN LA ELABORACIÓN Y MADURACIÓN DE QUESO TIPO CHEDDAR	281
<i>Arianna Beatriz Gallegos Pineda, Irving Israel Ruiz López, María Lorena Luna Guevara, Jorge Weltri Chanes, Héctor Ruiz Espinosa</i>	
CALIDAD DE PANES ELABORADOS CON ALMIDÓN RESISTENTE	290
<i>Carlos Gabriel Arp, María Jimena Correa, Cristina Ferrero</i>	
PROPIEDADES REOLÓGICAS DE MERMELADAS DE NARANJA FORMULADAS CON EDULCORANTES SALUDABLES (TAGATOSA Y OLIGOFRUCTOSA)	301
<i>Susana R. Arraez, Sergio Sahuquillo, María Luisa Castelló, María Dolores Ortolá</i>	
ANÁLISIS DE LAS PROPIEDADES ÓPTICAS Y EVALUACIÓN SENSORIAL DE MERMELADAS DE NARANJA FORMULADAS CON EDULCORANTES SALUDABLES (TAGATOSA Y OLIGOFRUCTOSA)	312
<i>Susana R. Arraez, Sergio Sahuquillo, María Luisa Castelló, María Dolores Ortolá</i>	
PHYSICAL AND SENSORY PROPERTIES OF JAMS FORMULATED WITH NON REFINED CANE SUGAR	320
<i>Lourdes Cervera, Lucía Seguí, Cristina Barrera, Noelia Betoret, Pedro Fito</i>	
EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE ENZIMAS PROTEOLÍTICAS OBTENIDAS A PARTIR DE SUBPRODUCTOS PESQUEROS	331
<i>Daniela L. Lamas, María I. Yeannes, Agueda E. Massa</i>	
PRODUCCIÓN DE METABOLITOS DEL CACAO POR MÉTODOS BIOTECNOLÓGICOS	341
<i>Luisa Fernanda Rojas, María Isabel Restrepo, Carolina Flórez, Adriana Gallego, Rigoberto Ríos, Lucía Atehortúa</i>	
PROPIEDADES FÍSICAS Y MECÁNICAS DE CEREZAS DESHIDRATADAS Y PRETRATADAS MEDIANTE DESHIDRATACIÓN OSMÓTICA	352
<i>Lorena Franceschinis, Casandra Rojas, Natalia Sosa, Daniela Salvatori, Carolina Schebor</i>	
PROPIEDADES BARRERA AL VAPOR DE AGUA DE PELÍCULAS BIODEGRADABLES. INFLUENCIA DEL TIPO DE POLÍMERO Y TENSOACTIVO	362
<i>Anna Marín, Lorena Atarés, Amparo Chiralt, Maite Cháfer</i>	
RHEOLOGICAL, TEXTURE AND NUTRITIONAL PROPERTIES OF GLUTEN-FREE PUFF PASTRY ENRICHED WITH BEAN, CHICKPEA OR BUCKWHEAT FLOURS WITH DIFFERENT HYDROCOLLOIDS	372
<i>Cláudia Silva, Rita Pinheiro</i>	
EFFECT OF DIFFERENT MODIFIED STARCHES ON THE PROPERTIES OF A GLUTEN-FREE BREAD MIX	382
<i>Núria Reis, Rita Pinheiro</i>	

EVALUACIÓN COMO ADITIVO ALIMENTARIO DEL ACEITE ESENCIAL OBTENIDO DE LAUREL AGRONÓMICAMENTE ADAPTADO EN EL PARTIDO DE AZUL, BUENOS AIRES 391
Estefanía Lamique, Gastón Barreto, Liliana Tanoni, Guillermo Manrique

CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DE QUESOS SEMICOCIDOS ELABORADOS A PARTIR DE LECHE DE BÚFALA 399
Silvina Rebechi, Dante Baroni, Nora Sabbag, Mario Candiotti, Carlos Meinardi

PRODUCCIÓN DE QUESO FRESCO DE PASTA HILADA A PARTIR DE LECHE DE BÚFALA 410
Silvina Rebechi, Nora Sabbag, Mario Candiotti, Carlos Meinardi

CARACTERIZACIÓN SENSORIAL DE UN MEDALLÓN FUNCIONAL DE CARNE AVIAR REDUCIDO EN SODIO 420
María Beatriz Gómez, Rosa Ana Ábalos, María Brossard, Silvana Correa, Virginia Boari, María Clara Melchiori, Claudia Gallinger, Corina Bernigaud, Jorge Azcona, Bernardo Iglesias

PRODUCTION OF DEFATTED RICE BRAN VINEGAR 430
Catiussa Maiara Pazuch, Francieli Begnini Siepmann, Manoella Moura Monteiro de Jesus, Caroline Zabotti, Cristiane Canan, Eliane Colla

FOOD SAFETY INNOVATIONS

METODOLOGÍAS PARA LA EVALUACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE AMINAS BIÓGENAS POR CEPAS DE BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS 441
Daniela Silvana Gonzalez, Juan José De Jesús, Nancy Guadalupe Baraggio, Arturo Carlos Simonetta

FUNCTIONALITY OF CHITOSAN FOR INHIBITING ACRYLAMIDE FORMATION IN MODEL SYSTEMS 451
Mariola Sansano, Miriam Gimeno, Ana Heredia, Ana María Andrés

ESTABILIDAD Y MICROESTRUCTURA DE EMULSIONES ACUOSAS DE PECTINA Y CERAS DE GIRASOL 458
Mayra Chalapud, Erica Baumler, Amalia Antonia Carelli

EFEECTO DEL AGENTE ENCAPSULANTE SOBRE LAS PROPIEDADES FÍSICAS DE LAS EMULSIONES FORMADORAS DE PELÍCULAS QUE CONTIENEN ACEITE DE TOMILLO 468
Rosa Navarro, Carla Arancibia, Silvia Matiacevich

EFEECTO DE UNA ENTEROCINA, QUITOSANO Y LACTATO DE SODIO SOBRE EL CRECIMIENTO DE *Shewanella putrefaciens*: FORMULACIÓN DE MODELOS PREDICTIVOS 477
Laura Inés Schelegueda, Aldana Zalazar, María Fernanda Gliemmo, Marisol Vallejo, Emilio Rogelio Marguet, Carmen Adriana Campos

SAKACINA Q ADSORBIDA SOBRE TRIPA OVINA NATURAL
PARA LA BIOPRESERVACIÓN DE SALCHICHAS TIPO VIENA 486
Franco Rivas, Marcela Castro, Carmen Campos

PROGRAMACIÓN LINEAL PARA LA FORMULACIÓN DE UN PANIFICADO
DE ALTA ACEPTABILIDAD Y MÍNIMO COSTO 495
*María Dolores Jiménez, María Alejandra Giménez, Norma Beatriz Farfán,
Norma Cristina Sammán*

MODIFICACIÓN DEL PROCESO DE SALADO-MADURADO DE ANCHOÍTA
(*ENGRAULIS ANCHOITA*) COMO ESTRATEGIA PARA EVITAR EL PELIGRO ASOCIADO
A *ANISAKIS SIMPLEX* 506
Marina Czerner, María Isabel Yeannes

ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE GOMA ARÁBIGA FRENTE
A MICROORGANISMOS PSICRÓTROFOS EN LECHE 517
Virginia Gonzalez Estevez, María Laura Boiero, Mariana Angélica Montenegro

TECNOLOGÍA DE RECUBRIMIENTOS CON ACTIVIDAD PREVENTIVA
EN EL CONTROL DE *PENICILLIUM DIGITATUM* EN NARANJAS 526
*Gustavo Daniel Suárez, Lauro Rafael Bordenave, Delia Elisa Locaso,
Valeria Carina Bordagaray, Mario Pisonero*

LATEST TRENDS IN FOOD QUALITY EVALUATION

DETERMINACIÓN DE COLOR EN EL ESPACIO CIELAB A PARTIR
DE IMÁGENES DIGITALES 538
Sandro Goñi, Daniela Olivera, Viviana Salvadori

OMICS AS A USEFUL APPROACH TO GAIN INSIGHT
INTO THE POSTHARVEST PHYSIOLOGY OF CITRUS 547
*Alejandra S. Moreno, Valeria E. Perotti, Karina E. J. Trípodí, Florencio E. Podestá,
Mariángeles Cocco, Fernando Bello, Daniel Vázquez*

EVALUACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y MICROBIOLÓGICA DE MIEL DE ABEJAS
SIN AGUIJÓN DE LA PROVINCIA DEL CHACO, ARGENTINA 557
*Cecilia Alejandra Romero, Laura Alejandra Nuñez, Susana Beatriz Montenegro,
Oscar Alfredo Garro, Bertha Mabel Baldi Coronel*

OPTIMIZACIÓN DE LA CALIDAD DE HOJUELAS FRITAS DE POROTO
(*ERYTHRINA EDULIS*) UTILIZANDO VISIÓN COMPUTACIONAL Y LA FUNCIÓN
DE DESEABILIDAD 567
Raúl Siche, Erick Saldaña Villa, Wilson Manuel Castro Silipú

APLICACIÓN DEL MAPEO PROYECTIVO (NAPPING®) PARA
LA CARACTERIZACIÓN SENSORIAL DE ESPUMANTES DE NARANJA 576
*Andreina Stefani, M. Cristina Cayetano Arteaga, M. del Carmen Schvab,
M. Mercedes Ferreira, Laura Fariña, Eduardo Dellacassa, Gastón Ares*

CHARACTERIZATION OF FRUIT FROM THE *BUCHENAVIA TOMENTOSA* STATE
OF TOCANTIS, BRAZIL 583
*Bruno de Oliveira Garcia, Elisângela Elena Nunes Carvalho, Heloísa Helena de Siqueira Elias,
Telma Melo Brandão, Eduardo Valério de B. Vilas Boas*

CARACTERÍSTICAS REOLÓGICAS DE LOS QUESOS PRODUCIDOS
POR TAMBEROS QUESEROS DE LA PROVINCIA DE ENTRE RÍOS 589
*Adriana Gioco, Laura Gervasoni, Zandra Della Giustina, Francisco Etchevers,
Daniel Pérez, Mónica Vallecillo, Josefina Cruañes, Guillermo López, Elio Guerra*

AN APPROACH TO THE DETERMINATION AND QUANTIFICATION
OF SUGARS IN FRUITS BY IMPEDANCE SPECTROSCOPY 598
*Claudia Conesa Domínguez, Nicolás Laguarda Miró, Cristian Ariel Olguín Pinatti,
Edwin Loeff, Lucía Seguí Gil, Pedro Fito Maupoey*

FOOD CHAIN SUSTAINABILITY

APROVECHAMIENTO DE LOS DESECHOS DE LA INDUSTRIA PROCESADORA
DE CRUSTÁCEOS PARA LA OBTENCIÓN DE QUITOSANO
Y QUITOSANO RETICULADO 606
Jimena Bernadette Dima, Cynthia Sequeiros, Noemí Elisabet Zaritzky

LA HUELLA ECOLÓGICA EMERGÉTICA COMO HERRAMIENTA PARA VALORAR
LA SOSTENIBILIDAD DE UNA CADENA ALIMENTARIA:
CASO DEL ESPÁRRAGO PERUANO 621
Raúl Benito Siche Jara, Lía Ethel Velásquez Castillo, Feni Dalano Roosevelt Agostinho

PELÍCULAS PROTEICAS DE SOJA NANOREFORZADAS CON CELULOSA
MICROFIBRILADA EXTRAÍDA DE FIBRAS DE FORMIO 632
Cristian Matias Ortiz, Pablo Rodrigo Salgado, Alain Dufresne, Adriana Noemí Mauri

FOOD INNOVATION AND EDUCATION

FORMANDO EN COMPETENCIAS: EXPERIENCIAS DE ARTICULACIÓN
INTERCÁTEDRAS APLICADAS EN LA INGENIERÍA DE ALIMENTOS 641
María Cristina Cayetano Arteaga, Liliana M. Gerard, María Mercedes Ferreyra

INTERDISCIPLINARITY AT WORK: ENGINEERS AND LINGUIST JOIN EFFORTS
TO OPTIMIZE UNDERGRADUATE WRITTEN PRODUCTION 652
Alicia Noceti, Carlos Chiarella, Eduardo Erbetta

Food Innovations

A decorative graphic consisting of two thick, black, wavy lines that curve across the page, positioned below the title.

[Volver al índice](#)

PREPARACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE PELÍCULAS DE METILCELULOSA CON JUGO DE CÁSCARA DE MANZANA VERDE

Eliana Matta, María José Tavera-Quiroz, Marina Urriza, Nora Bertola

1. RESUMEN

La manzana ha sido identificada como una fuente importante de antioxidantes, principalmente compuestos fenólicos, siendo estos compuestos más abundantes en la cáscara que en la pulpa. En este trabajo se desarrollaron películas comestibles a base de metilcelulosa con la incorporación de jugo de cáscara de manzana verde (JCM) en diferentes concentraciones. Al jugo se le adicionó ácido cítrico en una concentración de 2 % (p/v) para controlar el pardeamiento. Para el desarrollo de las películas se utilizó metilcelulosa como material formador de la matriz en una concentración de 1.5 % (p/v) y se le agregaron distintas concentraciones (10, 20, 25 y 50 % v/v) de JCM para incorporar compuestos antioxidantes a la película comestible. Las películas fueron preparadas por moldeo y secado a 37 °C. Los espectros FTIR de las películas se registraron en un equipo Nicolet IS10 entre 4000 a 400 cm^{-1} . Dos tipos de ensayos de tracción se llevaron a cabo en un equipo DMA Q800, test de barrido de frecuencia entre -100 y 250 °C para la obtención de la temperatura de transición vítrea (T_g) y ensayos tensión-deformación para evaluar las propiedades mecánicas de las películas. Además se determinaron los valores de humedad, permeabilidad al vapor de agua, solubilidad y contenido de polifenoles totales por medio del método Folin-Ciocalteu. Los resultados indicaron que la incorporación de JCM provocó interacciones entre la metilcelulosa y el ácido cítrico contenido en el jugo. El contenido de polifenoles aumentó con la concentración de JCM, sin embargo las películas con 50 % de jugo fueron difíciles de desmoldar ya que resul-

CONTACTO: Nora Bertola bertolanora@gmail.com

Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecología de Alimentos (CIDCA), CONICET La Plata, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP, 47 y 116, La Plata (1900) Argentina.

taron gomosas. A partir de los ensayos de barrido de frecuencia en el DMA se observaron valores menores de Tg para las películas con JCM respecto a las películas control. Las películas a las cuales se le adicionó el jugo mostraron mayores valores de solubilidad en agua y humedad y una disminución de la permeabilidad al vapor de agua y el módulo elástico. A partir de los resultados obtenidos se seleccionó la formulación que contenía 20% de JCM como la más adecuada para la elaboración de las películas.

2. INTRODUCCIÓN

El concepto tradicional de envasado es preservar la calidad del alimento con un mínimo de interacción entre el producto y el envase. Sin embargo, en los últimos años, se han desarrollado una amplia variedad de envases donde se plantea la interacción con los alimentos para proporcionar efectos deseables (Sayanjali y col., 2011). La tecnología del envasado activo está dirigida a ampliar la vida útil del producto, manteniendo su calidad nutricional y sensorial, así como la seguridad microbiológica (Cha y Chinnan, 2004). La tecnología de los recubrimientos comestibles surge como una alternativa prometedora para mejorar la calidad y conservación de alimentos durante su procesado y/o almacenamiento. Los recubrimientos ofrecen la posibilidad de consumirse con el alimento, extienden su vida útil ya que retardan la migración de humedad y de lípidos, así como el transporte de solutos y aromas, mejoran las características organolépticas, nutricionales y las propiedades mecánicas del alimento. Además, conservan la textura y permiten incorporar nutrientes y/o aditivos (Kester y Fennema, 1986). La tendencia actual se centra en el desarrollo de recubrimientos y películas biodegradables con componentes bioactivos que permitan alargar la vida útil y mejorar la calidad de los productos retardando el deterioro de los alimentos. Teniendo en cuenta las preferencias de los consumidores por productos sin aditivos, estos componentes bioactivos deberán ser preferiblemente componentes naturales.

Las manzanas son una importante fuente de flavonoides diversos como los flavonoles, catequinas y procianidinas. Son una fuente importante de antioxidantes polifenólicos que son responsables de la mayor parte de la actividad antioxidante de la fruta. Dependiendo de la variedad, la concentración de polifenoles en la cáscara de manzana es a lo menos 3 veces superior a la presente en la pulpa de dicho fruto

(Karaman y col., 2012). Por lo tanto la cáscara de manzana, considerada como un desecho agro-industrial, constituye un recurso potencialmente aprovechable para la elaboración de extractos ricos en polifenoles destinados a ser utilizados como ingredientes funcionales.

El objetivo de este trabajo fue desarrollar películas comestibles a base de metilcelulosa con la incorporación de jugo de cáscara de manzana verde (JCM) en diferentes concentraciones con el propósito de otorgarle actividad antioxidante a dichas películas.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

PREPARACIÓN DE LAS PELÍCULAS

Se trabajó con manzanas *Granny Smith*, las cuales fueron lavadas y peladas. La cáscara se utilizó para obtener el jugo utilizando un extractor doméstico marca Philips. Al jugo se le adicionó ácido cítrico en una concentración de 2 % (p/v) para controlar el pardeamiento.

Para el desarrollo de las películas se utilizó, como material formador de la matriz, metilcelulosa A4M (Methocel, Dow Chemical Co, U.S.A) proporcionada por COLORCON S.A (Argentina) en una concentración de 1.5 % (p/v) y se le agregaron distintas concentraciones (10, 20 y 50 % v/v) de JCM para incorporar compuestos antioxidantes a la película comestible. Las películas fueron preparadas por moldeo y secado a 37 °C.

CARACTERIZACIÓN DE LAS PELÍCULAS

La determinación de los valores de humedad se realizó por el método de secado en estufa a 105 °C.

Los espectros FTIR de las películas se registraron en un equipo Nicolet IS10 entre 4000 a 400 cm^{-1} .

Dos tipos de ensayos de tracción se llevaron a cabo en un equipo DMA TA Instruments Q800. Las películas se cortaron con una geometría rectangular (30 mm de longitud y 6 mm de ancho). Se realizaron ensayos de barrido de frecuencia entre -100 y 250 °C para determinar la temperatura de transición vítrea (T_g) y ensayos de tensión-deformación para determinar las propiedades mecánicas de las diferentes películas. Las curvas tensión-deformación se obtuvieron con una rampa de fuer-

za a velocidad de deformación constante de 0.3 N/min hasta alcanzar una fuerza estática de 18 N.

La permeabilidad al vapor de agua se midió usando el método ASTM E96. Las películas se colocaron en celdas de permeabilidad de área conocida, las cuales contenían sílica gel y posteriormente fueron llevadas a recipientes acondicionados a una humedad relativa del 75 % a 20 °C. Luego de alcanzado el estado estacionario se registraron los cambios de peso. La tasa de transmisión de vapor de agua (WVTR, $\text{g s}^{-1} \text{m}^{-2}$) se calculó a partir de la pendiente de la recta obtenida de los cambios de peso en función del tiempo por regresión lineal; la permeancia ($\text{g Pa}^{-1} \text{s}^{-1} \text{m}^{-2}$) se determinó como la WVTR dividida por el gradiente de presión parcial del vapor a través de la película. La permeabilidad al vapor de agua (WVP) se calculó como el producto de los valores de permeancia y espesor de la película y se expresó como $\text{g Pa}^{-1} \text{s}^{-1} \text{m}^{-1}$.

El ensayo de solubilidad se llevó a cabo a través de la inmersión de piezas de igual dimensión de cada una de las películas, pesadas previamente, en agua destilada a 25 °C con agitación constante. Luego de transcurrido un tiempo de hidratación de 60 min, las películas se secaron sobre una superficie absorbente. El porcentaje de material soluble fue determinado por el método de secado en estufa a 105 °C, teniendo en cuenta el peso inicial de las muestras.

CONTENIDO DE AZÚCARES POR HPLC

Se utilizó un equipo HPLC Waters equipado con una columna C18 (Wat 045905, Irlanda). La determinación del contenido de azúcares (glucosa, fructosa, sacarosa) se realizó a partir del método de Dolenc y Stampar (1997). Se inyectaron 20 μl de cada uno de los extractos de las muestras a analizar en el detector de índice de refracción. Los resultados se expresaron en $\text{g}_{\text{gluc}}/100\text{g}_{\text{ss}}$.

DETERMINACIÓN CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL (TAC) Y CONTENIDO DE POLIFENOLES

Para la preparación del extracto se disolvió 1g de película en 50 ml de agua destilada. La capacidad antioxidante de los extractos se analizó por triplicado a través del método de DPPH (Sánchez-Moreno *et al.*, 1998). El contenido de polifenoles se obtuvo por el método de Folin-Ciocalteu (Singleton *et al.*, 1999) y los resultados se expresaron como $\text{mg}_{\text{ácido clorogenico}}/100\text{g}_{\text{ss}}$.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó un análisis de varianza (ANAVA) para evaluar el efecto de los factores analizados utilizando el programa Systat. Para los ensayos de comparación de medias se empleó el test de menor diferencia significativa (LSD) con $P > 0.05$.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las películas con 50 % de jugo de cáscara de manzana fueron difíciles de desmoldar ya que resultaron gomosas por lo que esta formulación fue descartada y no fue analizada. A medida que aumentó la concentración de JCM se observó un aumento en el contenido de azúcares en las películas obtenidas, mayoritariamente fructosa ($0.24\text{g/g}_{\text{película}}$). Las películas a las cuales se le adicionó el jugo mostraron menores valores de solubilidad en agua y mayores de humedad respecto de los valores obtenidos para las películas de MC (Tabla 1).

La técnica de FTIR se utilizó para observar las interacciones entre la metilcelulosa y los compuestos presentes en el jugo una vez obtenidas las películas. Cuando se mezclan dos componentes, las interacciones químicas se ven reflejadas por los cambios en los picos de los espectros característicos (Xu y col., 2005). En la Figura 1a se observan los espectros obtenidos en el rango de $1800\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$ para las muestras con distintos contenidos de JCM. Se observó la aparición de una banda alrededor de 1724 cm^{-1} . Esta banda es característica de los grupos carbonilos presentes en los ácidos carboxílicos y ésteres, como el caso del ácido cítrico (Tavera Quiroz y col., 2012). Este compuesto es agregado al jugo de cáscara de manzana para inhibir reacciones de pardeamiento y una vez en presencia del polímero puede actuar como un agente entrecruzante (Reddy, 2010). En la Figura 1b se observan los espectros de FTIR en el rango de menores longitudes de onda. La región de $1500\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$, se caracteriza porque absorben mayoritariamente los grupos CH y de $1200\text{-}900\text{ cm}^{-1}$ predominan las vibraciones de los grupos COC y OH. Las películas de metilcelulosa absorben fuertemente en esta región debido a la presencia del enlace glicosídico (COC). En los espectros obtenidos se observa la aparición de bandas en la zona de $800\text{-}700\text{ cm}^{-1}$ en las películas obtenidas a partir de metilcelulosa y jugo lo cual podría deberse a la presencia de azúcares en las muestras.

Como puede observarse en la Tabla 2, el contenido de polifenoles de las películas aumentó con la concentración de JCM al igual que la capacidad antioxidante. Si

bien resulta beneficiosa la incorporación de distintos aditivos en la formulación de los recubrimientos y películas, debe tenerse en cuenta que éstos pueden afectar sus propiedades funcionales, dependiendo de su concentración, estructura química, grado de interacción y de difusión en la película.

Después del proceso de secado, las curvas de $\tan \delta$ para películas de MC mostraron dos relajaciones, β y α (Figura 2). La relajación β en torno $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ es característica de la presencia de polisacáridos. Otros autores consideran esta relajación β en materiales hidrofílicos como una relajación de agua típica favorecida por la presencia de grupos hidroxilo (Fernández-Carretero *et al.*, 2010). El segundo pico o el máximo de la curva de $\tan \delta$ corresponde a la relajación α , a la cual se le atribuye la temperatura de transición vítrea (T_g). La incorporación de jugo en las muestras tuvo un efecto predominantemente plastificante. Esto se observa debido al corrimiento de la T_g hacia valores menores. Esto además se pudo correlacionar con el aumento del contenido de humedad en las muestras que tenían mayor contenido de jugo. A medida que aumentó el contenido de jugo la relajación β sufrió un desplazamiento hacia temperaturas más altas y también una mejor definición. Otros autores han encontrado comportamientos similares en películas de MC con agregado de azúcares como plastificantes (Tavera Quiroz y col., 2013; Romano y col., 2014).

Un papel importante de las películas comestibles es reducir el intercambio de agua entre el producto y el medio ambiente o entre ingredientes de un sistema alimenticio heterogéneo que por ejemplo tengan distintos contenidos de humedad que se quieran mantener inalterados durante el almacenamiento (Talens y col., 2012). En el presente estudio se observó una disminución en los valores de permeabilidad al vapor de agua (WVP) de las películas a las que se le adicionó una concentración de JCM de 10 y 20 % respecto a las películas sin JCM, mientras que las muestras con 25 % de JCM presentaron valores semejantes a las películas de metilcelulosa sin ningún agregado (Tabla 1). La permeabilidad de una película depende de su estructura química y la morfología, la naturaleza del permeante, y la temperatura del medio ambiente. La transferencia de vapor de agua se produce generalmente a través de la porción hidrófila de la película y depende de la relación hidrófilo-hidrófobo de los componentes de la película (Du y col., 2011). Diversas tipos de modificaciones químicas como el entrecruzamiento con ácidos orgánicos pueden reducir la hidrofiliidad. Por otra parte los azúcares presentes en el JCM

actúan como agentes plastificantes disminuyendo las fuerzas intermoleculares en las cadenas del polímero produciendo un descenso en las fuerzas de cohesión y por tanto, imparten movilidad molecular a la matriz, plastificándola. Como consecuencia, aumenta el volumen libre y disminuye la temperatura de transición vítrea, afectando significativamente sus propiedades mecánicas y de barrera al vapor de agua. La relación entre las concentraciones de ácido cítrico y plastificante (azúcares) resultaron ser, por lo tanto, un parámetro clave para determinar las propiedades funcionales de las películas analizadas.

Según Mancini *et al*, (1999) y Del Nobile y col. (2007) un modelo matemático capaz de describir toda la curva de tensión-deformación es:

$$\sigma_T (\varepsilon_T) = E_C \varepsilon_T \exp (\varepsilon_T K) \quad (1)$$

donde ε_T es la tensión verdadera y σ_T el esfuerzo verdadero, respectivamente, la E_c (MPa) es el módulo elástico (tangente a la curva tensión-deformación en el origen), K es una constante que permite ajustar el modelo. En la Tabla 1 se presentan los valores del módulo elástico y la elongación máxima obtenidos para todas las muestras ensayadas. Se observó que el valor de E_c disminuye significativamente con el aumento de la concentración de JCM mientras la elongación aumenta.

5. CONCLUSIONES

El agregado de 20 % de JCM permitió obtener una película de MC con buenas propiedades de barrera y actividad antioxidante. La formulación de películas comestibles con ingredientes no convencionales se convierte en una estrategia para utilizar subproductos agroindustriales que aporten nutrientes y permitan desarrollar nuevos tipos de coberturas para ser utilizadas en alimentos funcionales.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CHA, D. S., y Chinnan, M. S. (2004). Biopolymer based antimicrobial packaging. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44: 223-237.
- DOLENC, K.; Stampar, F. (1997). An investigation of the application and conditions of analyses of HPLC methods for determining sugars and organic acids in fruits. *Research Reports of Bio-*

- technical Faculty, University of Ljubljana, 69: 99–106.
- DU, W.-X.; Olsen, C.W.; Avena-Bustillos, R.J.; Friedman, M.; McHugh, T.H. (2011). Physical and antibacterial properties of edible films formulated with apple skin polyphenols. *Journal of Food Science*, 76 (2): 149-155.
- FERNANDEZ-CARRETERO, F. J.; Riande, E.; del Río, C.; Sanchez, F.; Acosta, J. L.; Compan, V. (2010). Preparation and characterization of hybrid membranes based on Nafion® using partially sulfonated inorganic fillers. *Journal of New Materials for Electrochemical Systems*, 13: 83–93.
- KARAMAN, S; Tütem, E; Baskan, K.S.; Apak, R. (2012) Comparison of antioxidant capacity and phenolic composition of peel and flesh of some apple varieties. *J Sci. Food Agric.*, 93: 867–875.
- KESTER, J.J., Fennema, O.R. (1986). Edible films and coatings: A review. *Food Technology*, 40: 47-59.
- DEL NOBILE, M.A.; Chill, S.; Mentana, A.; Baiano, A. (2007). Use of the generalized Maxwell model for describing the stress relaxation behavior of solid-like foods. *J. Food Eng.*, 78: 978–983.
- MANCINI, M.; Moresi, M.; Rancini, R. (1999). Mechanical properties of alginate gels: Empirical characterization. *J. Food Eng.*, 39: 369–378.
- REDDY, N. y, Yang, Y. (2010). Citric acid cross-linking of starch films. *Food Chemistry*, 118: 9
- ROMANO, N.; Tavera-Quiroz M.J.; Bertola, N.; Mobili, P.; Pinotti, A.; Gómez-Zavaglia. (2014). Edible methylcellulose-based films containing fructo-oligosaccharides as vehicles for lactic acid bacteria. *Food Research International*, 64: 560–566.
- SAYANJALI, S; Ghanbarzadeh, B; Ghiassifar, S. (2011). Evaluation of antimicrobial and physical properties of edible film based on carboxymethyl cellulose containing potassium sorbate on some mycotoxigenic *Aspergillus* species in fresh pistachios. *LWT - Food Science and Technology*, 44: 1133-1138.
- TAVERA QUIROZ, M.J.; Bertola, N.; Pinotti, A. (2012). Efecto del agregado de ácido cítrico como agente entrecruzante en películas a base de metilcelulosa. Actas de las IV Jornadas Internacionales sobre avances en la tecnología de películas y coberturas funcionales en alimentos. *Agrobioenvases 2012*.
- TAVERA-QUIROZ, M. J.; Lecot, J.; Bertola, N.; Pinotti, A. (2013). Stability of methylcellulose based films after being subjected to different conservation and processing temperatures. *Materials Science and Engineering: C*, 33: 2918–2925.
- TALENS, P.; Pérez-Masía, R.; Fabra, M.J.; Vargas, M.; Chiralt, A. (2012). Application of edible coatings to partially dehydrated pineapple for use in fruit–cereal products. *Journal of Food Engineering*, 112: 86–93
- XU, X. Y.; Kim, K. M.; Hanna, M. A.; Nag, D. (2005). Chitosan-starch composite film: prepara-

tion and characterization. *Industrial Crops and Products*, 21(2): 185-192.

7. TABLAS Y FIGURAS

TABLA 1. Variación de la humedad, solubilidad y permeabilidad al vapor de agua (WVP) de películas de Metilcelulosa (MC) con el agregado de jugo de cáscara de manzana verde (JCM)

Muestra	Humedad (%bs)	WVP ($\text{gPa}^{-1}\text{m}^{-1}\text{s}^{-1}$)	Solubilidad a 25 °C (%)	Módulo Elástico (E_c , MPa)	Elongación (%)
MC 1.5	10.19 (0.57)	8.67×10^{-11} (3.33×10^{-12})	93.81 (3.69)	3751.1 (37.63)	9.3 (3.83)
MC 1.5 + 10 % JCM	21.34 (1.84)	5.97×10^{-11} (1.04×10^{-11})	54.79 (13.18)	350.6 (20.06)	21.9 (6.04)
MC 1.5 + 20 % JCM	37.24 (1.57)	6.57×10^{-11} (2.16×10^{-13})	73.16 (8.21)	148.3 (9.13)	23.1 (7.23)
MC 1.5 + 25 % JCM	30.94 (3.09)	7.88×10^{-11} (2.38×10^{-12})	77.91 (3.50)	97.42 (19.60)	41.6 (7.87)

Entre paréntesis se presentan los valores de la desviación estándar.

TABLA 2. Actividad antioxidante de películas de metilcelulosa con agregado de jugo de cáscara de manzana

Película	DPPH (%I)	Contenido de polifenoles (mg ácido clorogénico/g película)
MC 1.5 % + 10 % JCM	17.32 (0.81)	3.96 (0.16)
MC 1.5 % + 20 % JCM	15.16 (1.62)	4.68 (0.81)
MC 1.5 % + 25 % JCM	22.30 (1.74)	5.88 (0.97)

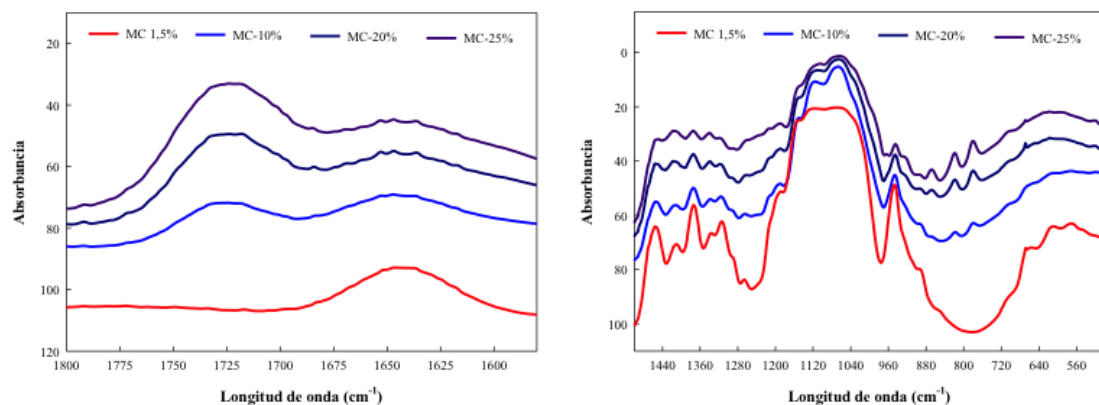


FIGURA 1. Espectros de FTIR de películas de Metilcelulosa al 1.5 % adicionadas con distintas concentraciones de jugo de cáscara de manzana verde

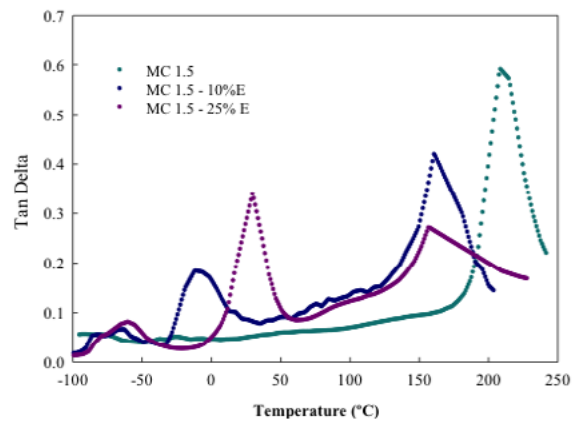


FIGURA 2. Tangente de delta en función de la temperatura para películas de Metilcelulosa con agregado de jugo de cáscara de manzana

SUSTITUCIÓN DE LA GRASA ANIMAL POR ACEITES VEGETALES EN LAS FORMULACIONES DE PANES FUNCIONALES

Mariana Beatriz Osuna^{1,3}, Ana María Romero¹, María Alicia Judis¹, Nora Bertola²

1. RESUMEN

Este trabajo tuvo por objetivo evaluar el efecto del reemplazo de la grasa vacuna (GV) por aceite de canola (AC) o de aceite de oliva (AO) sobre el perfil lipídico, las características tecnológicas, reológicas y de color de panes elaborados con mezclas de harinas. Para ello se llevaron a cabo dos formulaciones base, una con harina de trigo (HT) + harina de lino (HL) + salvado de trigo (ST) + GV, y otra con HT + HL + harina de soja (HS) + GV. Las restantes formulaciones se obtuvieron por el reemplazo total de la GV por los AO o AC, resultando en total seis combinaciones diferentes. El reemplazo de la GV por los aceites produjo en los panes diferencias significativas en el perfil lipídico ($p < 0.05$), incrementándose notablemente el contenido de ácidos grasos n9 y n6 cuando se utilizó AO, mientras que la adición de AC provocó el mayor aumento de ácidos grasos n3, dando una baja relación n6/n3 y una alta relación polinsaturados/saturados. Con respecto a las características tecnológicas, la adición de aceites a la mezcla HT+HL+ST afectó significativamente el volumen específico (VE), la relación ancho/largo (P/L) y la humedad de estos panes, siendo el reemplazo por AC el que produjo el pan con la más alta P/L y el menor VE. La humedad de la mayoría de las muestras estuvo por encima del 30 %, siendo la formulación HT+HL+ST+AO la de mayor contenido. También se presentaron cambios en el color (de la corteza y de la miga) y en la textura de los panes debido a la sustitución de la grasa, observándose la miga más clara y de mayor

CONTACTO: Nora Bertola bertolanora@gmail.com

1. Departamento de Ciencias Básicas y Aplicadas, Universidad Nacional del Chaco Austral, Chaco, Argentina.

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

3. Becaria del CONICET.

masticabilidad en la muestra con HT+HL+ST+AC y la corteza más oscura en la formulación HT+HL+HS+AO. Se pudo concluir entonces que las formulaciones de panes con altos contenidos de ácidos grasos n3 y n9, buen volumen y texturas similares a las formulaciones con GV fueron las combinaciones HT+HL+HS+AC y HT+HL+ST+AO.

2. INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas, los estudios sobre el papel de las grasas y aceites en la nutrición humana han hecho hincapié en la importancia de la ingesta de ácidos grasos (AG) de la familia n3, la reducción de los ácidos grasos saturados (AGS) y, más recientemente, el control de la ingesta de AG trans (Ascherio, Katan, Zock, Stampfer, & Willett, 1999). Funcionalmente, la grasa vacuna (GV) es uno de los ingredientes de mayor importancia en panificación por su influencia en el mezclado, manejo y fermentación de la masa, así como en el volumen del pan y las cualidades sensoriales del pan horneado (Baltasavias, Jurgens, & Van Vliet, 1999). La introducción de grasas bajas en colesterol, con bajo o nulo contenido de AG trans en Europa y EEUU fue a finales de los años `90. La importancia de este tipo de grasas en la formulación de los alimentos se debe a que su ingesta puede disminuir los niveles de lipoproteínas de baja densidad (LDL) en sangre y/o regular su relación con las lipoproteínas de alta densidad (HDL) (List, 2004). Si bien los efectos de la sustitución de grasas saturadas por aceites vegetales o mezclas de ellas, sobre las características tecnológicas, nutricionales y sensoriales de panes y/o productos panificados han sido recientemente abordados con el objeto de producir alimentos más saludables (Pavlovich-Abril, Salazar-García, Javier, & Moroyoqui, 2009; Santos Calderelli, Benassi, & Matioli, 2008) , pero aún existen escasas evidencias científicas de estos efectos al incorporar estos aceites (oliva o canola) a la matriz panaria. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del reemplazo de la GV por aceite de canola (AC) o de oliva (AO) sobre el perfil lipídico, las características tecnológicas, reológicas y de color de panes elaborados con mezclas de harinas.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

MATERIALES

Se utilizó harina de trigo para pan francés (HPF; Florencia®) que consiste en una mezcla de harina tipo 000 y 0000 con mejoradores, harina de soja entera (HS), harina de lino (HL) y salvado de trigo (ST). Aceite de canola (Alimentos Fundación Favarolo®), aceite de oliva extra virgen (Maza®), grasa vacuna (FRIAR®), levadura (Calsa®) y sal (Celusal®).

MÉTODOS

Elaboración de los panes

Se llevaron a cabo dos formulaciones base, una con harina de trigo (HT) + harina de lino (HL) + salvado de trigo (ST) + grasa vacuna (GV), y otra con HT + HL + harina de soja (HS) + GV. Las restantes formulaciones se obtuvieron por el reemplazo total de la GV por los aceite de oliva (AO) o de canola (AC), resultando en total seis combinaciones diferentes. En la Tabla 1 se puede observar las distintas formulaciones de los panes sustituidos con mezclas de harinas y distintos aceites. El proceso utilizado fue el método directo a escala laboratorio. La masa se mezcló y amasó a una consistencia óptima en una amasadora rápida (Zonda, Argentina) durante 7 minutos. Después de la fermentación, las piezas de masa (200 g) se hornearon a 180 °C durante 15 min en un horno eléctrico (ZONDA, Argentina), después de lo cual se retiraron de los moldes y se dejaron enfriar a temperatura ambiente durante 1 hora. A continuación se envasaron en bolsas de polietileno y se almacenaron a 25 °C durante 3 horas antes de su análisis.

Composición de ácidos grasos

La extracción de la grasa de las muestras se realizó usando el método de Bligh and Dyer (1959) y la composición de AG se determinó después de la metilación de los mismos de acuerdo con el método AOAC N ° 969.33, usando un cromatógrafo gaseoso Agilent (modelo 6850A HP, Agilent Technologies Inc, USA) equipado con una columna capilar de 100 m de largo y 0,25 mm de diámetro interno (Supelco 2560), detector FID, gas carrier He, utilizando como referencia los tiempos de retención relativos y factores de respuestas de los estándares comerciales Supelco

TM Component FAME Mix. Se expresaron los resultados como porcentaje de los ácidos grasos totales. Cada análisis se realizó por duplicado.

Características tecnológicas del pan

Los parámetros tecnológicos se llevaron a cabo de acuerdo con los métodos AOAC (1990) y AACC (2000). El contenido de humedad de los panes se determinó mediante la medición de su pérdida de peso a 130 °C hasta alcanzar un peso constante. Los resultados se expresan en $\text{g}_{\text{agua}} / 100 \text{ g}_{\text{sólido húmedo}}$. El volumen específico (VE) del pan se determinó por desplazamiento de semillas de lino y se calculó dividiendo el volumen de la hogaza por el peso (cm^3 / g). La medición de la relación ancho/alto (P/L) se realizó por el método informado por Lainez (2008), efectuando la medición directa de las dimensiones ancho y alto en la rebanada central (25 mm de espesor) de la pieza de pan recién horneada, utilizando un vernier.

Análisis de Perfil de Textura de la miga de pan

Se utilizó un Texturómetro (CT3 Brookfield) con un émbolo de penetración de 58 mm de diámetro a una velocidad de 0,5 mm/seg y una deformación máxima de 50 %. El centro de cada rodaja de pan se sometió a dos ciclos de compresión - descompresión para obtener la curva de TPA (Análisis de Perfil de Textura) a partir de la cual se obtuvieron los parámetros: dureza, elasticidad, adhesividad, cohesividad, masticabilidad y gomosidad.

Determinación de color de la corteza y miga de los panes

Se utilizó un Espectrofotómetro con esfera integradora para color Thermo Scientific. Las mediciones se realizaron según el método 14-22 (AACC Internacional, 2000). De cada ensayo se tomaron 3 panes, a los que se les efectuaron 3 mediciones de color en la corteza y en la miga informándose el valor promedio. Se utilizó el sistema Cie-Lab, que define cada color a partir de tres coordenadas denominadas L^* , a^* y b^* .

Análisis Estadístico

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para evaluar el efecto de los factores analizados utilizando el programa Infostat. Para los ensayos de comparación de medias se empleó el test de menor diferencia significativa (LSD) con $P > 0.05$.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS

En la Tabla 2 se puede observar la composición de ácidos grasos, contenido total y relaciones AGPI/AGS (ácidos grasos poliinsaturados/ácidos grasos saturados) y $n6/n3$ de los panes elaborados con mezclas de harinas y distintos aceites. La sustitución total de GV por aceites vegetales (canola u oliva) en las distintas formulaciones de pan produjo diferencias significativas en la composición de los AG respecto de la que no fue sustituida ($p < 0.05$). Este reemplazo, produjo una disminución de los AGS y un aumento porcentual relativo de los ácidos grasos monoinsaturados (AGMI) y de los poliinsaturados. El AC en las dos mezclas de harinas ensayadas fue el que produjo el mayor aumento en el contenido de $n3$, resultando una relación $n6/n3$ más baja y una relación AGPI/AGS más alta. El α -linolénico ($18:3n3$) fue el AG mayoritario de la familia $n3$, y aumentó en un 120 % para la formulación HT+HL+ST+AC, y en un 105 % para la formulación HT+HL+HS+AC. El AO produjo un incremento significativo en el contenido de los AG $n9$ y también de los ácidos grasos de la familia $n6$. Por lo tanto, provocó un pequeño aumento en las relaciones $n6/n3$ y AGPI/AGS. El AG oleico ($18:1n9$) fue el componente mayoritario de la familia $n9$ y la adición de AO produjo un incremento de aproximadamente el 63 % para las 2 formulaciones. El contenido de AG trans CLA ($18:2$) 9 c, 11 t se detectó sólo en las muestras con GV, y la presencia de éste AG conjugado es congruente con el origen de la misma, ya que es un componente característico de las grasas proveniente de los rumiantes. Estos resultados fueron consistentes con los reportados por Calderelli *et al.* (2008), quienes incrementaron el contenido de AGPI, AG $n6$ y $n3$ cuando sustituyeron la grasa hidrogenada por aceite de soja en la preparación de pan de linaza. Por otra parte, Simopoulos estudió la importancia de la proporción $n6/n3$ en las dietas occidentales y concluyó que los índices bajos (de 1 a 2) están asociados con la reducción del riesgo de varias enfermedades crónicas, tales como enfermedades cardiovasculares e inflamatorias y cáncer, por lo tanto, la relación $n6/n3$ se puede utilizar para evaluar la calidad nutricional de la fracción de lípidos de los alimentos. Los coeficientes calculados en este ensayo para las formulaciones con AC como con AO, concuerdan con los valores reportados por este investigador, por lo que su consumo podría contribuir a restablecer el equilibrio de los AG de la dieta.

CARACTERÍSTICAS TECNOLÓGICAS

En la Tabla 3 se presentan los valores de volumen específico, humedad y relación ancho/alto de los panes estudiados. El reemplazo de GV por aceites produjo diferencias significativas en el VE sólo en los panes con formulación HT+HL+ST+AC, los que presentaron el menor valor. Este comportamiento podría deberse a los efectos negativos que ejercería la presencia de fibra proveniente del salvado de trigo y el tipo de ácidos grasos del aceite de canola, lo que está de acuerdo con los estudios realizados por Wang, Rosell, & Benedito de Barber (2002), quienes informaron que un mayor contenido de fibra interfiere negativamente con la calidad tecnológica del pan, especialmente en la reducción del VE y con Smith & Johansson (2004) los que encontraron que la adición de aceite a un pan resultó en un menor aumento del volumen del mismo cuando se añadió la margarina probablemente debido a que los lípidos líquidos no logran estabilizar la película de lípido-proteína que rodea las celdas de gases. Además, Watanabe, Larsson, & Eliasson, 2002 y Watanabe, Yokomizo, & Eliasson, 2003 relacionaron la falta de mejoría del volumen del pan tras la adición de aceite líquido, a la naturaleza porosa de la red de gluten con celdas de gas de gran tamaño (más que en el pan control), el cual es inferior a las películas de gluten extensibles y delgados que están presente en la masa que contiene grasas saturadas. Estos autores afirman que el aceite líquido que se adsorbe a la estructura del gluten provoca la agregación del mismo.

La relación P/L y el contenido de humedad de los panes analizados también presentaron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre ellos. La formulación HT+HL+S-T+AC presentó la P/L más alta, dando un pan aplanado y de menor volumen que las demás muestras. El resto de la muestras presentaron relaciones P/L cercanas a sus formulaciones bases. Mientras que, el contenido de humedad de todas las formulaciones estuvieron dentro de lo establecido por reglamentaciones internacionales ($< 38\%$), siendo la de mayor contenido de humedad, la formulación HT+HL+ST-AO.

COLOR DE MIGA Y CORTEZA

En la Tabla 4 se pueden observar los parámetros de color. La adición de distintos aceites a los panes produjo cambios en el color de la corteza y miga. Sin embargo, la formulación HT+HL+HS+AO no presentó diferencias significativas en los parámetros de color de la miga, pero fue la que exhibió la corteza más oscura. Estos resultados no coinciden con Santos Calderelli *et al.*, (2008), quienes reportaron que

la sustitución de la grasa hidrogenada por aceite de soja no afectó los parámetros del color de la corteza.

ANÁLISIS DEL PERFIL DE TEXTURA DE LA MIGA

En la Tabla 5 se pueden observar los parámetros texturales. La sustitución total de GV por aceites vegetales, sólo produjo diferencias significativas ($p < 0.05$) en la dureza y masticabilidad de la muestra HT+HL+HS+AC, dando una miga menos dura y más masticable que el resto de las combinaciones, entendiéndose que el pan más masticable es aquel que presenta menor valor de masticabilidad ya que requiere desde el punto vista sensorial más tiempo de deglución en la boca antes de tragarlo (Hernández Ordoñez & Duran Osorio, 2012). Estos resultados concuerdan con Santos Calderelli *et al.* (2008), quienes encontraron que la dureza del pan de lino con grasa hidrogenada presentó diferencias significativas con el pan de lino con aceite de soja, presentando una textura más suave.

5. CONCLUSIONES

Se pudo concluir entonces que las formulaciones de panes con altos contenidos de ácidos grasos n3 y n9, buen volumen y texturas similares a las formulaciones con GV fueron las combinaciones HT+HL+HS+AC y HT+HL+ST+AO.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASCHERIO, A., Katan, M., Zock, P., Stampfer, M., & Willett, W. (1999). Trans Fatty Acids and Coronary Heart Disease. *New England Journal of Medicine*, 340(25), 1994–1998.
- BALTASAVIAS, A., Jurgens, A., & Van Vliet, T. (1999). Fracture proper ties of shor t-dough biscuits: Effect of composition. . 29: 235-244. *Journal of Cereal Science*, 29, 235–244.
- HERNÁNDEZ ORDOÑEZ, M., & Duran Osorio, D. (2012). Características reológicas del pan de agua producto autóctono de Pamplona (Norte de Santander) Rheological characteristics of the water pan indigenous product of Pamplona. *Bistua: Revistas de La Facultad de Ciencias Básicas*, 10(2), 61–74.
- LIST, G. (2004). Processing and reformulation for nutritional labeling of trans fatty acids. *Lipid Technology*, 16, 173–177.

- PAVLOVICH-ABRIL, A., Salazar-García, M., Cinco Moroyaqui, J., Ortega Ramirez, R., & Gomez Meza, N. (2009). Efectos de una mezcla de estearina de palma y aceite de canola sobre los parámetros reológicos de la masa de trigo y características del pan. *Interciencia*, 34(8), 577–582.
- SANTOS CALDERELLI, V., Benassi, M. de T., & Matioli, G. (2008). Substituição da gordura hidrogenada por óleo de soja na elaboração de pães de linhaça e avaliação da aceitabilidade. *Ciência E Tecnologia de Alimentos*, 28(3), 668–674.
- SIMOPOULOS, A. (2002). The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomedicine & Pharmacotherapy = Biomédecine & Pharmacothérapie*, 56(8), 365–79. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14579680>
- SMITH, P., & Johansson, J. (2004). Influences of the proportion of solid fat in a shortening on loaf volume and staling of bread. *Journal of Food Processing and Preservation*, 28, 359–367.
- WANG, J., Rosell, C., & Benedito de Barber, C. (2002). Effect of the addition of different fibres on wheat dough performance and bread quality. *Food Chemistry*, 79, 221–226.
- WATANABE, A., Larsson, H., & Eliasson, A. (2002). Effect of physical state of nonpolar lipids on rheology and microstructure of gluten-starch and wheat flour doughs. *Cereal Chemistry*, 79, 203–209.
- WATANABE, A., Yokomizo, K., & Eliasson, A. (2003). Effect of physical states of nonpolar lipids on rheology, ultracentrifugation, and microstructure of wheat flour dough. *Cereal Chemistry*, 80, 281–284.

7. TABLAS Y FIGURAS

TABLA 1: Formulaciones de los distintos panes elaborados con mezclas de harinas y distintos aceites

MUESTRAS	INGREDIENTES (G)									
	HARINAS				GRASAS			LEVADURA	SAL	AGUA
	HT	HL	HS	ST	GV	AC	AO			
HT+HL+ST+GV	968	16		16	40			40	20	530
HT+HL+ST+AC	968	16		16		40		40	20	530
HT+HL+ST+AO	968	16		16			40	40	20	530
HT+HL+HS+GV	976	16	8		40			40	20	530
HT+HL+HS+AC	976	16	8			40		40	20	530
HT+HL+HS+AO	976	16	8				40	40	20	530

Siendo HT (harina de trigo), HL (harina de lino), ST (salvado de trigo), HS (harina de soja), GV (grasa vacuna), AO (aceite de oliva), AC (aceite de canola)

TABLA 2. Composición de AG, contenido total y relaciones AGPI/AGS de panes elaborados con mezclas de harinas y aceites

Ácidos grasos	HT+HL+ST+GV	HT+HL+ST+AC	HT+HL+ST+AO	HT+HL+HS+GV	HT+HL+HS+AC	HT+HL+HS+AO
(14:0)	2,26±0,00 ^c	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	2,18±0,00 ^b	0±0,00 ^a	0±0,00 ^a
(14:1)	0,45±0,01 ^c	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,43±0,00 ^{a,b}	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a
(15:0)	0,52±0,02 ^{a,b}	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,52±0,03 ^{a,b}	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a
(16:0)	20,23±0,038 ^f	6,59±0,039 ^b	14±0,04 ^d	19,84±0,028 ^e	6,38±0,03 ^a	13,7±0,04 ^c
(16:1)	2,29±0,007 ^e	0,31±0,005 ^b	0,98±0,08 ^c	2,3±0,005 ^e	0,21±0,007 ^a	1,09±0,006 ^d
(17:0)	1,23±0,00 ^c	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	1,18±0,00 ^b	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a
(18:0)	16,16±0,005 ^f	2,31±0,004 ^b	2,57±0,005 ^d	16,09±0,004 ^e	2,14±0,005 ^a	2,4±0,006 ^c
(18:1) n9	29,21±0,081 ^a	42,42±0,09 ^d	47,55±0,07 ^e	29,58±0,057 ^b	42,14±0,08 ^c	48,45±0,09 ^f
(18:2 c) n6	14,78±0,008 ^b	23,19±0,07 ^e	22,29±0,009 ^d	14,41±0,006 ^a	24,19±0,008 ^f	21,03±0,06 ^c
(20:0)	0,88±0,015 ^a	1,78±0,01 ^d	1,18±0,014 ^c	0,92±0,011 ^b	1,77±0,015 ^d	1,16±0,016 ^c
(18:3) n3	10,47±0,01 ^a	22,95±0,015 ^f	11,23±0,015 ^c	11,02±0,01 ^b	22,68±0,02 ^e	12,18±0,011 ^d
CLA	0,58±0,00 ^b	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,61±0,00 ^c	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a
(20:3) n6	0,00±0,00 ^a	0,46±0,00 ^b	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,5±0,00 ^c	0,00±0,00 ^a
(20:4) n6	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,21±0,00 ^b	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a
ΣAGS	41,29±0,06 ^f	10,68±0,05 ^b	17,69±0,06 ^d	40,73±0,05 ^e	10,29±0,07 ^a	17,26±0,06 ^c
ΣMI	32,08±0,1 ^a	42,73±0,09 ^d	48,60±0,09 ^e	32,49±0,08 ^b	42,35±0,09 ^c	49,53±0,1 ^f
ΣAGPI	25,25±0,01 ^a	46,6±0,02 ^e	33,73±0,02 ^d	25,43±0,02 ^b	47,36±0,01 ^f	33,21±0,01 ^c
n3	10,47±0,01 ^a	22,95±0,05 ^e	11,22±0,02 ^c	11,02±0,01 ^b	22,68±0,02 ^f	12,18±0,01 ^d
n6	14,78±0,01 ^b	23,65±0,03 ^e	22,49±0,04 ^d	14,41±0,01 ^a	24,69±0,01 ^f	21,03±0,03 ^c
n9	29,21±0,08 ^a	42,42±0,1 ^d	47,55±0,07 ^e	29,58±0,07 ^b	42,14±0,06 ^c	48,45±0,09 ^f
n6/n3	1,41±0,003 ^d	1,03±0,0002 ^a	1,99±0,0017 ^f	1,31±0,0084 ^c	1,09±0,012 ^b	1,73±0,026 ^e
AGPI/AGS	0,61±0,01 ^a	4,36±0,02 ^e	1,9±0,01 ^c	0,62±0,0031 ^b	4,6±0,02 ^f	1,92±0,01 ^d

^{a,b,c,d} distintas letras indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre filas. Siendo HT (harina de trigo), HL (harina de lino), ST (salvado de trigo), HS (harina de soja), GV (grasa vacuna), AO (aceite de oliva), AC (aceite de canola)

TABLA 3. Características tecnológicas de panes realizados con mezclas de harinas y aceites

MUESTRAS	CARACTERÍSTICAS TECNOLÓGICAS		
	Volumen específico (cm ³ /g)	Relación P/L	Humedad (%)
HT+HL+ST+GV	4,41±0,24 ^b	1,17±0,01 ^b	29,52±0,25 ^c
HT+HL+ST+AC	3,74±0,09 ^a	1,55±0,02 ^d	28,99±0,09 ^{bc}
HT+HL+ST+AO	4,34±0,25 ^b	1,26±0,02 ^{bc}	30,73±0,2 ^d
HT+HL+HS+GV	4,19±0,09 ^{ab}	1,06±0,04 ^a	28,86±0,15 ^b
HT+HL+HS+AC	4,26±0,07 ^b	1,31±0,06 ^c	29,45±0,34 ^c
HT+HL+HS+AO	4,17±0,15 ^{ab}	1,19±0,04 ^b	27,45±0,09 ^a

^{a,b,c,d} distintas letras indican diferencias significativas ($p < 0,05$) en una misma columna. Siendo HT (harina de trigo), HL (harina de lino), ST (salvado de trigo), HS (harina de soja), GV (grasa vacuna), AO (aceite de oliva), AC (aceite de canola)

TABLA 4. Parámetros de color (L*, a* y b*) de panes realizados con mezclas de harinas y aceites

MUESTRAS	COLOR MIGA			COLOR CORTEZA		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*
HT+HL+ST+GV	60,63±0,64 ^a	3,83±0,12 ^{ab}	10,5±0,4 ^a	62,97±0,58 ^d	10,57±0,21 ^{ab}	21,5±0,35 ^b
HT+HL+ST+AC	67,2±1,08 ^{bc}	4,33±0,15 ^c	12,47±0,49 ^b	54,33±0,61 ^b	8,77±0,76 ^a	17,07±0,87 ^a
HT+HL+ST+AO	61,27±1,4 ^a	4,38±0,08 ^c	12,27±0,57 ^b	58,17±0,29 ^c	9,9±0,36 ^{ab}	18,6±0,17 ^a
HT+HL+HS+GV	69,07±0,57 ^{cd}	3,83±0,06 ^{ab}	11,63±0,21 ^b	64,67±0,84 ^e	11,83±0,21 ^b	24,93±0,15 ^c
HT+HL+HS+AC	64,93±0,71 ^b	3,63±0,06 ^a	11,8±0,17 ^b	59,4±0,26 ^c	11,43±1,52 ^{ab}	23,67±0,81 ^{bc}
HT+HL+HS+AO	69,97±0,15 ^d	3,97±0,06 ^b	11,97±0,23 ^b	51,37±0,6 ^a	11,1±1,95 ^{ab}	17,33±1,53 ^a

^{a,b,c,d} distintas letras indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

Siendo HT (harina de trigo), HL (harina de lino), ST (salvado de trigo), HS (harina de soja), GV (grasa vacu-
na), AO (aceite de oliva), AC (aceite de canola)

TABLA 5. Características texturales de panes elaborados con mezclas de harinas y distintos aceites

MUESTRAS	DUREZA	ADHESIVIDAD	COHESIVIDAD	ELASTICIDAD	MASTICABILIDAD
HT+HL+ST+GV	2,45±0,3 ^{ab}	0,06±0,05 ^a	0,47±0,02 ^a	9,23±0,64 ^a	10,72±0,32 ^a
HT+HL+ST+AC	3,05±0,31 ^b	0,07±0,05 ^a	0,49±0,02 ^{ab}	9,66±0,38 ^a	13,99±0,62 ^b
HT+HL+ST+AO	2,54±0,21 ^{ab}	0,07±0,05 ^a	0,49±0,02 ^{ab}	9,37±0,48 ^a	10,97±0,15 ^a
HT+HL+HS+GV	3±0,39 ^b	0,06±0,04 ^a	0,48±0,03 ^{ab}	9,95± ^a	14,36±0,39 ^b
HT+HL+HS+AC	2,18±0,28 ^a	0,06±0,04 ^a	0,46±0,03 ^a	10,06±0,57 ^a	10,78±0,74 ^a
HT+HL+HS+AO	2,64±0,38 ^{ab}	0,07±0,01 ^a	0,52±0,01 ^b	10,27±0,69 ^a	13,47±0,45 ^b

^{a,b,c,d} distintas letras indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

Siendo HT (harina de trigo), HL (harina de lino), ST (salvado de trigo), HS (harina de soja), GV (grasa vacuna), AO (aceite de oliva), AC (aceite de canola)

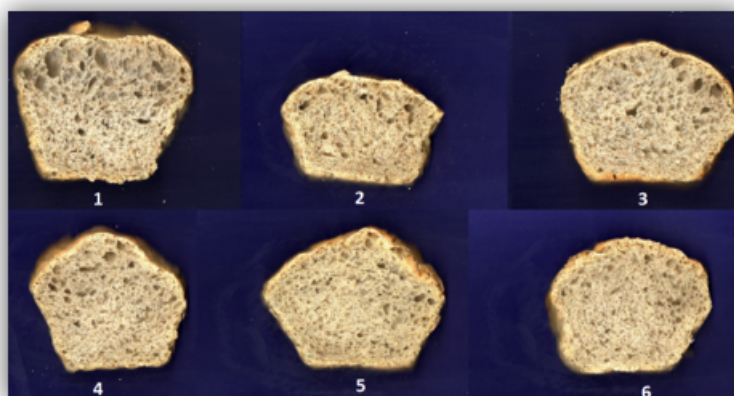


FIGURA 1. Fotos de panes elaborados con mezclas de harinas y aceites, donde 1 (HT+HL+ST+GV), 2 (HT+HL+ST+AC), 3 (HT+HL+ST+AO), 4 (HT+HL+HS+GV), 5 (HT+HL+HS+AC) y 6 (HT+HL+HS+AO), Siendo HT (harina de trigo), HL (harina de lino), ST (salvado de trigo), HS (harina de soja), GV (grasa vacuna), AO (aceite de oliva), AC (aceite de canola)

ANÁLISIS SENSORIAL Y FÍSICOQUÍMICO DE BEBIDAS EN POLVO A BASE DE YERBA MATE (*ILEX PARAGUARIENSIS*) Y CASSIS (*RIBES NIGRUM*)

Juliana Marcela Orjuela-Palacio^{1,3}, Damián Marino¹, María Clara Zamora^{2,3},
María Cecilia Lanari^{1,3}

1. RESUMEN

La yerba mate (YM) y el Cassis (BC) son fuente de compuestos bioactivos como antocianinas, flavonoides y ácidos fenólicos, reconocidos por sus propiedades antioxidantes y beneficios para la salud. Sin embargo el sabor amargo y la sensación de astringencia inducida por altas concentraciones de compuestos polifenólicos provocan una reacción negativa en el consumidor. Una nueva bebida en polvo mezcla de YM/BC que combine un alto contenido de antioxidantes y buena aceptabilidad sensorial sería una forma efectiva de llevar sus ventajas nutricionales a un gran número de consumidores. En el presente trabajo cien participantes evaluaron: aceptabilidad global (escala hedónica de 9 puntos) y perfil de atributos: acidez, dulzor, astringencia y aroma (escala punto ideal) de 3 formulaciones: (YM (120g/L) /BC/ Maltodextrina (MD) /azúcar/edulcorante %): S1 50/30/15/5; S2 60/20/15/5; S3 60/20/15/4.95/0.05. El uso de MD puede ayudar a mejorar la palatabilidad, enmascarando el amargor y reduciendo la sensación de astringencia. S3 tuvo la mayor aceptabilidad y el mejor perfil de atributos (Acidez 52 %, dulzor 46 %, astringencia 34 % y aroma 42 % de los consumidores). Los resultados indicaron que debía ajustarse la astringencia de S3, por lo cual se optimizó su nivel de yerba con un test de agrupamiento con descripción. 40 evaluadores probaron 6 muestras: S3 (A sin liofilizar); S3 (B liofilizada); S4 (YM

CONTACTO: Juliana Orjuela-Palacio julianaorjuelan@gmail.com

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

2. Facultad de Ciencias Agrarias, Pontificia Universidad Católica Argentina, Ciudad de Buenos Aires Argentina.

3. Consejo Nacional de investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) Ciudad de Buenos Aires, Argentina.

90g/L); S5 (YM 60 g/L) A y S5B, agrupándolas por descriptores en común. S3B y S4 fueron agrupadas por astringencia, aroma a berries y a yerba mate. S5B fue percibida más dulce, con aroma a compota y viscosa, ubicándose lejos de los descriptores de astringencia y yerba mate y de las otras muestras, siendo 60 g YM/L la concentración más apropiada. Las muestras liofilizadas fueron calificadas con pocos descriptores aromáticos, debido a una posible pérdida de aromas durante la liofilización. El polvo S5B ($A_w=0.089$; % Humedad= 3.58), fue fluido a temperatura ambiente ($T_g=47.43$ °C) y soluble en agua fría (89.54 %), con alto contenido de polifenoles (33.56 mg GAE/g polvo) y 72.67 % de inhibición del radical DPPH*. Por HPLC-MS se detectó la presencia de isómeros de ácido clorogénico ($m/z=353$; $MS_2=191$), derivados de ácido dicafeoilquinico ($m/z=515$) y cafeoilhexosa ($m/z=341$).

2. INTRODUCCIÓN

La yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hilaire) y el cassis (*Ribes nigrum*) poseen un alto contenido de polifenoles con excelentes propiedades antioxidantes. La yerba posee propiedades antioxidantes y hepatoprotectoras (Filip y Ferraro, 2003). El cassis tiene alto contenido de ácido ascórbico (Casati y col., 2012) y es una excelente fuente de compuestos bioactivos como antocianinas, flavonoides, procianidinas y ácidos fenólicos. Una nueva bebida en polvo mezcla de YM/BC que combine un alto contenido de antioxidantes sería una forma efectiva de llevar sus ventajas nutricionales a un gran número de consumidores. Esta estrategia tiene el inconveniente que las altas concentraciones de polifenoles favorecen la aparición de sabores amargos y de sensación de astringencia en las infusiones capaces de provocar reacciones negativas en los consumidores (Jaeger y col., 2009; Lesschaeve y Noble, 2005). Calviño y col., (2012) concluyeron que la intensidad percibida de ambos atributos aumentaba con el contenido de material herbáceo presente, por consiguiente el éxito comercial de estos productos requiere una cuidadosa optimización de la relación entre el nivel de polifenoles y el perfil sensorial.

El objetivo de este trabajo fue obtener bebidas saludables en polvo que combine alto contenido de antioxidantes y buena palatabilidad, a partir de yerba mate y cassis; analizar y ajustar la aceptabilidad, y nivel óptimo de los atributos sensoriales y estudiar sus características fisicoquímicas (solubilidad, a_w , humedad, temperatura de transición vítrea, composición polifenólica y actividad antioxidante).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizó cassis producido en condiciones orgánicas (BC; *Ribes nigrum* cv. *Silvergrieter*) proveniente de Chacras Cuyen, El Bolsón, Chubut, Argentina, cosechada en enero de 2012. La fruta fue descongelada 24 h antes de la preparación de la bebida y procesada en una pulpera industrial (Filtro con diámetro de poro: 2mm). El extracto de yerba mate (YM; *Ilex paraguariensis* St Hill; La Unión Suave, Argentina) se preparó a partir de 120 g de yerba en 1L de agua a 100 °C; 15 min). Se decantó por 15 min a 25 °C, filtro y almacenaron a 4 °C.

Preparación de las bebidas: se prepararon tres formulaciones [YM (120g/L)/BC/Maltodextrina (MD)/azúcar/edulcorante % (Ciclamarato 5700mg/100g; Sacarina 2000 mg/100g, Dextrosa)]: S1 (50/30/15/5); S2 (60/20/15/5); S3 (60/20/15/4.95/0.05). Todas las muestras contenían aroma comercial de fruta de la pasión 0.01 %. Partiendo de S3 se prepararon 2 formulaciones modificando solo la concentración inicial de la infusión de yerba mate; S4 (YM= 90g/L) y S5 (YM= 60 g/L). Las bebidas S3 y S5 se liofilizaron a temperatura ambiente en un liofilizador FIC L1-1-E300-CRT (Buenos Aires, Argentina) con placa de congelación a -35 °C y vacío por debajo de 100 µm.

ANÁLISIS SENSORIAL

Los voluntarios que participaron en las evaluaciones sensoriales son estudiantes de la Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, Argentina.

Aceptabilidad y perfil de atributos: Cien participantes probaron 3 muestras (S1, S2 y S3) evaluando el grado de aceptabilidad global usando una escala hedónica de 9 puntos (1= me disgusta mucho; 9= me gusta mucho) y el perfil de atributos (acidez, dulzor, astringencia, aroma y cuerpo) usando una escala de punto justo (just about right scale, JAR; 9-point; Xiong y col., 2006) anclada en los extremos: +4 = demasiado / -4 = muy poco, y el punto central (0) como el punto óptimo.

Agrupamiento por descriptores: A cuarenta participantes se les pidió que probaron 5 muestras por duplicado: S3A (sin liofilizar); S3B (liofilizada); S4 sin liofilizar; S5A (sin liofilizar) y S5B (liofilizada) y que agruparan las muestras según alguna característica que tuvieran en común. Para esto se les proporcionó una lista de descriptores (Tabla 1).

ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO

El análisis fisicoquímico se hizo para la muestra seleccionada como mejor por las evaluaciones sensoriales.

Actividad acuosa (aw) y Humedad: La actividad acuosa (aw) fue determinada usando Aqualab serie 3 (Decagon Device, Pullman, Washington, USA), previamente calibrado con las soluciones salinas saturadas en el rango de interés. La humedad se determinó por secado en estufa San jor serie SL DB (Buenos Aires, Argentina) a 105 ± 1 °C hasta alcanzar peso constante. Todas las determinaciones se hicieron por triplicado.

pH y sólidos solubles totales (SST): el pH fue medido con un pHmetro Hach Sension+ pH3 Lab (Hach Company, Loveland, CO, USA) a 25 °C. El contenido de SST expresado en °Brix se determinó con un refractómetro manual Atago N2 (Tokyo, Japan).

Temperatura de transición vítrea (Tg): se determinó por calorimetría diferencial de barrido DSC (TA Instrument, Serie Q-100, USA). Las determinaciones se hicieron por duplicado.

Solubilidad: Se calculó según el método de Chen, J. y Jane, J. (1994; Ec. 1) con modificaciones. La bebida se reconstituyó en función del rendimiento del polvo liofilizado obtenido (18 %p/v), FD = factor de dilución. Las determinaciones se hicieron por duplicado.

$$\% \text{ Solubilidad} = \frac{(\text{g sólidos secos sobrenadante} * \text{FD} * 100)}{\text{g polvo reconstituida}} \quad (\text{Ec. 1})$$

Polifenoles totales; actividad antioxidante y composición polifenólica: El contenido de polifenoles totales (PT; mg eq ácido gálico (GAE)/g polvo) se determinó por el método Folin-Ciocalteu (Schlesier *et al.*, 2002) y la actividad antioxidante por el ensayo DPPH* y se expresó en %Inhibición ecuación 2 (%I; Brand-Williams y col., 1995). La composición polifenólica se determinó mediante HPLC-MS. Todas las determinaciones se hicieron por duplicado.

$$\%I = \left(\frac{\text{Abs}_b - \text{Abs}_m}{\text{Abs}_b} \right) * 100 \quad (\text{Ec. 2})$$

Análisis de datos: Las comparaciones de las medias se realizaron con el test de Tuckey ($p < 0.05$). Los datos de la escala JAR se analizaron como la frecuencia de respuestas de los consumidores en cada categoría y se utilizó el test de Chi-cuadrado para detectar diferencias. Los extremos de la escala se convirtieron de 1 a 9 para

su análisis (-4= 1; 0=5; 4=9). El agrupamiento de los descriptores se evaluó por la técnica estadística de Análisis de Correspondencias con el software Infostat v. 2008 (Universidad Nacional de Córdoba, Argentina).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el primer ensayo sensorial 100 participantes evaluaron 3 muestras: S1 (pH=3.45; 26°Brix; 68.65±1.46 mg GAE/g b.s) S2 (pH= 3.64; 25°Brix; 72.92±2.03 mg GAE/g b.s) y S3 (pH= 3.64; 25°Brix; 74.07±0.63 mg GAE/g b.s). La aceptabilidad global para S1, S2 y S3 fue 5.0, 5.0 and 5.6, respectivamente reflejando una mayor preferencia por la formulación S3 ($F [2, 299] = 5.037, p= 0.007$). El 57 % de los participantes calificaron S3 en las categorías 7-8-9 de la escala hedónica, mientras que para S1 fue del 40 % y del 37 % para S2 (Figura 1).

S3 presentó el mejor perfil de acidez, dulzor, astringencia, aroma y cuerpo, con la mayor frecuencia de consumidores (%) en el punto ideal. 52 % de los consumidores ($p < 0.001$) estimó que S3 presentó el punto óptimo de acidez, el 46 % para dulzor ($p < 0.01$), el 34 % para astringencia ($p < 0.05$), el 42 % para el aroma ($p < 0.01$) y el 53 % para cuerpo ($p < 0.01$). La misma comparación realizada para S1 y S2 indicó que 26 % y 37 % de los consumidores consideraron la acidez en el punto óptimo, respectivamente; 36 % y 20 % para dulzor, 21 % y 30 % para astringencia, 39 % y 32 % para aroma y 42 % (S1 y S2) para cuerpo.

Las diferencias en pH y sólidos solubles (°Brix) entre S1 y S2/S3 se vieron reflejados en los resultados sensoriales. S1 fue percibida más ácida que las otras muestras, dado que 54 % de los consumidores lo calificaron por encima del punto justo. La misma comparación para S2 y S3 indicó que sólo 33 % y 20 % de los consumidores consideraron que la acidez era alta (>0), respectivamente. Mientras 55 % y 74 % estimaron que S1 y S2 eran poco dulces (<0), respectivamente. Una pequeña variación en °Brix produce una clara diferencia en la percepción del dulzor. 58, 48 y 41 %, de los consumidores percibió que la astringencia de S1, S2 y S3, respectivamente era mayor que la óptima.

S3 fue la muestra con mayor aceptabilidad y mejor perfil de atributos, sin embargo los resultados obtenidos indicaron que debía mejorarse el nivel de astringencia. Debido a esto se probaron dos concentraciones del extracto de yerba mate: 90 g/L (S4) y 60 g/L (S5A sin liofilizar; S5B Liofilizado).

En la Figura 2 se muestra como se agruparon las muestras con diferente concentración de yerba mate y los descriptores asociados por los evaluadores. Las muestras S3B y S4 fueron agrupadas por los descriptores de astringencia, aroma a yerba mate, mientras S5B fue percibida como más dulce, con aroma a berries y compota, y más viscosa, ubicándose lejos de los descriptores de astringencia y yerba mate y de las otras muestras, siendo la concentración 60 g/L de extracto de yerba mate la más apropiada. Se observó que las muestras liofilizadas fueron calificadas con pocos descriptores aromáticos, debido a una posible pérdida de aromas durante la liofilización.

ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO

El rendimiento de la liofilización de la bebida en polvo S5 (pH= 3.54; 18°Brix); fue del 18 %, con $a_w= 0.089$, %H= 3.58 % y $T_g(I)= 47.43\text{ }^\circ\text{C}$, siendo fluido a temperatura ambiente y humedades relativas bajas. El polvo fue un $89.54 \pm 2.8\%$ soluble en agua fría (Figura 3). El contenido de polifenoles totales de la mezcla fue de 33.57 ± 1.01 mg GAE/g polvo. Los valores de actividad antioxidante fueron $\%I= 72.67 \pm 0.94\%$.

Los resultados obtenidos por HPLC-MS se presentan en la Figura 4. Basados en patrones se detectó la presencia de Catequina (a; $t_r= 24.63$ min), Rutina (b; $t_r= 36.93$ min), Quercetina (c; $t_r= 41.02$ min), p-cumarico (d; $t_r= 34.56$ min). Los picos mayoritarios 1, 3 y 4 pueden atribuirse al ion $m/z= 353$ y fragmentos $MS_2= 191$ correspondientes a isómeros del ácido clorogénico y $m/z= 707$ posibles dímeros formados. El pico 2 podría corresponder al ion $m/z= 341$ cafeoilhexosa presente en el cassis (Gavrilova y col., 2011). El ion $m/z= 515$ compatible con derivados del ácido dicafeoilquinico se corresponde con el pico 5.

5. CONCLUSIONES

Los análisis sensoriales arrojaron que la formulación S3 (120 g/L) con el mayor contenido de polifenoles y mejor actividad antioxidante, obtuvo mayor aceptabilidad, sin embargo los resultados obtenidos indicaron que debía mejorarse el nivel de astringencia. Mediante el ensayo de agrupamiento con descripción se determinó que la muestra S5B fue la que presentó la concentración óptima del extracto de yerba mate pues se redujo la astringencia. Esta nueva formulación mejoraría la

aceptabilidad de la bebida en polvo manteniendo las características antioxidantes y buena calidad del polvo.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRAND-WILLIAMS, W., Cuvelier, M.E. y Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 28, 25-30.
- CALVIÑO, A. M., Tamasi, O.P., Drunday, F., Cossalter, R, y Garrido, D. 2012. Sensory analysis of bitterness and astringency of infusions of Yerba Mate. In A.M. Calviño (Ed.), *Recent Contributions to Sensory Analysis of Foods* (pp. 131-150).
- CASATI, C. B., Sánchez V., Baeza R., Magnani N., Evelson P. y Zamora M.C. 2012. Relationships between colour parameters, phenolic content and sensory changes of processed blueberry, elderberry and blackcurrant commercial juices. *International Journal of Food Science and Technology*, 47, 1728-1736.
- CHEN, J. y Jane, J. 1994. Preparation of granular cold-water-soluble starches by alcoholic-alkaline treatment. *Cereal chemistry*. 71 (6), 618-622.
- DELWICHE, J.F. y Warnock, A.R. 2008. Perception and acceptance of sweeteners. In *Sweetness and Sweeteners Biology, Chemistry and Psychophysics*, D.K. Weerasinghe and G. DuBois, Eds. Oxford University Press/American Chemical Society
- FILIP, R., y Ferraro, G. E. (2003). Researching on new species of “Mate”: *Ilex brevicuspis*: Phytochemical and pharmacology study. *European Journal of Nutrition*, 42, 50-54.
- GAVRILOVA, V., Kajdzanoska, M., Gjamovski, V. y Stefova, M. 2011. Separation, characterization and quantification of phenolic compounds in blueberries and red and black currants by HPLC-DAD-ESI-MSn. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 4009-4018.
- GONZÁLEZ, A., Ferreira, F., Vázquez, A., Moyna, P., y Paz, E. A. (1993). Biological screening of Uruguayan medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 39(3), 217-220.
- HAN, X., Shen, T., & Lou, H. (2007). Dietary polyphenols and their biological significance. *International Journal of Molecular Sciences*, 8, 950-988.
- HECK, C., y Gonzalez de Mejía, E. (2007). Yerba mate tea (*Ilex paraguariensis*): A comprehensive review on chemistry, health implications and technological considerations. *Journal of Food Science*, 72(9), 138-151.
- JAEGER, S.R., Axten, L.G., Wohlers, M.W. y Sun-Waterhouse, D. 2009. Polyphenol-rich beverages: insights from sensory and consumer science. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89, 2356-2363.

- LESSCHAEVE, I. y Noble, A. C. 2005. Polyphenols. Factors influencing their sensory properties and their effects on food and beverage preference. *American Journal of Clinical Nutrition*, 81(1), 330–335.
- XIONG, R. y Meullenet, J. F. 2006. A PLS dummy variable approach to assess the impact of JAR attributes on liking. *Food Quality and Preference*, 7, 188–198.

7. TABLAS Y FIGURAS

TABLA 1. Lista de descriptores evaluación sensorial

DESCRIPTOR	DEFINICIÓN
Acidez	Sensación producida por soluciones acuosas de sustancias ácidas como el ácido cítrico.
Amargor	Sensación producida por soluciones acuosas de sustancias como la cafeína.
Dulzor	Sensación producida por soluciones acuosas de azúcares como la sacarosa.
Astringencia	Combinación de sensaciones como contracción, sequedad y aspereza en la boca.
Berries	Asociado al Arándano, Cassis, Moras.
Cítrico	Asociado a una impresión general a frutos cítricos.
Compota	Asociado a frutas cocidas.
Especiado	Asociado a especias (vainilla, anís, clavo, canela, pimienta).
Frutal	Asociado a frutas como melón, pera, manzana. No cítrico.
Fruto tropical	Asociado al maracuyá (fruto de la pasión).
Hierbas	Asociado a hierbas que se perciben pero no se puede identificar individualmente.
Yerba mate	Asociado a la infusión de Yerba Mate.
Color	Intensidad de color.
Brillo	Que refleja la luz.
Viscosidad	Consistencia o densidad en la boca por la sensación producida por la muestra.

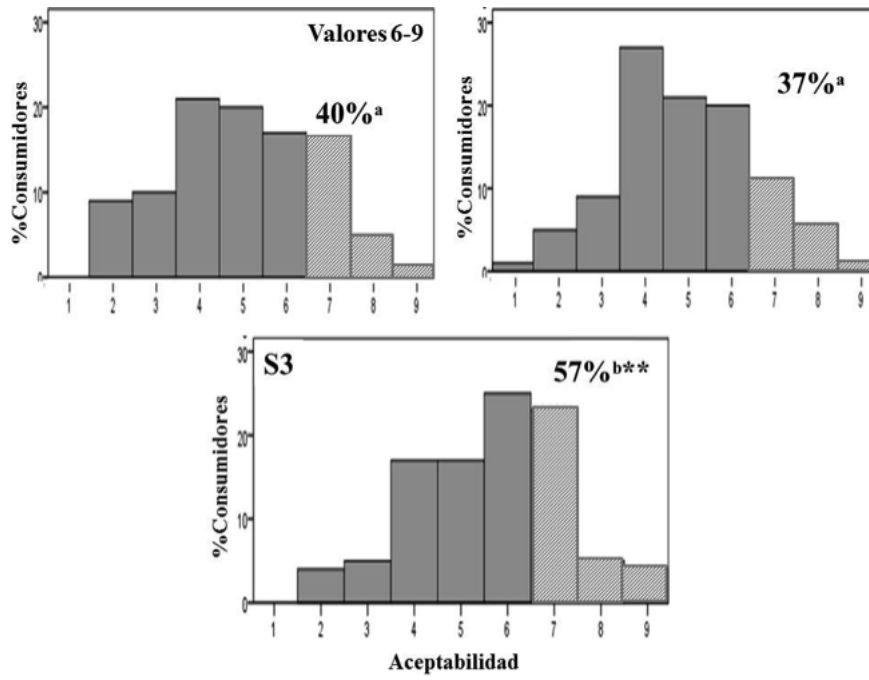


FIGURA 1. Grado de aceptabilidad de las muestras S1, S2 y S3

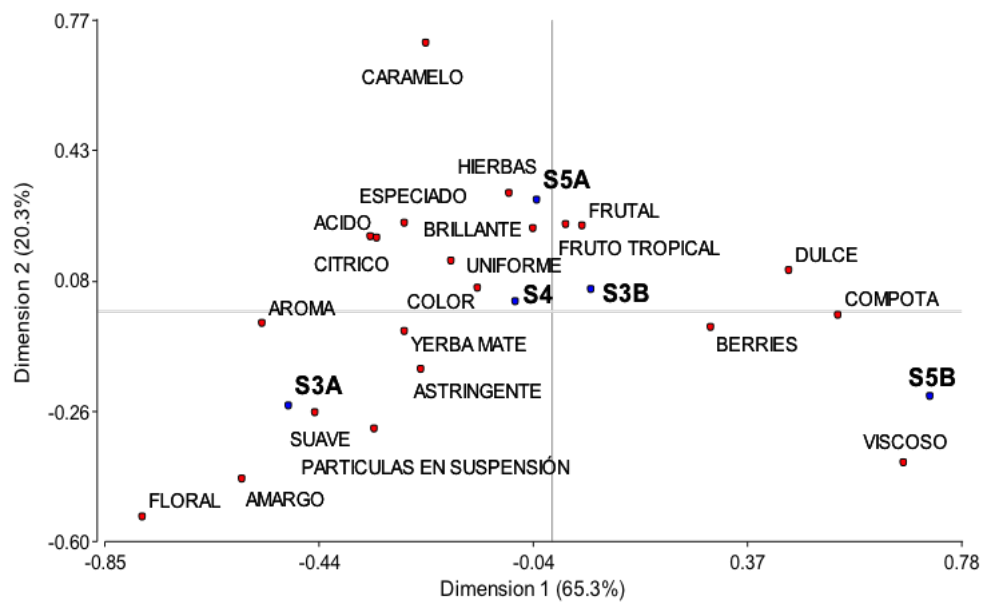


FIGURA 2. Agrupamiento por descriptores de las formulaciones S3A, S3B, S4, S5A Y S5B.



FIGURA 3. A. Bebida en polvo S5; B. Bebida reconstituida

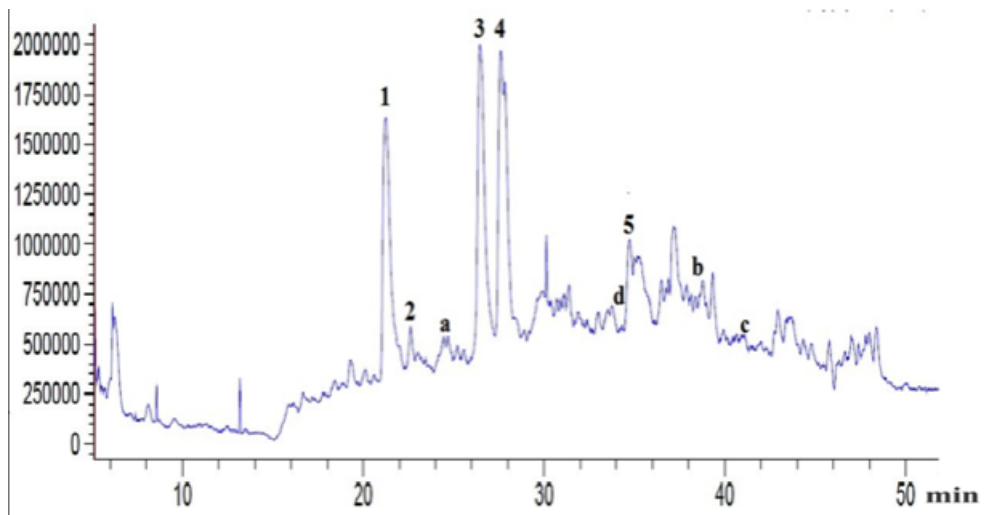


FIGURA 4. Espectro MS modo negativo fragmentado 120ev polvo liofilizado

CAMBIOS DURANTE EL ALMACENAMIENTO DE SALCHICHAS MAGRAS SALUDABLES. EFECTO DEL REEMPLAZO PARCIAL DE SODIO

Lucas Marchetti, Silvina Andrés, Alicia Califano

1. RESUMEN

Se evaluaron los cambios durante el almacenamiento de productos cárnicos magros cocidos conteniendo aceite marino deodorizado pre-emulsificado y fitoesteroles con reemplazo parcial de NaCl por KCl y tripolifosfato sódico (TPP) estudiando el efecto del agregado de antioxidantes naturales al sistema. Se analizaron cuatro formulaciones: un control sin reemplazo de sal (NaCl 1.4 % y TPP 0.2 %) y 3.75 mg/100g de tocoferoles naturales y tres formulaciones de sodio reducido (NaCl 0.608 %, KCl 0.492 % y TPP 0.5 %) con diferentes niveles de tocoferoles (0, 3.75 y 5 mg/100g). Las pastas cárnicas crudas fueron embutidas, tratadas térmicamente hasta 74 °C en el centro, enfriadas y almacenadas bajo vacío 45 días a 4 °C, determinándose periódicamente el pH, exudado, textura, color, oxidación lipídica (TBARS) y desarrollo microbiano. El exudado fue bajo en todas las formulaciones, indicando una buena capacidad de retención de las matrices, correspondiendo los mayores valores a formulaciones reducidas en sodio. La dureza y masticabilidad se incrementaron ligeramente hacia el final del almacenamiento, coincidiendo con el aumento de exudado, mientras que la luminosidad presentó un ligero descenso. Los recuentos microbianos iniciales y finales fueron adecuados y se asociaron a un leve descenso de pH (de 5.82 a 5.56). La flora predominante fueron bacterias acidolácticas psicrótrofas. La formulación sin reducción de Na con tocoferoles mantuvo niveles de TBARS bajos durante los 45 días. La sustitución de Na por K afectó sensiblemente la estabilidad oxidativa, siendo necesario un mayor agregado de to-

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

coferoles para lograr su estabilidad. Resultó exitosa la incorporación de tocoferoles para prevenir la rancidez de geles emulsionados cárnicos con aceite de pescado, fitoesteroles y reducido contenido sódico durante 45 días de almacenamiento al vacío refrigerado.

2. INTRODUCCIÓN

La sal y la grasa conjuntamente contribuyen con muchas de las propiedades sensoriales en cárnicos procesados, por ello su simultánea reducción representa un desafío tecnológico. Si tanto la sal y la grasa son reducidos, el agua usada para reemplazar la grasa disminuye la fuerza iónica a <0.4 , afectando la percepción del salado, flavor característico, textura, retención de agua y conservación (Totosaus y Pérez-Chabela, 2009). Algunas proteínas no cárnicas o carbohidratos (almidón, gomas) son agregados como sustitutos de grasa para incrementar el rendimiento, retención de agua, reducir costos, modificar la textura e incrementar la estabilidad congelado-descongelado. En trabajos previos (Marchetti y col., 2013 y 2014) se optimizó una formulación donde se sustituyó la fase grasa tradicionalmente usada por aceite de pescado y se redujo el contenido de sodio en un 63 % con respecto al producto comercial.

Sin embargo el agregado de NaCl a los productos cárnicos contribuye a la sustitución de la flora natural de carne por lactobacilos y micrococos, lo que disminuye el ritmo de deterioro de estos productos (Matthews y Strong, 2005). Actualmente, el NaCl todavía contribuye junto con otros conservantes y mecanismos tecnológicos a la producción de un producto final seguro, mediante la reducción del a_w , parámetro que depende del nivel de NaCl en la fase acuosa dentro de un producto.

La estabilidad microbiológica global de un producto, también depende de la interacción con el pH, la temperatura y otros factores. Por otro lado, en productos envasados al vacío o en atmósfera modificada la exclusión del oxígeno resulta en un riesgo de desarrollo de *Clostridium botulinum*. El agregado de NaCl es uno de los medios que se pueden emplear para suprimir el crecimiento de este patógeno y por lo tanto, extender la vida útil de estos productos. Sin embargo, la acción bactericida principal que impide el desarrollo del *C. botulinum* se debe al agregado de NaNO_2 . La reducción del contenido de sal de estos sistemas podría tener un efecto adverso sobre la estabilidad microbiológica por lo que estos parámetros tienen que ser estudiados para asegurar la calidad del producto (Betts y Everis, 2003).

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del agregado de tocoferoles naturales y la reducción de sodio en emulsiones cárnicas sobre los parámetros de calidad fisicoquímicos (exudado, textura, color), microbiológicos y oxidativos durante 45 días de almacenamiento bajo vacío refrigerado.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

MATERIALES Y ELABORACIÓN DEL PRODUCTO

Se prepararon salchichas magras tipo Viena con carne vacuna, 5 g aceite de pescado /100g pasta cruda, 25 g agua/100 g pasta cruda. Como agentes estabilizantes o emulsionantes se utilizaron concentrado de proteínas de leche (L, Milkaut, Santa Fé, Argentina), y una combinación 2:1 κ : ι -carragenanos (C, ADAMA S.A., Buenos Aires Argentina). Se incluyeron además 0.2 % de fitoesteroles (Advansterol 90, AOM S.A., Argentina), NaNO² (0.015 %), eritorbato de Na (0.045 %), colorante carmín, glutamato de sodio, pimienta y nuez moscada. Se evaluaron distintos niveles de mezcla de tocoferoles naturales (Tocomix 70, Advanced Organic Materials, Buenos Aires, Argentina) como antioxidantes agregados en el aceite. Para la elaboración se utilizó el procedimiento de Marchetti y col. (2014). El diseño experimental consistió en cuatro formulaciones con niveles de sales y tocoferoles y nomenclatura según Tabla 1.

ALMACENAMIENTO

Los productos fueron envasados bajo vacío en bolsas Cryovac BB4L (Sealed Air Co., Buenos Aires, Argentina; PO²: 35 cm³ m⁻² día⁻¹ bar⁻¹ a 23 °C), dos unidades por envase, y almacenadas a 4 °C durante un período máximo de 45 días, tiempo de almacenamiento de un producto tradicional. A distintos tiempos se tomaron muestras para realizar los distintos ensayos.

EXUDADO

Se determinó el peso del producto al inicio y a cada tiempo de almacenamiento y se expresó como porcentaje refiriendo la diferencia entre ambos al peso inicial. El exudado se evaluó al menos por cuadruplicado.

ANÁLISIS DE PERFIL DE TEXTURA (TPA)

(Brennan y Bourne, 1994) mediante Texturómetro TAXT2i (Stable Micro Systems, UK) sobre cilindros (1.5 x 1.7 cm) cortados en el momento a partir de muestras refrigeradas, realizando diez replicados por formulación, en cuarto de temperatura controlada (20 °C) según Marchetti y col. (2014).

COLOR

Mediante un colorímetro triestímulo (Minolta CR-400, Minolta Corp., Ramsey, New Jersey, EE.UU.) sobre cinco unidades de cada formulación, realizando tres medidas por espécimen.

DETERMINACIÓN DE PH

Empleando un electrodo de punta para muestras sólidas, con referencia Ag/AgCl (Phoenix 557-3512, EE.UU) conectado a un pHmetro (EC30, Hacht, Loveland, CO). Las determinaciones se realizaron por triplicado.

ENSAYOS MICROBIOLÓGICOS

Se homogenizaron 20-30g de producto procesado con agua peptona y se realizaron apropiadas diluciones seriadas para sembrar placas en profundidad para recuento de microorganismos mesófilos y psicrótrofos totales; hongos y levaduras; *Lactobacillus spp* y Enterobacterias. Para asegurar la calidad sanitaria de los productos se evaluaron al final del almacenamiento refrigerado coliformes totales y *Clostridium* sulfito-reductores.

OXIDACIÓN LIPÍDICA

Se cuantificaron las sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS, Andrés y col. 2012) por cuadruplicado sobre 2g de cada muestra a diferentes tiempos como mg MDA/kg de producto.

DETERMINACIÓN DEL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS

La extracción de lípidos de los productos se realizó mediante el método de Folch (Folch y col., 1957) empleando una mezcla cloroformo:metanol 2:1. Se obtuvieron los metilésteres de los ácidos grasos y extrajeron con éter de petróleo para luego ser analizados con un cromatógrafo Hewlett-Packard 6890 (Hewlett Packard, Palo Alto, CA, EE.UU.) según Pennisi y col. (2010).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Todos los procedimientos estadísticos se llevaron a cabo mediante el software SYSTAT (SYSTAT, Inc., Evanston, IL, EE.UU.). Los resultados experimentales se informaron como valor medio \pm el error estándar de la media.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

EXUDADO

Como puede observarse en la Figura 1a el reemplazo parcial de NaCl produjo diferencias significativas en la cantidad de líquido liberado durante el almacenamiento refrigerado de las muestras. El rango de valores obtenidos resultó similar al informado por otros autores para salchichas magras (Barbut, 2008). No se observaron diferencias significativas entre las cuatro formulaciones ensayadas ($P > 0.05$) hasta el día 20. Posteriormente la formulación control sin reemplazo de sodio (T1 Na) arrojó valores más bajos evidenciando una mejor capacidad de retención de líquido. Los bajos niveles de NaCl o altos de KCl en las formulaciones reducidas en sodio podrían disminuir la concentración de proteínas extraídas/solubilizadas que participan en la formación del gel emulsionado.

PERFIL DE TEXTURA

Al inicio del almacenamiento la dureza y masticabilidad (Figura 1b y c) de los productos reducidos en sodio (T0, 1 y 2 Na/K) fueron inferiores a los obtenidos en el control (T1 Na), presentando después incrementos del 19.5 y 14.2 %, respectivamente, al final del almacenamiento, que correlacionaron positivamente ($P < 0.05$) con el exudado de los productos. Otros parámetros no presentaron diferencias significativas ($P > 0.05$) con el tiempo de almacenamiento o formulación estudiada (elasticidad = 0.847 ± 0.006 mm/mm; cohesividad = 0.574 ± 0.006 J/J y adhesividad = $28.4 \times 10^{-3} \pm 0.3 \times 10^{-3}$ J), indicando que el reemplazo de Na⁺ por K⁺ en la formulación, así como el almacenamiento refrigerado al vacío por 45 días, no alteró estas características del producto. La resiliencia no varió entre las distintas formulaciones ($P > 0.05$) pero disminuyó significativamente ($P < 0.05$) con el tiempo de almacenamiento (Figura 1d). De estos resultados se infiere que el reemplazo parcial de Na⁺ por K⁺, permitió obtener productos con adecuadas características texturales.

COLOR

Los parámetros de cromaticidad a^* y b^* no reflejaron diferencias significativas ($P > 0.05$) con el tiempo de almacenamiento ni entre las formulaciones, siendo $a^* = 15.35 \pm 0.04$ y $b^* = 14.47 \pm 0.03$. Se encontró una disminución significativa en la luminosidad (Figura 2) de las muestras con el tiempo de almacenamiento ($P < 0.05$) sin presentar diferencias significativas entre formulaciones ($P > 0.05$). Estos resultados coinciden con Horita y col. (2011) quienes estudiaron el reemplazo parcial de NaCl por diferentes combinaciones de sales en formulaciones de mortadela, sin observar modificaciones en a^* y b^* y con Cáceres y col. (2006) para salchichas cárnicas enriquecidas en calcio que observaron una tendencia similar en L^* .

ENSAYOS MICROBIOLÓGICOS

Los resultados mostraron que el reemplazo parcial de sodio por potasio no afectó el desarrollo microbiano ya que no se observaron diferencias significativas entre las formulaciones ($P > 0.05$) para todos los grupos de microorganismos analizados. En todos los casos la flora dominante pudo definirse como bacterias ácido-lácticas (BAL) psicrótrofas, por el análisis conjunto de las figuras 3a, b y c. Estos resultados están en concordancia con Andrés y col. (2009) y se encuentran dentro de los límites aceptados por el CAA durante todo el período de almacenamiento. Los recuentos de hongos y levaduras y enterobacterias resultaron inferiores al límite de detección del método empleado. El descenso de pH observado con el tiempo de almacenamiento (Figura 3d) ($P < 0.05$) puede adjudicarse al crecimiento de las BAL. Asimismo, los recuentos de *Clostridium* sulfito-reductores y Coliformes totales cumplen con la normativa vigente (Art. 341, CAA 2013). Esto refleja buena calidad microbiológica de las salchichas magras con aceite de pescado reducidas en sodio o no almacenadas al vacío a 4 °C durante 45 días.

ESTABILIDAD OXIDATIVA

En la Figura 4 puede verse que la formulación control T1 Na mostró bajos valores de TBARS resultando en una adecuada estabilidad oxidativa. Entre las formulaciones con reemplazo parcial de sodio, la formulación sin antioxidantes T0 Na/K, presentó un proceso oxidativo avanzado, alcanzando un máximo de TBARS entre 18-20 días, a partir del cual estos niveles se redujeron. Con agregado de tocoferoles a igual nivel del control, T1 Na/K, el reemplazo del sodio por potasio resultó en

un efecto adverso al incrementarse las TBARS entre 23 y 41 días, igualándose a los 45 días. Zanardi y col. (2010) encontraron que un reemplazo parcial de NaCl por combinación de KCl, MgCl² y CaCl² produjo un incremento de TBARS en salchichas fermentadas tipo salame. Un mayor nivel de antioxidantes (T2 Na/K) logró controlar la oxidación lipídica del producto, siendo la evolución de TBARS observada equivalente al de la formulación control T1 Na.

Cabe destacar que todas las formulaciones con agregado de tocoferoles (T1 Na, T1 Na/K y T2 Na/K) mostraron una adecuada estabilidad oxidativa (niveles < 0.41 mg MDA/kg). Similar tendencia fue observada por Mercadante y col. (2010) quienes obtuvieron salchichas con pigmentos naturales con TBARS < 0.38 mg MDA/kg luego de 45 días de almacenamiento, de buena estabilidad oxidativa.

PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS

La sustitución de la grasa vacuna por aceite de origen marino produjo un perfil lipídico de buenas características nutricionales, destacándose un elevado contenido de ácidos grasos mono (AGMI) y poli-insaturados (AGPI), como oleico, EPA y DHA, con una relación media n-6/n-3 de 0.149 (Tabla 2), sensiblemente inferior a la de grasa vacuna (n-6/n-3 = 8.33).

También se evidenció el efecto protector de los tocoferoles agregados a lo largo del almacenamiento sobre varios ácidos grasos. En T0 Na/K, sin tocoferoles, se observó un descenso de los ácidos grasos C17:1 n7, oleico, ALA, EPA y DHA, entre el comienzo y fin del almacenamiento como consecuencia del deterioro oxidativo en el producto. Sin embargo, en la formulación con 3.75 mg/100g de tocoferoles (T1 Na/K) sólo disminuyó el EPA al final del almacenamiento.

Existe una gran cantidad de bibliografía que aporta abundantes evidencias sobre los efectos benéficos para la salud asociados al consumo de AGPI, y dentro de este grupo, principalmente EPA y DHA (Asís, 2006; Coates y col., 2009). Así, Moore y col. (2012) recomendaron una ingesta de 500 mg/día de EPA+DHA, que podría lograrse con 35g de salchichas magras con aceite de pescado, sin tener aparejado elevados niveles de sodio.

En la Tabla 2 también se muestran los valores obtenidos de los índices de aterogenicidad (IA) y trombogénicidad (IT) calculados según Ulbricht y Southgate (1991), que tienen en cuenta las interacciones entre los diferentes ácidos grasos, permitiendo una evaluación integrada de los lípidos y su efecto en la salud corona-

ria. Valores de IA y IT superiores a la unidad (>1) están asociados a un efecto perjudicial para la salud humana (Subhadra y col., 2006). El perfil lipídico de obtenido refleja, a través de estos índices, que hay una disminución del riesgo de afecciones cardiovasculares asociada al consumo de estos productos.

5. CONCLUSIONES

El reemplazo parcial de sodio por potasio en los productos magros conteniendo aceite de origen marino y fitoesteroles resultó en un mayor exudado pero dentro de valores aceptables. Los parámetros fisicoquímicos (rendimiento, textura y color) y microbiológicos fueron adecuados durante los 45 días de almacenamiento bajo vacío a 4 °C. La reducción del contenido de sodio de un 63 % respecto de un producto comercial, y el posterior reemplazo parcial por potasio afectó sensiblemente la estabilidad oxidativa de los productos, resultando necesario un mayor agregado de tocoferoles para controlarla. El bajo aporte calórico y contenido de sodio, con un elevado nivel de ácidos grasos poli-insaturados hacen que el producto presente mejor calidad nutricional respecto a los tradicionales disponibles en el mercado.

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

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRÉS, S. C., Zaritzky, N. E., y Califano, A. N. (2009). *Poultry Science*, 88, 1755-1764.
- ANDRÉS, S.C., Pennisi, S.C., Ranalli, N., Zaritzky, N.E. y Califano. (2012). En: Hendriks, B.P. (Ed.) *Agricultural Research Updates - Volumen 2* (pp. 185 – 211) Nueva York: Nova Science Publishers, Inc. In-press.
- AOAC (1984). *Official methods of analysis* (14th ed.). Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC (1984).

- ASÍS, A., Banzi, R., Buonocore, C.D., Muzio, M.F., Vitocolonna, M., y Garattini, S. (2006). *International Clinical Psychopharmacology*, 21, 319–336.
- BARBUT S., y Choy V. (2008) *International Journal of Food Science y Technology*, 42, 453–458.
- BETTS, R. y Everis, L. (2003). Campden and Chorleywood Food Research Association, Chipping Campden.
- BRENNAN, J.G., y Bourne, M.C. (1994). *Journal of Texture Studies*, 25, 139–150.
- CAA - Código Alimentario Argentino (2013). Secretaría de Políticas, Regulación e Institutos y Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca Código Alimentario Argentino. Resolución Conjunta 161/2013 y 213/2013 Modificaciones. Disponible en: <http://www.infoleg.gob.ar/infolegInternet/anexos/215000219999/216121/norma.htm>. Acceso 10-01-2014.
- CÁCERES, E., García, M. L., y Selgas, M. D. (2006). *Meat Science*, 7, 368–377.
- COATES, A.M., Sioutis, S., Buckley, J.D. y Howe, P.R.C. (2009). *British Journal of Nutrition*, 101, 592-597.
- FOLCH, J., Lees, M. y Sloane-Stanley, G.H. (1957). *Journal of Biological Chemistry*, 497-509.
- HORITA, C., Morgano, M., Celeghini, R. y Pollonio, M. (2011). *Meat Science*, 89, 426-433.
- MATTHEWS, K. y Strong, M. (2005). News and views: Salt industry – its role in meat products and the industry’s action plan to reduce it. En: Milton Keynes (Ed) *The meat and livestock commission. British Nutrition Foundation Nutrition Bulletin*, 30, 55–61.
- MERCADANTE, A.Z., Capitani, C.D., Decker, E.A. y Castro, I.A. (2010). *Meat Science*, 84, 718–726.
- MOORE, R.L., Duncan, S.E., Rasor, A.S., Eigel, W.N. y O’Keefe, S.F. (2012). *Journal of Dairy Science* 95, 6242–6251.
- MARCHETTI, L., Andrés, S.C., Califano, A.N. (2014). *LWT - Food Science and Technology* 51, 514-523.
- MARCHETTI, L., Andrés, S.C., Califano, A.N. (2014). *Meat Science*, 96, 1297-1303.
- PENNISI, S., Ranalli, N., Zaritzky, N., Andrés, S.C., Califano, A.N. (2010). *Meat Science*, 86, 364-370.
- SUBHADRA, B., Lochmann, R., Rawles, S., y Chen, R. (2006). *Aquaculture*, 255, 210–222.
- SANHUEZA, J., Nieto, S., Valenzuela, A. (2004). *Revista Chilena Nutricion*, 31, 84-92.
- TOTOSAUS, A. y Pérez-Chabela, M.L. (2009). *LWT - Food Science and Technology*, 42, 563–569.
- ULBRICHT, T.L.V., y Southgate, D.A.T. (1991). *Lancet*, 338, 985-992.
- ZANARDI, E., Ghidini, S., Conter, M. y Ianieri, A. (2010). *Meat Science*, 86, 742–747.

7. TABLAS Y FIGURAS

TABLA 1. Niveles de sales y de tocoferoles de las formulaciones almacenadas estudiadas

Formulación	NaCl (g/100g)	KCl (g/100g)	TPP (g/100g)	Mezcla de tocoferoles naturales (mg/100g de aceite)
T1 Na	1.400	-	0.200	3.75
T0 Na/K	0.608	0.492	0.500	-
T1 Na/K	0.608	0.492	0.500	3.75
T2 Na/K	0.608	0.492	0.500	5.00

TABLA 2. Perfil de ácidos grasos de productos T0 Na/K y T1 Na/K al inicio y fin (45 días) del almacenamiento

Ácido Graso (g/100g)	T0 Na/K		T1 Na/K	
	Inicial	Final	Inicial	Final
AGS	31.6 ^a	32.6 ^a	30.1 ^a	30.5 ^a
AGMI	35.7 ^a	33.2 ^b	36.9 ^a	36.4 ^a
AGPI	32.1 ^b	24.0 ^c	32.0 ^b	30.4 ^b
n-3	28.0 ^b	21.5 ^c	27.8 ^b	26.3 ^b
n-6	4.10 ^a	2.50 ^b	4.20 ^a	4.10 ^a
n-6/n-3	0.147 ^a	0.116 ^b	0.152 ^a	0.156 ^a
Índice de Aterogenicidad (IA)	0.31 ^b	0.40 ^a	0.29 ^b	0.31 ^b
Índice de Trombogenicidad (IT)	0.17 ^a	0.22 ^a	0.15 ^a	0.16 ^a

*Medias en la misma fila con distinto supraíndice, presentan diferencias significativas ($P < 0.05$).

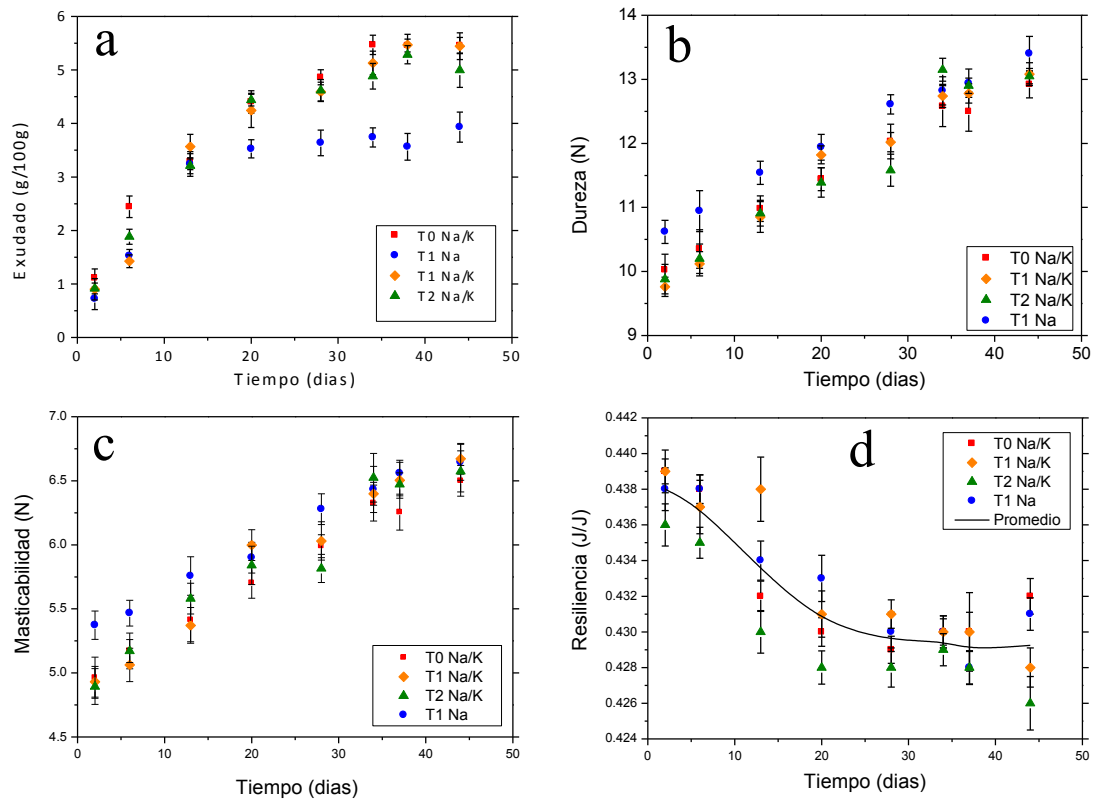


FIGURA 1. Exudado (a) y parámetros de TPA: dureza (b), masticabilidad (c) y resiliencia (d) de los productos durante el almacenamiento refrigerado bajo vacío

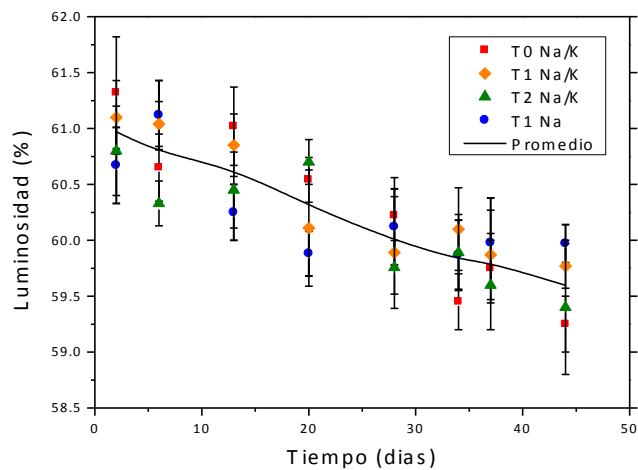


FIGURA 2. Variación de la Luminosidad durante el almacenamiento refrigerado bajo vacío

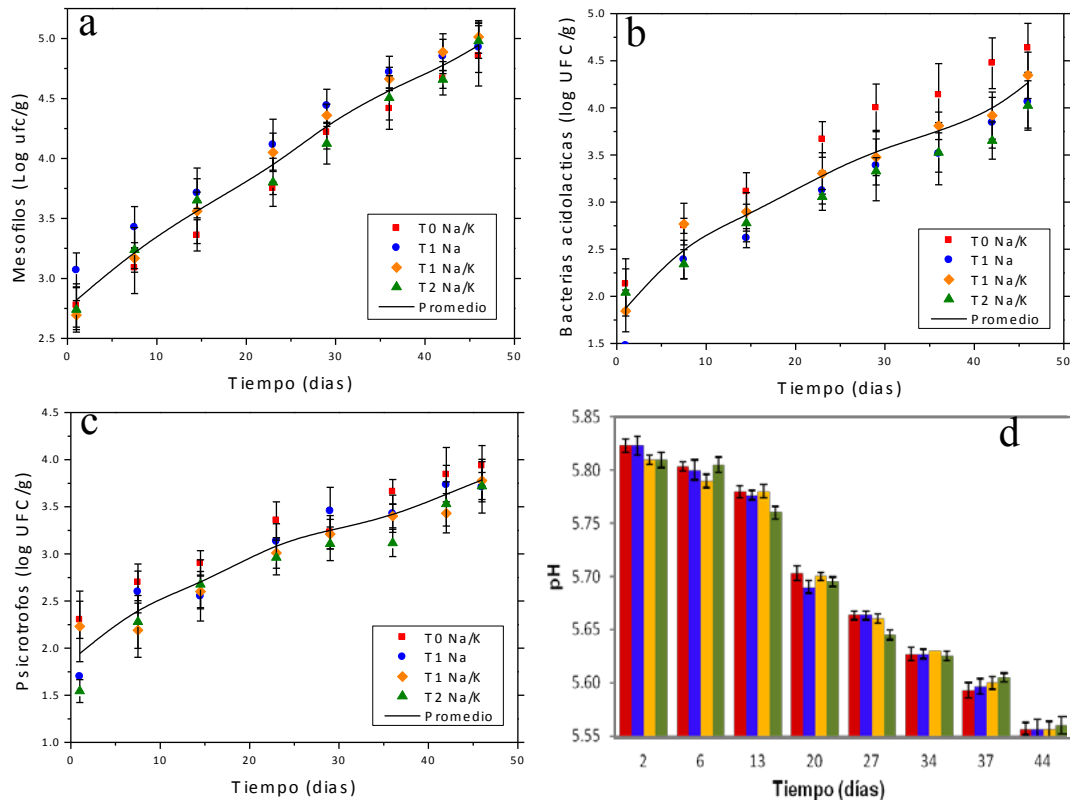


FIGURA 3. Recuento de microorganismos mesófilos (a), bacterias ácido lácticas (b) y psicrótrofos (c) y pH (d). ■ T0Na/K, ● T1Na, ◆ T1Na/K, ▲ T2Na/K, ■ T1Na.

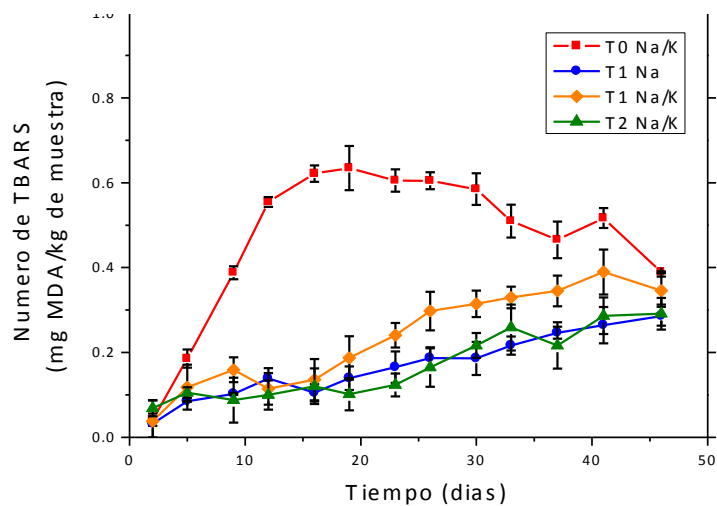


FIGURA 4. Efecto del contenido de tocoferoles y sales en la evolución de TBARS durante el almacenamiento refrigerado

COMBINACIONES DE ADITIVOS EN PANIFICADOS CON FÉCULA DE MANDIOCA Y SU EFECTO DURANTE EL ALMACENAMIENTO CONGELADO

Laura Beatriz Milde¹, Paola Soledad Chigal², María de la Trinidad Liotta², Beatriz del Valle Argüello¹

1. RESUMEN

Una alternativa para mejorar la calidad de panificados libres de gluten consiste en agregar aditivos a la formulación, y para prolongar su vida útil, recurrir al proceso de congelación. Se estudió el efecto del agregado de combinaciones de aditivos naturales (grasa, huevo, leche, soja) a masas elaboradas con fécula de mandioca y harina de maíz, almacenadas congeladas, en panes cocidos. Se analizaron los parámetros: volumen específico, porcentaje de pérdida de peso, firmeza, elasticidad, cohesividad, gomosidad y masticabilidad, después de 7 y 14 días de almacenamiento en congelación y se compararon con panes frescos, como control. En general, se observaron diferencias significativas entre los panes frescos y los provenientes de masas almacenadas congeladas en todas las propiedades evaluadas, a excepción de la elasticidad; siendo estas diferencias más significativas con la presencia de huevo en la formulación de las masas. Cuando se requiere almacenar en congelación masas elaboradas con fécula de mandioca y harina de maíz, se sugiere utilizar combinaciones entre grasa, leche o soja.

CONTACTO: Paola Soledad Chigal paolachigal@gmail.com

1. Departamento de Química. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones (UNAM). Misiones. Argentina.

2. Becarias Comité Ejecutivo de Desarrollo e Innovación Tecnológica (CEDIT). Misiones, Argentina.

2. INTRODUCCIÓN

La celiaquía se define como una intolerancia total y permanente a ciertas fracciones proteicas del gluten del trigo, avena, cebada y centeno (TACC). La ingesta de estas proteínas induce, en personas genéticamente predispuestas, una lesión severa de la mucosa intestinal con graves consecuencias para la salud y desarrollo del individuo (Ciclitira; Ellis y Lundin, 2005). Estas personas se ven en la necesidad de seguir una dieta estricta libre de gluten (LDG) de por vida.

Algunos investigadores han desarrollado nuevos productos, más precisamente panes LDG, (Mezaize y col. 2010; Milde; Ramallo y Puppo, 2012). El pan es un alimento de gran consumo y la calidad de este se pierde rápidamente debido a la retrogradación del almidón, que provoca un endurecimiento y con esto una alteración en las propiedades fisicoquímicas. Una posibilidad para prolongar su vida útil es recurrir al proceso de congelación.

Estudios con panes de harina de trigo de masas congeladas realizados por Francischi, Ormenese y Pizzinatto (1998), demostraron que el mayor reto en la producción utilizando la tecnología de congelación es la posibilidad de mantener la viabilidad celular y la potencia de la producción de dióxido de carbono de la levadura congelada. Además, la estabilidad de la masa congelada se relaciona con la formulación, el tipo de harina utilizada y una variedad de otros ingredientes (Hosomi, Nishio y Matsumoto, 1992), la calidad y tipo de levadura aplicada, el tiempo de almacenamiento (Milde; Cabral y Ramirez, 2014; Carr y Tadini, 2003).

Según Giannou y Tzia (2007), en estudios realizados sobre panificados elaborados con harina de trigo, el proceso de congelación provoca daños físicos y químicos en el producto; estos daños son responsables de defectos en la calidad del pan, tales como la disminución en el volumen específico, un aumento en la dureza de la miga y descamación de la corteza.

En el presente estudio, se procedió al agregado de aditivos naturales a masas libres de gluten elaboradas con fécula de mandioca y harina de maíz, con el fin de estudiar el impacto en la calidad del producto final, después del almacenamiento congelado durante un período de 14 días.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Se elaboraron masas de panificados según el procedimiento de Milde, Ramallo y Puppo (2012), con la diferencia de que cada masa se elaboró con la incorporación de pares de aditivos naturales por vez: margarina, harina de soja, huevo, leche en polvo entera (Ilolay, Argentina) en cantidades ya estandarizadas (Milde y col. 2009). La mezcla base fue de fécula de mandioca y harina de maíz (80:20), sal, azúcar, levadura comprimida y agua, a la cual se incorporaron los aditivos grasa-huevo (GH), grasa-leche (GL), huevo-leche (HL), grasa-soja (GS), leche-soja (LS) y huevo-soja (HS); cada masa se almacenó congelada durante 7 y 14 días a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ en moldes individuales (Freezer horizontal marca Gafa modelo 500, Argentina). El día 7 o 14, se realizó el descongelamiento lento (10 hs en heladera y 5 hs sobre mesada) de las masas correspondientes; se procedió a la cocción en horno durante 30 minutos a $240\text{ }^{\circ}\text{C}$ y se compararon con sus panes frescos respectivos, elaborados en el día (cocina familiar marca Whirlpool, 2006, Brasil). El estudio se realizó por triplicado. Las repuestas de la interacción de los aditivos con los ingredientes de la mezcla base, se evaluaron en los productos panificados cocidos a través de la medición de parámetros físicos y texturales, a las 2 horas de enfriados.

ANÁLISIS DE PARÁMETROS FÍSICOS

Volumen específico (Ve): representa la relación entre el volumen y el peso del pan; se expresa en cm^3/g . El volumen de los panes se midió por el método de desplazamiento de semillas de sésamo; se utilizó un recipiente rectangular de $(24 \times 10 \times 8)$ cm, una probeta graduada y una balanza digital (ATMA, BC7200, China).

Porcentaje de pérdida de peso (%PP): se determinó mediante la siguiente fórmula:

$$\%PP = \frac{[(\text{Peso antes de hornear}) - (\text{Peso después de hornear})]}{(\text{Peso antes de hornear})} \times 100$$

ANÁLISIS DE PARÁMETROS TEXTURALES

Determinación de textura: Se utilizó el analizador de textura (modelo TA.TX2i.plus, Stable Micro System, Inglaterra), provisto de una plataforma de aluminio (sobre la cual se colocó la muestra), y un plato de compresión de 75mm. La velocidad del test fue de 5mm/s, mientras que la velocidad pre-test fue de 1mm/s. Las muestras

a evaluar se cortaron en medidas iguales de 6x6 cm, y se sometieron a ensayos de doble compresión (TPA), llevando la masa hasta un 50 % de la altura del producto inicial. Los parámetros de textura: firmeza (N), elasticidad (%), cohesividad (%), gomosidad (N) y masticabilidad (N), se calcularon a partir de un gráfico de fuerza por distancia obtenido del software del analizador de textura.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Cada combinación de aditivos fue analizada separadamente y las repuestas del tratamiento se evaluaron en los productos panificados cocidos a través de la medición de parámetros físicos (volumen específico, porcentaje de pérdida de peso) y parámetros de textura (firmeza, elasticidad, cohesividad, gomosidad y masticabilidad). Se calcularon los valores medios de panes frescos y provenientes de masas almacenadas congeladas de cada combinación y sus desvíos estándares; se realizó un ANOVA, por medio del software “Statgraphics plus 5.1” para determinar la existencia de diferencias significativas, con un nivel de confianza del 95 %; posteriormente fueron evaluados mediante test de Fisher.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

PARÁMETROS FÍSICOS

Los valores medios y desvíos estándares obtenidos de las mediciones de los parámetros físicos (Ve y %PP) realizadas sobre los productos cocidos, de las diferentes combinaciones de los panes frescos y provenientes de masas almacenadas congeladas a diferentes tiempos, se presentan en la Tabla 1.

Volumen específico: Se observaron diferencias significativas ($p < 0,05$) en el Ve, en las diferentes combinaciones de aditivos evaluadas, entre los panes frescos y provenientes de masas almacenadas congeladas.

Se observó que las combinaciones con huevo presentaron valores medios que disminuyeron significativamente durante el proceso. El huevo al congelarse podría perder su capacidad para ligar, lo que se incrementó con la incorporación de soja a la formulación (HS), a pesar de que como pan fresco presentó el mayor Ve.

La interacción de grasa con leche (GL) colaboró al mantenimiento del Ve durante los primeros 7 días de almacenamiento congelado, posiblemente debido al mayor aporte graso en la formulación. La grasa otorga a la miga una estructura fina y

homogénea, le da la posibilidad de elongarse sin romperse y de retener las burbujas de gas, evitando que se unan para formar burbujas más grandes, lo que se mantuvo durante el almacenamiento congelado.

Mezaize y col. (2010), almacenando durante 7 días masas libres de gluten con goma guar y aceite de girasol como aditivos, obtuvieron un decrecimiento en el orden del 20 % en el V_e de los panes. Asimismo, Havet, Mankay y Le Bail (2000) estudiaron el efecto de la congelación en el volumen de masas de pan francés luego de la cocción; sus resultados coinciden con los obtenidos en nuestro trabajo y sugieren que el volumen está influenciado principalmente por la viabilidad de la levadura que se vería afectada por la congelación, y la calidad de la red de gluten, que afecta a la capacidad de retención del dióxido de carbono de la masa, lo que reduciría el volumen del pan.

Porcentaje de pérdida de peso: Excepto en la combinación HS, se obtuvieron diferencias significativas ($p < 0,05$) en las diferentes combinaciones de aditivos evaluadas sobre los panes frescos y provenientes de masas almacenadas congeladas. Phimolsiripol y col. (2008) obtuvieron resultados similares para masas de panes elaboradas con harina de trigo y grasa como aditivo, almacenadas congeladas bajo diferentes condiciones, durante un período de 120 días.

La pérdida de peso de la masa, está íntimamente relacionada con los cambios que ocurren en la distribución del agua en la compleja matriz de la masa, lo cual podría resultar en cambios en el microambiente de la levadura, que llevarían a un daño celular reversible o irreversible. Simmons; Smith y Vodovotz (2012), indicaron que las proteínas de la soja podrían proveer cierta protección a las células de la levadura a temperaturas de congelación, lo que podría justificar en nuestro trabajo que no hubiera diferencias significativas en el porcentaje de pérdida de peso en la combinación HS durante todo el estudio.

PARÁMETROS TEXTURALES

Los valores medios y desvíos estándares obtenidos de las mediciones de los parámetros texturales realizadas sobre los productos cocidos de las diferentes combinaciones de los panes frescos y provenientes de masas almacenadas congeladas a diferentes tiempos, se presentan en la Tabla 2. Se puede apreciar que la combinación GH es la única que presentó diferencias significativas ($p < 0,05$) en todas las propiedades texturales evaluadas.

Las combinaciones con huevo presentaron mayores valores de firmeza (a excepción de la combinación con soja en panes frescos), que se acentuaron durante el almacenamiento congelado. Las combinaciones con soja se vieron favorecidas y se observó mayor sinergia entre SL en todo el proceso, posiblemente por la presencia de mono y diacilglicéridos que componen la leche y potenciarían la actividad emulsionante de la soja. De acuerdo con Badui (2006), la soja ayuda a la formación de la masa, retiene agua y favorece la elasticidad en productos horneados, lo que se mantuvo durante el tiempo de estudio.

Según Schame, Dutcosky y Demiate (2010), a mayor V_e de los panes se espera una menor firmeza, debido a las burbujas de aire que incrementan el volumen y producen panes más blandos. En nuestro trabajo, esto se cumple en los panes frescos, excepto para la combinación GH donde se da una relación inversa; se observó que el huevo contribuye al V_e pero no a la firmeza cuando se combina con grasa, e incluso con leche. En la Figura 1 se muestra la variación del volumen específico y firmeza de las diferentes combinaciones de aditivos estudiadas, en panes frescos.

La elasticidad, que es característica de los panes libres de gluten, se mantiene sin diferencias significativas ($p > 0,05$) para todas las combinaciones, excepto GH, durante todo el proceso. Los valores elevados de elasticidad obtenidos, revelan alta calidad de los panes con buen grado de frescura según McCarthy y col. (2005), quienes indicaron que bajos valores de elasticidad tienden a desmigajarse cuando se los rebana. Los demás parámetros texturales (cohesividad, gomosidad y masticabilidad) en general, demostraron diferencias significativas ($p < 0,05$) con el almacenamiento congelado.

5. CONCLUSIONES

Al estudiar el impacto del almacenamiento congelado en masas libres de gluten con fécula de mandioca como materia prima principal, con el agregado de combinaciones de pares de aditivos naturales, se arribó a las siguientes conclusiones:

El huevo ejerció efecto negativo durante el almacenamiento congelado en el Volumen específico y mayores valores de firmeza en sus diferentes combinaciones.

La soja minimizó la pérdida de agua durante el almacenamiento congelado en combinación con huevo o grasa y presentó mejor comportamiento en el parámetro firmeza en combinación con grasa, y mejor aún con leche.

La leche, colaboró en el mantenimiento de los valores del volumen específico y firmeza hasta 7 días de almacenamiento congelado, cuando se combinó con grasa.

Cuando se requiere almacenar en congelación las masas estudiadas, se sugiere utilizar combinaciones entre grasa, leche o soja.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BADUI DERGAL S. (2006) *Química de los Alimentos* (4ta ed.). México. Editorial Pearson, ISBN 970-26-0670-5. Cap 12-13, pp 605-645.
- CARR L.G y Tadini, C.C. (2003). Influence of yeast and vegetable shortening on physical and textural parameter of frozen part baked French bread. *Food Science Technology*, 36(6), 609-614.
- CICLITIRA, P.; Ellis H.; Lundin, K. (2005). "Gluten-Free diet-what is toxic?" *Best Practice y Research clinical gastroenterology*. 19(3), 359-371.
- FRANCISCHI, M.L., Ormenese, R.C.S., Pizzinatto, A. (1998). Tecnologia de produção de pães a partir de massas congeladas. *Ciência Tecnol. Aliment.* 32(2), 209-214.
- GIANNOU, V., & Tzia, G. (2007). Frozen dough bread: quality and textural behaviour during prolonged storage-prediction of final product characteristics. *Journal of Food Engineering*. 79(3), 929-934.
- HAVET, M., Mankai M., Le Bail A. (2000). Influence of the freezing condition on the baking performance of French frozen dough. *Journal of Food Engineering*. 45(3), 139-145.
- HOSOMI, K.; Nishio, K. y Matsumoto, H. (1992). Studies on frozen dough baking. I. Effects of egg yolk and sugar ester. *Cereal Chemistry*. 69, 82-92.
- McCarthy DE, Gallagher E, Gormley TR, Schober TJ, Arendt EK. (2005). Application of response surface methodology in the development of gluten-free bread. *Cereal Chemistry*. 82(5), 609-615.
- MEZAIZE S., Chevallier S, Le Bail A., Lamballerie M. (2010). Gluten-free frozen dough: Influence of freezing on dough rheological properties and bread quality. *Food Research International*. 43(8), 2186-2192.
- MILDE, L.B.; Cabral, F.A. y Ramirez R. (2014). Efecto del almacenamiento congelado sobre panificado de fécula de mandioca: propiedades físicas, texturales y sensoriales. *Ciencia y Tecnología*. 21, 33-39.
- MILDE, L.B.; Ramallo L.A. y Puppo M.C. (2012). Gluten-free Bread Based on Tapioca Starch: Texture and Sensory Studies. *Food Bioprocess Technol.* 5(3), 888-896.

- MILDE, L.B., Valle Urbina, C.; Rybak, A.; Oliveira, C. y González, K. (2009). Metodología de Superficie de Respuesta para optimizar Panificado Libre de Gluten con Grasa, Huevo y Leche. *Ciencia y Tecnología*. 11(11), 55-58.
- PHIMOLSIRIPOL Y., Siripatrawan U., Tulyathan V., Cleland D.J. (2008). Effects of freezing and temperatura fluctuations during frozen storage on frozen dough and bread quality. *Journal of Food Engineering*. 84(1), 48-56.
- SCHAMNE C.; Deboni Dutcosky S.; Demiate I.M. (2010). Obtention and characterization of gluten-free baked products. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 30(3), 741-750.
- SIMMONS, A.L; Smith, K.B; Vodovotz, Y. (2012). Soy ingredients stabilize bread dough during frozen storage. *Journal of Cereal Science*. 56(2), 232-238.

7. TABLAS Y FIGURAS

TABLA 1. Valores medios y desvíos estándares de mediciones de parámetros físicos de panes frescos y provenientes de masas congeladas a 7 y 14 días

Combinación Aditivos	Tiempo (días)	Propiedades físicas *	
		Ve (cm ³ /g)	%PP
HL	0	1,99±0,04 ^a	10,08±0,27 ^a
	7	1,69±0,07 ^b	11,71±0,34 ^b
	14	1,63±0,03 ^b	11,15±0,33 ^b
SL	0	1,93±0,01 ^a	5,93±0,06 ^a
	7	1,74±0,07 ^b	12,19±1,75 ^b
	14	1,78±0,08 ^b	13,65±1,65 ^b
GL	0	1,98±0,04 ^a	7,65±0,42 ^a
	7	2,02±0,02 ^a	10,60±1,23 ^b
	14	1,79±0,08 ^b	10,73±0,25 ^b
GH	0	1,92±0,02 ^a	10,37±0,06 ^a
	7	1,38±0,10 ^b	10,30±0,26 ^a
	14	1,42±0,16 ^b	10,97±0,02 ^b
GS	0	2,41±0,06 ^a	12,07±0,06 ^a
	7	1,84±0,16 ^b	10,72±0,59 ^b
	14	1,77±0,04 ^b	11,19±0,02 ^b
HS	0	2,68±0,09 ^a	11,05±0,36 ^a
	7	1,52±0,06 ^b	10,68±1,07 ^a
	14	1,56±0,41 ^b	11,69±1,61 ^a

*Para cada combinación, diferentes letras supraíndices en la misma columna indican diferencias significativas entre los datos ($p < 0,05$). En negrita, no existen diferencias significativas entre los datos ($p > 0,05$).

TABLA 2. Valores medios y desvíos estándares de mediciones de parámetros texturales de panes frescos y provenientes de masas congeladas a 7 y 14 días

Comb. Aditivo	Tiempo (días)	Propiedades texturales *				
		f (N)	e (%)	c (%)	g (N)	m (N)
HL	0	106,86±3,97 ^a	94,19±0,47^a	73,42±0,33^a	78,45±3,12 ^a	73,89±2,81 ^a
	7	158,78±15,02 ^b	91,97±1,27^a	73,32±2,56^a	116,19±7,49 ^b	106,80±5,39 ^b
	14	173,23±25,89 ^b	92,09±1,95^a	70,12±2,63^a	121,02±13,51 ^b	111,56±14,07 ^b
SL	0	42,17±28,58 ^a	92,17±1,45^a	80,22±1,59 ^a	33,62±22,31 ^a	30,77±19,90 ^a
	7	120,16±25,98 ^b	92,19±0,95^a	72,09±1,04 ^b	86,66±19,17 ^b	79,91±17,76 ^b
	14	86,46±4,55 ^{ab}	93,19±0,68^a	68,68±1,22 ^c	56,18±5,00 ^{ab}	53,37±3,21 ^{ab}
GL	0	80,74±1,62 ^a	89,27±1,22^a	72,80±0,30 ^a	59,04±1,43 ^a	52,49±1,98 ^a
	7	99,26±11,37 ^a	92,00±3,69^a	78,07±5,61 ^{ab}	77,18±6,35 ^b	71,06±7,14 ^b
	14	127,36±16,58 ^b	91,30±2,35^a	80,67±1,36 ^b	102,62±12,15 ^c	93,53±9,46 ^c
GH	0	176,05±18,52 ^a	81,12±1,42 ^a	54,74±6,32 ^a	96,97±20,34 ^a	78,53±15,61 ^a
	7	311,49±8,86 ^b	89,00±1,84 ^b	74,78±4,83 ^b	232,79±13,47 ^b	207,32±15,61 ^b
	14	338,48±32,30 ^b	85,75±2,24 ^b	70,69±2,18 ^b	239,69±29,18 ^b	205,87±29,06 ^b
GS	0	30,04±3,54 ^a	91,93±1,99^a	73,13±1,34 ^a	22,00±2,98 ^a	20,18±2,29 ^a
	7	156,26±17,87 ^b	91,49±1,39^a	76,10±1,52 ^b	118,76±11,68 ^b	108,55±9,05 ^b
	14	107,10±5,14 ^c	92,29±0,81^a	77,17±0,33 ^b	82,65±4,06 ^c	76,28±3,79 ^b
HS	0	31,65±5,37 ^a	92,39±0,95^a	72,91±0,40 ^a	23,07±3,83 ^a	21,31±3,51 ^a
	7	124,92±7,47 ^b	92,82±0,62^a	78,93±0,44 ^b	98,60±5,99 ^b	91,5±4,95 ^b
	14	339,50±41,45 ^c	91,57±0,95^a	73,75±0,67 ^a	73,75±0,67 ^c	229,24±27,68 ^c

*Para cada formulación, diferentes letras supraíndices en la misma columna indican diferencia significativa entre los datos ($p < 0,05$).

En negrita, no existen diferencias significativas entre los datos ($p > 0,05$).

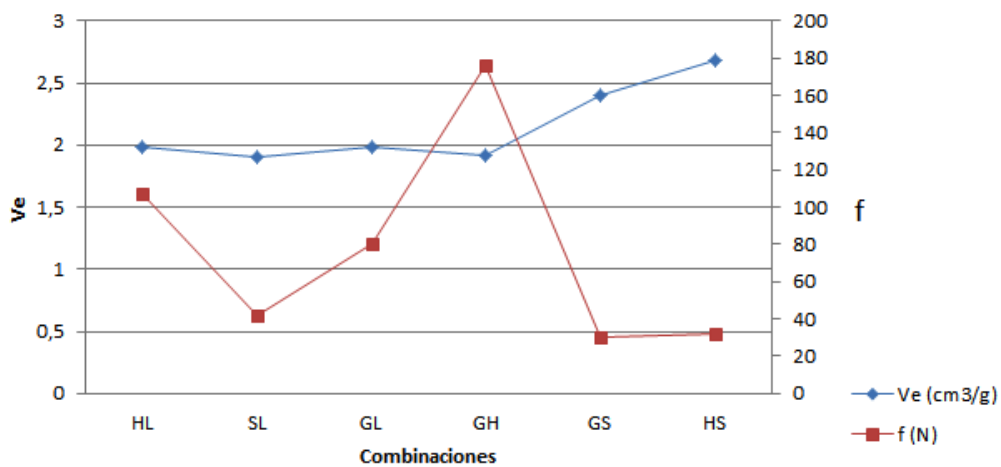


FIGURA 1. Análisis de Ve y f de las combinaciones ensayadas en panes frescos

REVALORIZACIÓN DE HORTALIZAS SUBUTILIZADAS: CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN DE HOJAS DE REMOLACHA Y SU POTENCIAL COMO FUENTE DE COMPUESTOS BENEFICIOSOS PARA LA SALUD

María Verónica Fernández^{1,3}, Rosa Jagus¹, María Victoria Agüero^{1,2}

1. RESUMEN

En los últimos años, se ha despertado el interés en la revalorización de hortalizas subutilizadas como fuente de compuestos beneficiosos para la salud. En Argentina, uno de los productos hortícolas que genera mayor cantidad de desperdicios es la remolacha. El objetivo de este trabajo fue caracterizar y evaluar el potencial nutricional de hojas de remolacha (HR) como etapa previa al desarrollo de procesos de revalorización. Se realizó un relevamiento donde se observó que las HR representan entre 25 y 75 % de la masa cosechada. A su vez, se demostró que este subproducto presenta contenidos de nutrientes y de compuestos fitoquímicos del orden, o ligeramente superiores, de los informados para otros vegetales de hoja de consumo habitual, destacándose por sus altos contenidos en proteínas, grasas, fibra alimentaria, hierro y su elevada capacidad antioxidante (70 %RSC). La vida útil, establecida sensorialmente, resultó de 9 días para las muestras almacenadas a 25 °C y de 28 días para las almacenadas a 5 °C. Este trabajo evidencia que las HR son fuente de nutrientes y fitoquímicos de alto valor. A su vez, es posible mantener una buena calidad mediante el correcto manejo y almacenamiento, posibilitando la recuperación de este recurso subutilizado para pasar a gestionarlo como producto alimenticio, con los múltiples beneficios que esto conlleva.

CONTACTO: María V. Fernández mveronicafernandez@hotmail.com

1. Laboratorio de Microbiología Industrial: Tecnología de Alimentos (FIUBA), C.A.B.A., Argentina.

2. CONICET.

3. PERUILH (FIUBA).

2. INTRODUCCIÓN

La producción y procesamiento de hortalizas genera una importante cantidad de subproductos que en muchos casos son desechados o subutilizados. Este es uno de los principales problemas de la actividad hortícola y sus industrias derivadas. En algunos casos, estos subproductos pueden llegar a representar hasta el 75 % del material cosechado (1) y cuando son desechados sin tratar, constituyen un serio problema de contaminación ambiental. La gestión y tratamiento de residuos suele ser realmente costosa. Esto ha incrementado el interés en la búsqueda de distintas opciones de valorización (2). Tradicionalmente los subproductos hortícolas han sido aprovechados como alimento para el ganado, como fertilizante o como combustible (1). Sin embargo, estos usos no aprovechan completamente el potencial de estos subproductos (2). En los últimos años, se ha despertado el interés en la revalorización de hortalizas subutilizadas como fuente de compuestos de alto valor (3, 4), principalmente de aquellos beneficiosos para la salud (5,6,7,8,9,10,11). Entre estos compuestos, se destacan los polifenoles, que basan su acción beneficiosa para la salud principalmente en su actividad antioxidante. Estudios epidemiológicos correlacionan la ingesta de los mismos con una menor incidencia de enfermedades crónicas, tales como la enfermedad cardiovascular, la diabetes y el cáncer (12). Los polifenoles o sus metabolitos modulan la expresión génica, la regulación epigenética, la señalización celular, la inflamación, la función antioxidante, la desintoxicación y la función inmunológica (11). Entre los fitonutrientes, los pigmentos vegetales presentan interés tecnológico no sólo por sus propiedades como colorantes sino que, en los últimos años, se han estudiado sus propiedades nutricionales. Las betalaínas son pigmentos nitrogenados solubles en agua, que se dividen en dos subclases: betacianinas (pigmentos de color rojo-violeta) y betaxantinas (pigmentos de color amarillo-naranja) (13). Se han demostrado sus efectos antimicrobianos y antivirales (14), y su capacidad de inhibir la proliferación celular de las células tumorales humanas (15,16). Respecto de las clorofilas y sus derivados, también se han demostrado importantes funciones beneficiosas para la salud, dada su actividad anti-mutagénica, anticancerígena y antiinflamatoria (17). Los carotenoides, por su parte, son sumamente importantes por su función biológica como pro-vitamina A. Además, se ha informado que tienen notable actividad antioxidante (18).

Adicionalmente, se han relacionado con la reducción del riesgo de desarrollar enfermedades degenerativas como el cáncer, las enfermedades cardiovasculares, las cataratas y la degeneración macular (17,19).

En Argentina, uno de los productos hortícolas que genera mayor cantidad de desperdicios es la remolacha. Aunque en sus orígenes esta hortaliza fue cultivada para el consumo de las hojas, actualmente esta porción de la planta constituye un subproducto de desecho, representando un alto porcentaje de la masa cosechada. La raíz de la remolacha aporta importantes nutrientes como folatos, polifenoles, carotenoides, betacianinas, betaxantinas, y otros fitonutrientes(20). Las hojas podrían presentar también altos contenidos de estos nutrientes. Por lo tanto, es necesaria su caracterización como etapa previa al estudio de opciones de revalorización. Al proyectar la revalorización de un subproducto vegetal uno de los principales desafíos se relaciona con la estabilización de los mismos y la aplicación de tratamientos de conservación que permitan prolongar su vida útil el tiempo suficiente para su procesamiento, distribución y comercialización. Teniendo en cuenta estos antecedentes, el objetivo de este trabajo fue caracterizar y evaluar el potencial nutricional de hojas de remolacha, y determinar su vida útil en distintas condiciones de almacenamiento, como etapa previa al desarrollo de procesos de revalorización.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

MATERIAL VEGETAL

Se utilizaron hojas de remolacha (*Beta vulgaris* L. var. conditiva) obtenida de productores del cinturón hortícola metropolitano, Escobar. La materia prima fue cosechada y trasladada al Laboratorio en contenedores refrigerados, en la primera hora post-cosecha. Se realizó un corte para descartar las raíces, y se almacenaron las hojas (HR) según requerimientos de cada ensayo.

COMPOSICIÓN PROXIMAL

Para este estudio las hojas de remolacha fueron previamente liofilizadas. Se determinó el contenido de hidratos de carbono (HC), cenizas (Cz), proteínas (Pr), grasas totales (GT), fibra alimentaria (FA), hierro (Fe), zinc (Zn), calcio (Ca) y valor energético (VE). Todas las determinaciones fueron realizadas según metodologías de la AOAC (21).

RELEVAMIENTO DE CALIDAD INICIAL

Se realizó un relevamiento en 12 muestras de HR obtenidas de distintos productores de Escobar. Se estudió: rendimiento en hojas luego de separar raíces; contenido de humedad mediante secado en estufa a 80 ± 2 °C hasta peso constante por metodología AOAC-934.01(21); calidad sensorial: con 4 panelistas evaluando calidad visual general (OVQ) con escala hedónica de 9 puntos, siendo las descripciones para el puntaje 9: Óptima, fresca, 5: Límite de aceptación, 1: Completamente rechazable; calidad nutricional medida a través de capacidad antioxidante (%RSC) mediante metodología DPPH, polifenoles totales (PT) mediante metodología Folin-Ciocalteu, contenido de betacianinas (Bc) y betaxantinas (Bx) con método espectrofotométrico según (22); contenido de clorofila total (CT) y carotenos (C), por metodología AOAC 942.04 (23) y según (24), respectivamente; calidad microbiológica: mediante recuento de bacterias aerobias mesófilas (en agar para recuento total (PCA, Biokar-Diagnostics, Francia) luego de 48 hs a 37 °C); bacterias psicróticas (en PCA luego de 5 días a 5 °C); bacterias lácticas (agar ManRogosaSharpe (MRS, BiokarDiagnostics, Francia) con doble capa, luego de 3 días a 37 °C); enterobacterias (agar bilis rojo neutro cristal violeta lactosa (VRBL, Merck) con doble capa, luego de 48hs a 37 °C); mohos y levaduras (agar extracto de levadura-glucosa-cloramfenicol (YGC, Biokar-Diagnostics, Francia) luego de 72 hs a 28 °C); y *Listeria* spp. (agar Oxford (Biokar-Diagnostics, France) luego de 48 hs a 37 °C).

EVOLUCIÓN DE LOS INDICADORES NUTRICIONALES DURANTE ALMACENAMIENTO

Para este ensayo se trabajó con un pool de HR proveniente de uno de los productores de Escobar. Las muestras fueron almacenadas a temperatura ambiente (25 ± 1 °C), en representación de las condiciones actuales de manejo de estos subproductos, y en condiciones de refrigeración comercial (5 ± 1 °C). Se tomaron muestras por duplicado de cada una de las condiciones a distintos tiempos de almacenamiento, y se estudió la evolución de compuestos fitoquímicos (PT, Bc, Bx, CT y C) y capacidad antioxidante. En paralelo, se analizó la calidad visual general (OVQ) de las muestras con la finalidad de determinar el fin de la vida útil, establecida cuando las muestras presentaron puntajes de OVQ iguales o menores a 5 (límite de aceptación). Para todas las determinaciones se emplearon las metodologías descriptas en 2.3. Los resultados se informaron como porcentaje de retención al fin de la vida útil respecto de los valores encontrados al inicio del almacenamiento.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

COMPOSICIÓN PROXIMAL

La composición proximal de las hojas de remolacha estudiadas se presenta en la Tabla 1, estos valores resultan dentro del rango de los encontrados en otros vegetales de hoja tales como espinaca, lechuga, repollo y rúcula, según referencias informadas en la base de datos de la USDA (25). La hoja de remolacha se destaca por sus altos contenidos en proteínas, grasas, fibra alimentaria y hierro, que se encuentran en la cota superior de dicho rango. Por lo tanto, constituyen un recurso que podría aprovecharse como fuente de nutrientes.

RELEVAMIENTO

Los resultados del relevamiento indicaron un rendimiento en hojas entre 25 y 75 % de la masa cosechada, en promedio, de $51.83 \pm 20.13\%$. Esta alta variabilidad se debe a la diversidad de material analizado. Muestras con bulbos pequeños presentaron un mayor rendimiento en hojas, mientras que muestras con bulbos más desarrollados presentaron un rendimiento menor. De cualquier manera, estos valores son muy altos, por lo que su desecho supone una pérdida valiosa de recursos, biomasa y nutrientes. La humedad promedio resultó de $88.16 \pm 0.75\%$. Todas las muestras presentaron una calidad visual por encima del límite de aceptación con un promedio de 7.6 ± 0.5 . No se alcanzó el puntaje óptimo debido principalmente a la presencia de manchas y decoloraciones en algunas de las muestras analizadas. Los valores encontrados para %RSC, PT y C (Tabla 2), resultaron ser ligeramente superiores a los reportados para lechuga y otros vegetales de hoja de consumo habitual, tales como la espinaca, el repollo y la escarola (26,27,28,29,30). Los valores de CT se encuentran en el rango de los reportados para lechuga y repollo (29,30). Los contenidos de Bc y Bx (Tabla 2) resultaron casi 10 veces menores a los presentes en raíz de la remolacha (31). Sin embargo, resultan de gran importancia debido a sus reconocidos efectos biológicos, especialmente teniendo en cuenta que otros vegetales de hoja no son fuente de estos nutrientes. La carga micobiana inicial evaluada en HR presentó poblaciones y niveles similares a los encontrados típicamente en otros vegetales de hoja al momento de la cosecha (32,33), en el rango de 1.8-4.6 log UFC.g⁻¹.

Estos estudios indican que las hojas de remolacha presentan concentraciones de fitoquímicos similares o mayores a otros vegetales de hoja de consumo habitual y calidad microbiológica adecuada, resultados prometedores ante un proyecto de revalorización.

EVOLUCIÓN DE LOS INDICADORES NUTRICIONALES DURANTE EL ALMACENAMIENTO

La vida útil, establecida sensorialmente, resultó de 9 días para las muestras almacenadas a 25 °C y de 28 días para las almacenadas a 5 °C. En la Tabla 4 se presentan los valores de retención de los distintos indicadores nutricionales evaluados a fin de vida útil para cada condición de almacenamiento bajo estudio. Adicionalmente, para el almacenamiento refrigerado, se presentan los resultados al día 9 con el objetivo de comparar las retenciones de los indicadores nutricionales con las muestras almacenadas a 25 °C. Independientemente de la temperatura de almacenamiento, se observó una disminución de los indicadores a lo largo del almacenamiento. Sin embargo, los valores de retención de los indicadores nutricionales fueron altamente dependientes de la temperatura. Luego de 9 días, las muestras almacenadas a temperatura ambiente lograron retener sólo el 1.4 % de su capacidad antioxidante inicial. En el mismo período de tiempo, las muestras refrigeradas retuvieron el 61 % y al fin de su vida útil sensorial (28 días) lograron retener el 36 % de su capacidad antioxidante inicial. Tanto el contenido de PT como el de CT y C se vieron considerablemente disminuidos durante los 9 días de almacenamiento a temperatura ambiente, disminución que se refleja en la cabal pérdida de capacidad antioxidante observada para estas condiciones. Para el almacenamiento en refrigeración, CT presentó un comportamiento acorde con la evolución de la de capacidad antioxidante, mientras que para el caso de PT y C se observó una mayor retención en el tiempo (75 y 60 % a fin de vida útil). Kevers *et al.* (34) estudiaron la evolución de la capacidad antioxidante y de los compuestos fenólicos (CF) de distintas verduras y vegetales durante su almacenamiento refrigerado. Para todos los vegetales estudiados, excepto espinaca, encontraron un alto grado de correlación entre CF y %RSC ($R=0.891$), sugiriendo que esto indicaría que la mayoría de los compuestos antioxidantes serían fenólicos. Además observaron que %RSC se mantuvo estable durante el almacenamiento, excepto en espinaca, puerro y brócoli donde la pérdida fue >50 % luego de 19, 23 y 27 días a 4 °C, respectivamente. Estos investigadores informaron que, en

general, tanto las frutas como las verduras almacenadas en refrigeración se deterioran visualmente previamente a cualquier pérdida significativa de capacidad antioxidante. Las Bc y Bx resultaron más estables que los otros fitoquímicos estudiados, esto se observó especialmente en el almacenamiento refrigerado, donde a los 28 días aún se conservaban alrededor del 90 % de los pigmentos betalaínicos iniciales. Resultados similares respecto de la estabilidad de estos pigmentos fueron observados por Sánchez *et al.* (35), quienes trabajaron con extractos de raíz de remolacha almacenados a distintas temperaturas: 4, 25 y 68 °C. Observaron que para un tiempo de permanencia en anaquel de 90 días a 4 °C, el extracto de remolacha no sufría alteraciones significativas respecto de su valor inicial, con una merma de sólo 2.8 %; por el contrario, a 68 °C el producto sufría una significativa merma del orden del 50 % de la concentración inicial. Esto concuerda con otros estudios realizados sobre el comportamiento de betalaínas que demuestran que su máxima estabilidad ocurre a bajas temperaturas, sea en refrigeración y/o congelación(36,37).

En base a estos resultados, y tal como era previsible, se observa una pérdida de calidad nutricional durante el almacenamiento, favorecida por el aumento de temperatura. Las condiciones actuales de almacenamiento, distribución y comercialización, que suelen ser a temperatura ambiente, no favorecen el mantenimiento de la calidad. Estas condiciones deben ser mejoradas para aprovechar al máximo el potencial del producto.

4. CONCLUSIONES

Los resultados del relevamiento indican que la pérdida actual de biomasa es importante, llegando a valores promedio superiores al 50 %. A su vez, se ha demostrado que las hojas de remolacha constituyen una fuente de nutrientes y fitoquímicos de alto valor. Adicionalmente, se concluye que es posible mantener los atributos de calidad y extender la vida útil de esta materia prima, mejorando las condiciones de manejo durante el almacenamiento, distribución y comercialización del producto. Conocer las características de este material vegetal, que hoy en día es considerado un residuo, abre la posibilidad de revalorizarlo, para gestionarlo como un subproducto de utilidad, obteniendo un beneficio desde el punto de vista económico y medioambiental, y destacando que su consumo podría acarrear amplios beneficios para la salud humana.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue financiada con fondos de la UBA y la ANPCyT. Los autores agradecen especialmente la colaboración de la EEA INTA AMBA a través del proyecto BANOR-12715012, del CONICET y de la Fundación Peruilh, FIUBA.

5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. LLORACH R, Espín de Gea JC, Tomás Barberán F, Ferreres F. Aprovechamiento y gestión de subproductos de e industrialización de hortalizas. Posible uso como compuestos de interés para la salud. 2003.
2. BRAVO EM, Ginés JMF, editors. Aprovechamiento de subproductos de la industria agroalimentaria para la obtención de compuestos bioactivos. Retos medioambientales de la industria alimentaria; 2012: Instituto Tomás Pascual para la Nutrición y la Salud.
3. SCHIEBER A, Stintzing F, Carle R. By-products of plant food processing as a source of functional compounds—recent developments. *Trends in Food Science & Technology*. 2001;12(11):401-13.
4. O'SHEA N, Arendt EK, Gallagher E. Dietary fibre and phytochemical characteristics of fruit and vegetable by-products and their recent applications as novel ingredients in food products. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 2012;16:1-10.
5. MOURE A, Cruz JM, Franco D, Dominguez JM, Sineiro J, Dominguez H, *et al.* Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry*. 2001;72(2):145-71.
6. LLORACH R, Espin JC, Tomás-Barberán FA, Ferreres F. Artichoke (*Cynara scolymus* L.) byproducts as a potential source of health-promoting antioxidant phenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2002;50(12):3458-64.
7. LLORACH R, Espín JC, Tomás-Barberán FA, Ferreres F. Valorization of cauliflower (*Brassica oleracea* L. var. botrytis) by-products as a source of antioxidant phenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2003;51(8):2181-7.
8. BALASUNDRAM N, Sundram K, Samman S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*. 2006;99(1):191-203.
9. ANDARWULAN N, Batari R, Sandrasari DA, Bolling B, Wijaya H. Flavonoid content and antioxidant activity of vegetables from Indonesia. *Food Chemistry*. 2010;121(4):1231-5.

10. WIJNGAARD HH, Rößle C, Brunton N. A survey of Irish fruit and vegetable waste and by-products as a source of polyphenolic antioxidants. *Food Chemistry*. 2009;116(1):202-7.
11. ANDARWULAN N, Kurniasih D, Apriady RA, Rahmat H, Roto AV, Bolling BW. Polyphenols, carotenoids, and ascorbic acid in underutilized medicinal vegetables. *Journal of Functional Foods*. 2012;4(1):339-47.
12. LIMA GPP, Vianello F, Corrêa CR, da Silva Campos RA, Borguini MG. Polyphenols in Fruits and Vegetables and Its Effect on Human Health. *Food and Nutrition Sciences*. 2014;5(11):1065.
13. CORIA CAYUPÁN YS, Ochoa MJ, Nazareno MA. Health-promoting substances and antioxidant properties of *Opuntia sp.* fruits. Changes in bioactive-compound contents during ripening process. *Food Chemistry*. 2011;126(2):514-9.
14. STRACK D, Vogt T, Schliemann W. Recent advances in betalain research. *Phytochemistry*. 2003;62(3):247-69.
15. REDDY MK, Alexander-Lindo RL, Nair MG. Relative inhibition of lipid peroxidation, cyclooxygenase enzymes, and human tumor cell proliferation by natural food colors. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2005;53(23):9268-73.
16. RAVICHANDRAN K, Saw NMMT, Mohdaly AA, Gabr AM, Kastell A, Riedel H, *et al.* Impact of processing of red beet on betalain content and antioxidant activity. *Food Research International*. 2013;50(2):670-5.
17. FERRUZZI MG, Blakeslee J. Digestion, absorption, and cancer preventative activity of dietary chlorophyll derivatives. *Nutrition Research*. 2007;27(1):1-12.
18. BÖHM V, Puspitasari-Nienaber NL, Ferruzzi MG, Schwartz SJ. Trolox equivalent antioxidant capacity of different geometrical isomers of α -carotene, β -carotene, lycopene, and zeaxanthin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2002;50(1):221-6.
19. KRINSKY NI, Johnson EJ. Carotenoid actions and their relation to health and disease. *Molecular aspects of medicine*. 2005;26(6):459-516.
20. Figiel A. Drying kinetics and quality of beetroots dehydrated by combination of convective and vacuum-microwave methods. *Journal of Food Engineering*. 2010;98(4):461-70.
21. Horwitz WE. *Official Methods of Analysis*. 17 ed. Washington, DC 1997.
22. MOßHAMMER MR, Stintzing FC, Carle R. Cactus pear fruits (*Opuntia spp.*): A review of processing technologies and current uses. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*. 2006;8:1-25.
23. KELRICH K. *Official methods of analysis*. Arlington, VA: Association of Official Analytical Chemists/AOAC. 1990.

24. SCOTT KJ. Detection and measurement of carotenoids by UV/VIS spectrophotometry. Current protocols in food analytical chemistry. 2001.
25. U.S. Department of Agriculture ARS. USDA National Nutrient Database for Standard Reference. Release 26. 2013.
26. LIU X, Ardo S, Bunning M, Parry J, Zhou K, Stushnoff C, *et al.* Total phenolic content and DPPH radical scavenging activity of lettuce (*Lactuca sativa* L.) grown in Colorado. LWT-Food Science and Technology. 2007;40(3):552-7.
27. ROY MK, Takenaka M, Isobe S, Tsushida T. Antioxidant potential, anti-proliferative activities, and phenolic content in water-soluble fractions of some commonly consumed vegetables: Effects of thermal treatment. Food Chemistry. 2007;103(1):106-14.
28. LLORACH R, Martínez-Sánchez A, Tomás-Barberán FA, Gil MI, Ferreres F. Characterisation of polyphenols and antioxidant properties of five lettuce varieties and escarole. Food Chemistry. 2008;108(3):1028-38.
29. CORIA-CAYUPÁN YS, Sánchez de Pinto MaI, Nazareno MnA. Variations in bioactive substance contents and crop yields of lettuce (*Lactuca sativa* L.) cultivated in soils with different fertilization treatments. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2009;57(21):10122-9.
30. LEFSRUD M, Kopsell D, Wenzel A, Sheehan J. Changes in kale (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*) carotenoid and chlorophyll pigment concentrations during leaf ontogeny. Scientia horticultrae. 2007;112(2):136-41.
31. Stintzing FC, Carle R. Betalains—emerging prospects for food scientists. Trends in Food Science & Technology. 2007;18(10):514-25.
32. Ponce A, Agüero M, Roura S, Del Valle C, Moreira M. Dynamics of indigenous microbial populations of butter head lettuce grown in mulch and on bare soil. Journal of Food Science. 2008;73(6):M257-M63.
33. MAFFEI DF, Silveira NFdA, Catanozi MdPLM. Microbiological quality of organic and conventional vegetables sold in Brazil. Food Control. 2013;29(1):226-30.
34. KEVERS C, Falkowski M, Tabart J, Defraigne J-O, Dommès J, Pincemail J. Evolution of antioxidant capacity during storage of selected fruits and vegetables. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2007;55(21):8596-603.
35. SÁNCHEZ JG, Bernabé NS, Bernabé PS. Efecto de la temperatura y luminosidad sobre la estabilidad de las betalainas obtenidas de "betarraga". SCIÉENDO. 2013;13(2).
36. HERBACH KM, Maier C, Stintzing FC, Carle R. Effects of processing and storage on juice colour and betacyanin stability of purple pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) juice. European Food Research and Technology. 2007;224(5):649-58.

37. HERBACH KM, Rohe M, Stintzing FC, Carle R. Structural and chromatic stability of purple pitaya (*Hylocereus polyrhizus*[Weber] Britton & Rose) betacyanins as affected by the juice matrix and selected additives. Food research international. 2006;39(6):667-77.

7. TABLAS Y FIGURAS

TABLA 1. Composición proximal de hoja de remolacha

COMPONENTE	HOJA DE REMOLACHA
Hidratos de carbono (g/100g)	1.03±0.09
Cenizas (g/100g)	1.48±0,01
Proteínas (g/100g)	2.47±0,03
Grasas totales (g/100g)	0.79±0,03
Fibra alimentaria (g/100g)	2.93±0,03
Hierro (mg/100g)	2.54±0,01
Zinc (mg/100g)	0.41±0,02
Calcio (mg/100g)	52.50±0.73
Valor energético (Kcal/100g)	21.14±0.04

TABLA 2. Indicadores nutricionales de hoja de remolacha

PARÁMETRO	RESULTADO	REFERENCIAS*
Capacidad antioxidante (%RSC)	70.91 ± 13.54	56 ⁽²⁶⁾ - 70 ⁽²⁷⁾
Polifenoles totales (mg AG/g tejido seco (TS))	30.58 ± 7.92	22 ⁽²⁸⁾ - 25 ⁽²⁶⁾
Clorofila total (mg/100g TS)	696.09 ± 123.27	386 ⁽²⁹⁾ - 2160 ⁽³⁰⁾
Carotenos (mg/100g TS)	247.91 ± 38.76	77 ⁽³⁰⁾ - 231 ⁽²⁹⁾
Betacianinas (mg/100g TS)	155.48 ± 51.25	-
Betaxantinas (mg/100g TS)	243.70 ± 50.65	-

* Valores promedio según lo informado en cada trabajo.

TABLA 3. Recuentos microbiológicos iniciales de hoja de remolacha

Grupo microbiano	Log UFC/g
Bacterias lácticas	1,86±0,69
Bacterias psicrótrofas	4,63±0,79
Enterobacterias	2,74±0,81
Mohos y levaduras	3,63±0,33
<i>Listeria</i> spp.	2,89±1,03
Bacterias mesófilas	4,17±0,59

TABLA 4. Evaluación de indicadores nutricionales en HR almacenada a distinta temperatura

RETENCIONES EN INDICADORES NUTRICIONALES (% DE RETENCIÓN)			
PARÁMETRO	T° AMBIENTE (25 °C)	T° REFRIGERACIÓN (5 °C)	
Días	9	9	28
Capacidad antioxidante	1.4	61.02	35.8
Polifenoles totales	17.5	88.34	75.1
Clorofila total	17.86	66.27	36.5
Carotenos	29.35	75.98	60.44
Betacianinas	39.87	100	87.6
Betaxantinas	45.2	97.32	90.56

ANÁLISIS DE LA CALIDAD DE SNACKS OBTENIDOS A PARTIR DE MANZANAS VERDES E ISOMALT

María José Tavera-Quiroz¹, Marina Urriza¹, Adriana Pinotti^{1,2}, Nora Bertola¹

1. RESUMEN

En el presente trabajo se analizaron las características físicas, químicas y sensoriales de *snacks* obtenidos a partir de manzanas verdes utilizando isomalt como azúcar de bajo índice glucémico, con menor aporte de calorías (2 Kcal/g) y no cariogénico. La solución de impregnación formulada con 20 % de isomalt y 10 % de maltodextrina dio como resultado el *snack* de manzana con mayor aceptabilidad en los atributos evaluados (color, sabor ácido, dulzor, textura). Para el *snack* obtenido con esta formulación el contenido de calcio fue de 25,1 mg/100 g_{cenizas} y el contenido de ácido ascórbico de 27 mg/g_{ms} mostrando valores superiores a los de la manzana fresca. Los *snacks* con isomalt presentaron valores de T_g más altos respecto al control horneado. Este producto podría ser una buena alternativa para mantener una dieta rica en calcio y antioxidantes como la vitamina C, sin agregar calorías a la dieta. Las isotermas de adsorción mostraron un patrón de comportamiento resistente a la higroscopicidad en las regiones de baja actividad acuosa. Resultados similares se encontraron para la textura (pérdida de crocancia) y la T_g.

2. INTRODUCCIÓN

Los polioles presentan ventajas potenciales sobre la sacarosa como ingredientes de alimentos, ya que producen una respuesta glucémica baja, siendo aptos para

CONTACTO: María José Tavera-Quiroz majotaqui83@gmail.com

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

2. Facultad de Ingeniería, UNLP, 47 y 116, La Plata (1900) Argentina.

diabéticos (Martínez-Cervera *et al.*, 2014). Además, son no cariogénicos ya que son escasamente metabolizados por los microorganismos orales (Ghosh y Sudha, 2012) y aportan menos calorías que la sacarosa. Olinger y Velasco (1996) sustituyendo el azúcar en productos horneados con lactitol, maltitol, isomalt, sorbitol y polidextrosa, describieron cambios favorables en la propagación de la reacción de Maillard. La isomaltulosa (6-O-0-D-glucopiranosil-D-fructofuranosa) se utiliza en varios productos alimenticios como un edulcorante nutritivo no cariogénico. Iso-malt, producido por la reducción de la isomaltulosa, es una mezcla equimolar de OD-glucopiranosil-1, 6-D-sorbitol y OD-glucopiranosil-1, 6-D-manitol. Una propiedad importante de isomalt es su capacidad para no absorber agua hasta alcanzar valores de actividad acuosa mayores que 0,85.

Las frutas constituyen un grupo de alimentos que actualmente recibe mucha atención de la población debido a sus propiedades saludables. Tienen un alto valor funcional y nutricional, son alimentos ricos en fibra, minerales, vitaminas y terpenos (Peinado *et al.*, 2013).

En este estudio se desarrolló un *snack* crocante a base de manzana verde con la adición de isomalt y maltodextrina y se evaluaron los cambios físicos, químicos y las propiedades sensoriales. Además se investigó la estabilidad del *snack* durante el almacenamiento y el acondicionamiento a diferentes humedades relativas. Un *snack* a base de fruta e isomalt puede ser una alternativa de consumo para aquellas personas que buscan disminuir su ingesta diaria de calorías y/o para diabéticos.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

PREPARACIÓN DEL SNACK

Las manzanas *Granny Smith* fueron cortadas en rodajas de 2 ± 0.2 mm de espesor y 35 ± 1 mm de diámetro. Las muestras se sumergieron en una solución de lactato de calcio (grado alimenticio, Jungbunzlauer) al 2,5 % (p/v) durante 2 min y luego fueron sometidas a escaldado con vapor. Los discos de manzana obtenidos se sumergieron en soluciones acuosas de isomalt (I; Palatinit) y maltodextrina (M; grado alimenticio, Parafarm) al 30 % (p/v) y 2 % (p/v) de ácido ascórbico.

Los *snacks* se obtuvieron en un horno de convección forzada Multiequip HCE-3 a 140 °C durante 30 min. A los *snacks* obtenidos a partir de cada una de las formulaciones de I:M (1:1, 1:2 y 2:1) se les denominó Iso A, Iso B, Iso C, respectivamente.

ANÁLISIS DE LOS SNACKS OBTENIDOS CON LAS DISTINTAS FORMULACIONES DE I:M

La humedad se cuantificó mediante secado a vacío a 70 °C hasta pesada constante.

Para evaluar la textura se utilizó un texturómetro TA-XT2i (Stable Micro Systems Ltd., Reino Unido) utilizando una sonda semi-esférica de 5 mm de diámetro a una velocidad constante de 1 mm/s hasta la ruptura. El color superficial de las muestras se determinó con un colorímetro Minolta CR400 (Japón), obteniéndose los parámetros a^* y b^* y L^* . Se calculó el Índice de Pardeamiento (BI) que representa el color marrón (Jalae *et al.* 2011).

Las propiedades térmicas de cada uno de los *snacks* obtenidos y de la fruta fresca se determinaron a través de un DSC TA Instruments Q100 (USA) a 10°/min entre -70 °C y 200 °C.

Evaluación sensorial

Un panel no entrenado de 50 miembros fue seleccionado entre consumidores habituales de *snacks*. Los atributos analizados fueron aceptabilidad general, color, textura, dulzor y sabor ácido usando una escala hedónica de 9 puntos para cada uno. Además, se pidió a los consumidores indicar la puntuación de cada muestra en una escala de 1 (no me gusta) a 9 (me gusta).

ANÁLISIS DE LAS PROPIEDADES FUNCIONALES DEL SNACK SELECCIONADO

Determinación del contenido de calcio

El contenido de calcio se determinó a partir de las cenizas usando un espectrofotómetro de absorción atómica AA 6200 (Shimadzu, Japón).

Contenido de carbohidratos y ácido ascórbico análisis por HPLC

La determinación del contenido de carbohidratos (glucosa, fructosa, sacarosa, isomalt) se realizó por HPLC en un equipo Waters modelo R-414 (Malasia) con detectores UV y de IR (índice de refracción) utilizando una columna amino iMicrosorb R0086700 (KNAUER, Alemania).

Para la determinación de ácido ascórbico (AA) se usó una columna C18 RP 5 mm de 150 mm-4.6 mm (WAT 045905, Irlanda) siguiendo un procedimiento de elución isocrática con detección a 245 nm.

Determinación de la capacidad antioxidante por DPPH

El análisis de la actividad antioxidante se llevó a cabo por el método de DPPH (Tavera-Quiroz *et al.*, 2014). Dos gramos de cada muestra, previamente congelado en nitrógeno líquido fueron triturados y mezclados con etanol bajo agitación constante; para realizar las mediciones se utilizó el sobrenadante obtenido de la centrifugación de la mezcla. Los resultados obtenidos se expresaron como % de inhibición del radical DPPH por la muestra analizada (I%).

Isotermas de sorción

Las isotermas de sorción se realizaron a 10, 20, 40 °C para el *snack* seleccionado. 1 g de *snack* se equilibró en diferentes atmósferas de LiCl, MgCl², K²CO³, NaCl, KCl y K²SO⁴, las cuales dan humedades relativas (RH) de 11, 33, 44, 75, 85 y 97 %, respectivamente. Una vez que las muestras alcanzaron el equilibrio se determinó el contenido de humedad, actividad acuosa, textura y propiedades térmicas. El modelo de GAB fue utilizado para correlacionar los datos obtenidos de las isotermas de adsorción.

Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza (ANAVA) utilizando el programa Systat. Para los ensayos de comparación de medias se empleó el test LSD con $P < 0,05$. Análisis de componentes principales (PCA) se realizó con el software de versión 2009 Infostat (Córdoba, Argentina).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las propiedades fisicoquímicas de los *snacks* obtenidos se muestran en la Tabla 1. Se puede observar que el control horneado sin ningún tratamiento presenta un contenido de humedad aprox. 8 % (base seca). Después de los tratamientos previos con I: M, la humedad se redujo en promedio a 1,9 % (base seca). Los parámetros de color mostraron un menor desarrollo de caramelización en los *snacks* comparados con el control. Teniendo en cuenta el alto valor de BI obtenido para el control, se infiere que los pre-tratamientos tuvieron un efecto protector sobre el tejido de la manzana sometido a altas temperaturas. La Figura 1 muestra las curvas de fuerza-deformación para el control y el *snack* Iso C. Para el *snack* se observó una pen-

diente más abrupta y una curva conformada por varios picos de ruptura. El control mostró un patrón similar de fuerza pero con una curva suavizada sin la aparición de múltiples picos de ruptura. Múltiples caídas de la fuerza se relacionan con la crocancia (Vincent, 1998).

ANÁLISIS DE LAS PROPIEDADES TÉRMICAS

Para la manzana fresca se encontró un valor de T_g de $-40\text{ }^\circ\text{C}$. A partir de los termogramas se obtuvo un valor de $11\text{ }^\circ\text{C}$ para el control y 75 , 102 y $68\text{ }^\circ\text{C}$ para Iso A, B y C. Estos resultados se correlacionaron con el contenido de humedad de las muestras. El uso de isomalt en combinación con maltodextrina llevó a obtener un producto más estable a temperatura ambiente, desplazando la T_g del *snack* a valores más altos y ampliando el rango de humedad relativa en la que puede mantener su calidad en términos de textura.

CONTENIDO DE ÁCIDO ASCÓRBICO (AA)

Los valores obtenidos de AA antes y después del horneado fueron: $1,07\text{ mgAA/g}_{\text{ms}}$ y $0,16\text{ mgAA/g}_{\text{ms}}$ para el control y un promedio de $53,5\text{ mgAA/g}_{\text{ms}}$ y $25\text{ mgAA/g}_{\text{ms}}$ para los *snacks*. La adición de AA a los discos de manzana promovió efectos beneficiosos ya que el porcentaje de AA retenido en los *snacks* fue aproximadamente un 50 % más que para la fruta horneada sin tratamiento. Una porción de 20 g de *snack* formulado con isomalt cubriría requerimientos exigentes de AA según la Ingesta Diaria Recomendada (RDA).

ANÁLISIS SENSORIAL

Para todos los atributos analizados los *snacks* obtuvieron puntuaciones más altas en relación con los atributos del control horneado a $140\text{ }^\circ\text{C}$. Los panelistas otorgaron puntuaciones muy bajas a este control, debido al gran desarrollo de la reacción de caramelización (Figura 2 y Tabla 1). Por esta razón, la comparación también se llevó a cabo con los discos de manzana horneados a $100\text{ }^\circ\text{C}$ como un control secundario. Los panelistas no encontraron diferencias significativas entre los *snacks* evaluados ($p > 0,05$) (Tabla 2). Teniendo en cuenta que para todos los atributos los consumidores no encontraron diferencias y un mayor contenido de isomalt en la formulación mejoraría las propiedades higroscópicas, se seleccionó el *snack* Iso C para análisis posteriores.

PCA DE DATOS SENSORIALES E INSTRUMENTAL

Como se puede observar, PC1 y PC2 explican el 78 y 22 % de la varianza, respectivamente (Figura 3a). PC1 representa el 99 % de la apariencia, color y dulzura y 98 % de sabor ácido, mientras que PC2 corresponde 99 % de la textura. Iso C se ubicó a la derecha, lo que indica que este *snack* obtuvo la calificación más alta en los atributos evaluados. Dado que el control horneado a 140 °C recibió puntuaciones bajas en todos los atributos excepto en textura, su ubicación fue opuesta a los *snacks*. En la Figura 3b se observa la relación entre los parámetros instrumentales y los *snacks*. El control se interpretó mejor en términos de humedad, a^* y a_w mientras que todos los *snacks* se ubicaron opuestos a estos atributos.

ANÁLISIS DE LAS PROPIEDADES FUNCIONALES DEL SNACK ISO C

El contenido de calcio del *snack* Iso C resultó ser de $216,5 \pm 5 \text{ mg}_{\text{Ca}} / 100\text{g}_{\text{ms}}$. Los valores obtenidos para el contenido de carbohidratos fueron $0,20 \text{ g}_{\text{isomalt}} / \text{g}_{\text{ms}}$, $0,17 \text{ g}_{\text{fructosa}} / \text{g}_{\text{ms}}$, $0,06 \text{ g}_{\text{glucosa}} / \text{g}_{\text{ms}}$ y $0,02 \text{ g}_{\text{sacarosa}} / \text{g}_{\text{ms}}$. Los resultados obtenidos por DPPH demostraron una alta actividad antioxidante que corresponde a una reducción del 95 % de DPPH radical para una concentración de 80,5 mg/ ml del extracto.

El contenido de humedad del *snack* Iso C aumentó continuamente durante el período de almacenamiento y el contenido de AA permaneció constante hasta 120 días.

ISOTERMA DE SORCIÓN

Las isotermas de adsorción se correspondieron con el tipo III, característico de materiales con alto contenido de azúcar (Romano *et al.*, 2014), mostrando un patrón de comportamiento resistente en regiones de baja a_w (Figura 4). Las curvas no mostraron diferencias significativas para 10, 20 y 40 °C. Una vez que el *snack* alcanzó la humedad de equilibrio se evaluó la textura en cada HR. Como puede verse en la Figura 5, cuando se alcanzó el 44 % de HR, el *snack* perdió la calidad en términos de textura. Con el aumento de HR, los picos de fusión se desplazaron hacia temperaturas más altas y se obtuvieron mayores valores de entalpía (Figura 6a). Además, se observó una ligera disminución de la T_g (Figura 6b). Estos resultados se correlacionaron con las curvas de textura, lo que indica que un colapso de la estructura se produjo como consecuencia de la absorción de agua por los *snacks* durante el almacenamiento.

5. CONCLUSIONES

Se desarrolló un *snack* a partir de manzana con buenas propiedades en términos de textura, color y sabor con la adición de calcio, maltodextrina e isomalt, sin grasa o sodio añadido y con buena aceptación por parte de los consumidores. La presencia de isomalt permitió el horneado a altas temperaturas durante un corto tiempo sin detrimento de la calidad organoléptica y nutricional. Este es un producto innovador dado que aún no se ha utilizado isomalt en la formulación de *snacks*.

6. REFERENCIAS

- GHOSH, S., Sudha, M. L. (2012). A review on polyols: new frontiers for health-based bakery products. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 63(3), 372–379.
- JALAEI, F., Fazeli, A., Fatemian, H., Tavakolipour, H. (2011). Mass transfer coefficient and the characteristics of coated apples in osmotic dehydrating. *Food and Bioprocess Processing*, 89, 367–374.
- MARTÍNEZ-CERVERA, S., Salvador, A., Sanz, T. (2014). Comparison of different polyols as total sucrose replacers in muffins: Thermal, rheological, texture and acceptability properties. *Food Hydrocolloids*, 35 (2014) 1-8.
- OLINGER, P.M., Velasco, V.S. (1996). Opportunities and advantages of sugar replacement. *Cereal Foods World*, 41 (3), 110-117.
- PEINADO I., Rosa E., Heredia A., Escriche, I., Andrés A. (2013) Influence of processing on the volatile profile of strawberry spreads made with isomaltulose. *Food Chemistry*, 138, 621–629.
- ROMANO, N., Tavera-Quiroz, M.J., Bertola, N., Mobili, P., Pinotti, A., Gómez-Zavaglia, A. (2014). Edible methylcellulose-based films containing fructo-oligosaccharides as vehicles for lactic acid bacteria.
- FOOD RESEARCH INTERNATIONAL, 64, 560–566.
- TAVERA-QUIROZ, M.J., Urriza, M., Pinotti, A., Bertola, N. (2014). Development and characterization of a baked snack from rings of green apples. *Food and Bioprocess Technology*, 7, 2218-2227.
- VINCENT, J. F. (1998). The quantification of crispness. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 78, 162–168.

7. TABLAS Y FIGURAS

TABLA 1. Propiedades físicas de los *snacks* obtenidos por horneado a 140 °C

Snack	Humedad (g _{agua} /100g _{ms})	Fuerza máxima en la ruptura (N)	L	a*	b*	BI
Control 140 °C	7.75b	0.95a	52.04b	10.53c	27.48c	86.42d
Iso A	2.21a	1.25a	66.01a	2.31a	20.83a	42.52a
Iso B	1.89a	2.04b	59.56a	0.78b	15.27b	29.56b
Iso C	1.78a	1.04a	64.91a	3.03a	21.60a	39.19c

^{a,b} Letras diferentes indican diferencias significativas

TABLA 2. Resultados obtenidos de la evaluación sensorial para los *snacks* y el control obtenidos por horneado y el control

SNACK	ACEPTABILIDAD	SABOR ÁCIDO	DULZOR	COLOR	TEXTURA	PUNTAJE
Control 140 °C	2.4c	2.3c	2.1c	1.2b	6.8a	1.4c
Iso A	6.2a	5.9a	5.5a	6.6a	7.1a	6.8a
Iso B	6.5a	6.5a	5.9a	6.5a	7.0a	7.0a
Iso C	6.8a	6.3a	6.3a	6.8a	7.0a	7.1a
Control 100 °C	5.8b	5.4b	6.4a	6.4a	4.7b	5.7b

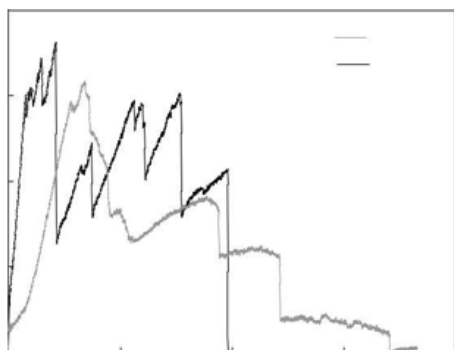


FIGURA 1. Curvas de textura del snack Iso C y control a 140 °C



FIGURA 2. a) Control y Snacks horneados con I: M: b) Iso A, c) Iso b, d) Iso C

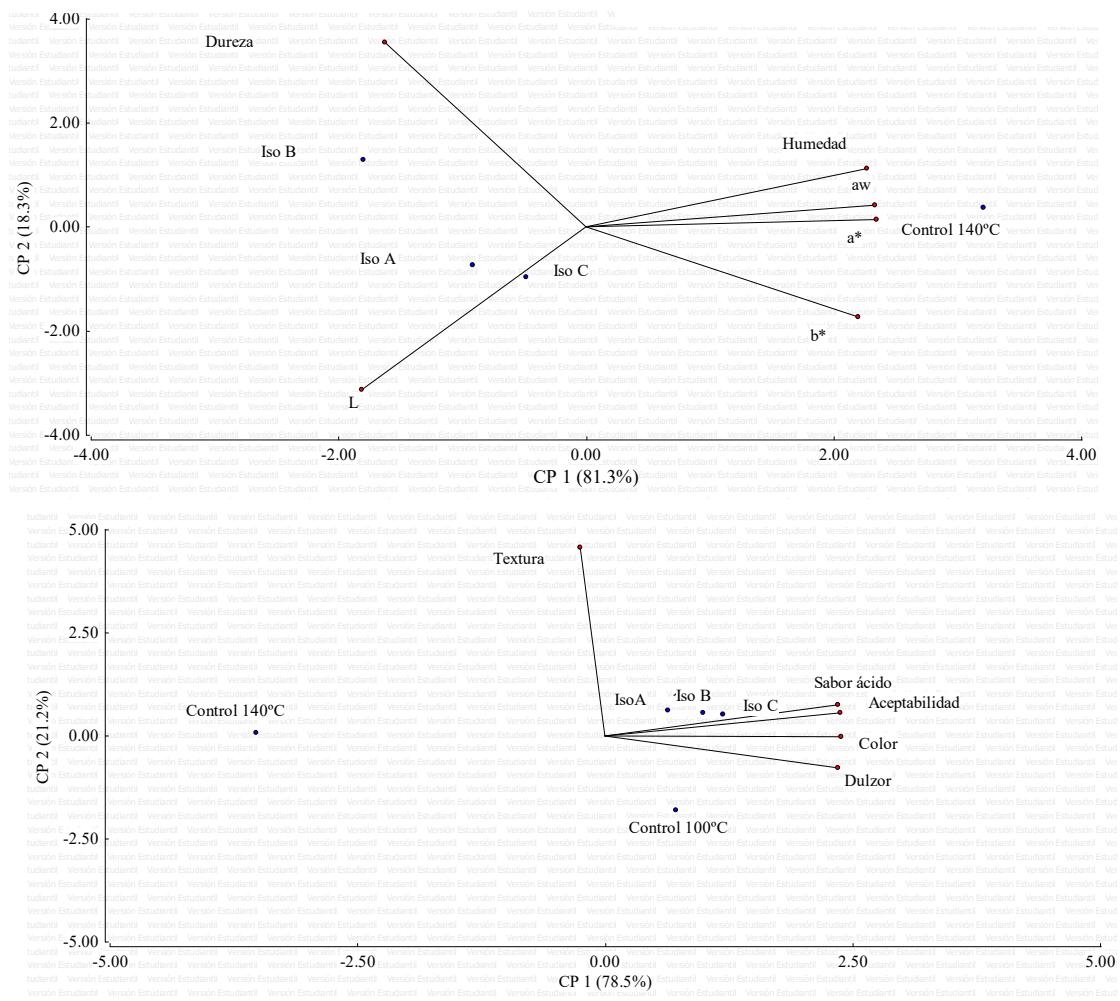


FIGURA 3. Análisis de componentes principales (PCA) de: a) parámetros sensoriales y b) parámetros instrumentales utilizados para snacks tratados con diferentes I:M

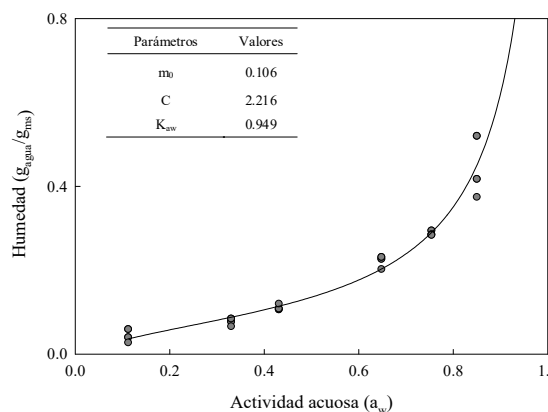


FIGURA 4. Isotherma de sorción del snack Iso C, a 10, 20 y 40 °C. Datos predichos por el modelo de GAB (—)

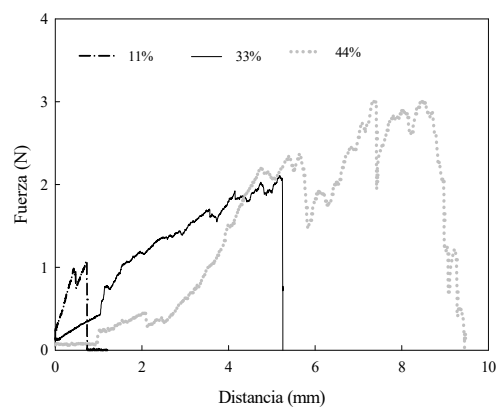


FIGURA 5. Curvas de fuerza-distancia del snack Iso C acondicionado a diferentes HR

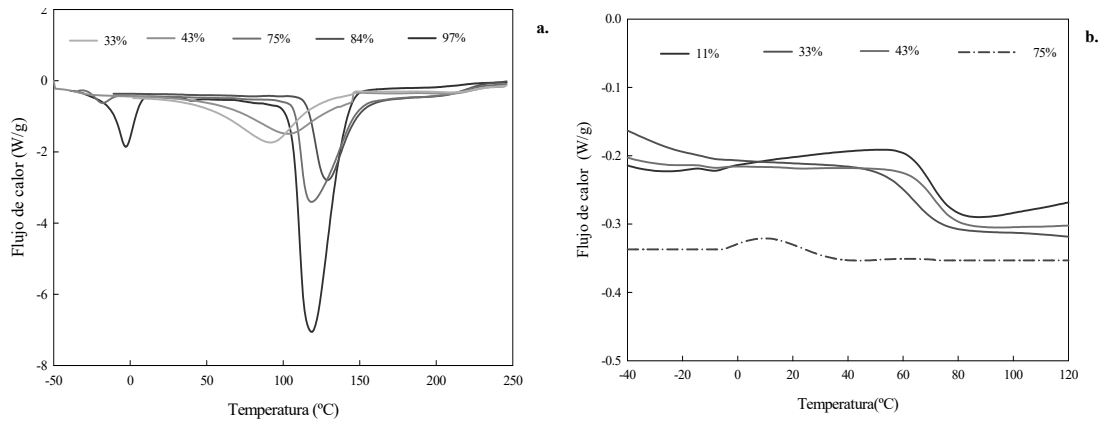


FIGURA 6. Termogramas de DSC del snack acondicionado a distintas HR: a) Entalpía de fusión obtenidas en el primer scan; b) Temperaturas de transición vítrea obtenidas del 2º scan.

PRESERVACIÓN DE *LACTOBACILLUS DELBRUECKII* SUBSP. *BULGARICUS* Y *LACTOBACILLUS PLANTARUM* EN PELÍCULAS BIODEGRADABLES DE METILCELULOSA

Nelson Romano¹, María José Tavera-Quiroz¹, Nora Bertola¹, Pablo Mobili¹,
Adriana Pinotti^{1,2}, Andrea Gómez-Zavaglia¹

1. RESUMEN

La metilcelulosa (MC) es un polímero derivado de la celulosa utilizado en la industria farmacéutica y alimentaria debido a su inocuidad, bajo costo y capacidad de aumentar la viscosidad de soluciones acuosas. Es capaz de formar películas con buenas propiedades mecánicas y baja permeabilidad al oxígeno y al vapor de agua. Se estudiaron películas de MC como soporte de bacterias ácido lácticas con la incorporación de fructooligosacáridos (FOS) como prebiótico. Dos especies de bacterias: *L. plantarum* CIDCA 83114 y *L. delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* CIDCA 333 se incorporaron a matrices de MC. Se analizó la viabilidad celular hasta 105 días de almacenamiento. Las propiedades térmicas se obtuvieron por calorimetría diferencial de barrido (DSC) y análisis dinámico mecánico (DMA). Se evaluó la estabilidad de las películas y la viabilidad de las cepas a distintas humedades a través de una isoterma de absorción a 4 °C. El efecto protector de los FOS se puso de manifiesto a través del aumento de la viabilidad de la cepa de mayor sensibilidad (*L. delbrueckii* subsp. *Bulgaricus*). Las temperaturas de transición vítrea (T_g) obtenidas por DMA mostraron valores entre 160 y 180 °C, lo que confirma que los polímeros con alta T_g tienen una buena capacidad protectora de la célula bacteriana. Las isotermas se modelaron con las ecuaciones de GAB y de Iglesias –Chirife. Con el aumento de la actividad de agua se observó la disminución de la viabilidad bacteriana. A valores

CONTACTO: María José Tavera-Quiroz majotaqui83@gmail.com

1. Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecología de Alimentos (CIDCA), CONICET La Plata, Facultad de Ciencias Exactas.

2. Facultad de Ingeniería, UNLP, 47 y 116, La Plata (1900) Argentina.

inferiores al 33 % de humedad relativa, la cepa con mayor estabilidad durante los 105 días de almacenamiento fue el *L. plantarum*. El uso de películas de MC con la adición de FOS resultó ser una forma útil para preservar cepas de interés en la industria alimentaria.

2. INTRODUCCIÓN

La importancia de las bacterias ácido lácticas y los probióticos en la industria alimentaria y farmacéutica pone de manifiesto la necesidad de estrategias de preservación que garanticen una viabilidad adecuada hasta el final de la vida útil del producto. Por lo tanto, la incorporación de estos microorganismos en películas comestibles permitiría aumentar su resistencia a la deshidratación y almacenamiento. Las películas cargadas con probióticos se han utilizado como recubrimientos de alimentos para aprovechar los efectos beneficiosos de los microorganismos y ampliar la vida útil de diferentes productos (López de Lacey *et al.*, 2012). La metilcelulosa (MC) es un polímero de bajo costo, comestible (Li *et al.*, 2002), con buenas propiedades como agente formador de películas que ha dado lugar a aplicaciones farmacéuticas y alimentarias (Bodvik *et al.*, 2010). Sin embargo, la obtención de películas de MC implica procesos de calentamiento y secado, por lo que bacterias ácido-lácticas sensibles como *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* podrían resultar dañadas. El papel de los fructooligosacáridos (FOS) como protectores bacterianos en los procesos de deshidratación ha sido estudiado en los últimos años (Golowczyk *et al.*, 2011). Las propiedades estructurales y mecánicas de las películas de MC han sido analizadas, entre otros, por Tavera-Quiroz *et al.* (2013).

Sin embargo, la incorporación de FOS en películas de MC no ha sido objeto de estudio. En este trabajo, se estudiaron películas de MC cargadas con dos cepas de lactobacilos: *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* CIDCA 333 y *L. plantarum* CIDCA 83114. La elección de *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* CIDCA 333 se debe a que se trata de una cepa sensible ante cualquier proceso de conservación (Tymczyszyn *et al.*, 2012) y la de *L. plantarum* CIDCA 83114 a que inhibe el crecimiento y/o la actividad de *Escherichia coli* O157:H7, *Shigella* y *Salmonella* (Golowczyk *et al.*, 2011; Kakisu *et al.*, 2013). Se investigó además el efecto de los FOS agregados en las películas de MC considerando tanto la viabilidad bacteriana como las propiedades fisicoquímicas de las películas obtenidas.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

PREPARACIÓN DE LAS SOLUCIONES FILMOGÉNICAS

Para la preparación de la solución filmogénica, 1,5 g de MC A4M (Methocel, Dow Chemical Co, U.S.A) se dispersaron en 50 ml de agua destilada a 80 °C bajo agitación constante. Luego se completó hasta un volumen total de 100 ml con agua destilada fría y se mantuvo bajo agitación hasta que alcanzó temperatura ambiente. Se agregó sorbitol (ANEDRA, Francia) 0,25 % p/v como plastificante (Tavera-Quiroz *et al.*, 2013). Los FOS (Orafti Beneo p95, Alemania) se incorporaron a la solución en concentraciones de 0 (control), 1, 2, 3 y 5 % p/v. La solución se esterilizó con filtros de 0,2 micras.

CEPAS Y CONDICIONES DE CRECIMIENTO BACTERIANO

L. delbrueckii subsp. *bulgaricus* CIDCA 333 y *L. plantarum* CIDCA 83114, aisladas de leches fermentadas (Garrote *et al.*, 2001; Gómez-Zavaglia *et al.*, 1999), se inocularon en caldo MRS a 37 y 30 °C en aerobiosis, respectivamente. 100 ml de cultivo fue obtenido por centrifugación y lavado con NaCl 0,85 % p/v.

PREPARACIÓN DE LAS PELÍCULAS CARGADAS CON BACTERIAS

Los extractos bacterianos se diluyeron en 25 ml de solución filmogénica para obtener $1,1 \times 10^{10}$ UFC/ml de *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y $2,7 \times 10^{12}$ UFC/ml de *L. plantarum*. 1,5 g de las soluciones de MC con y sin agregado de FOS, se dispersaron sobre placas de Petri (5 cm de diámetro) y se secaron en estufa de convección forzada a 40 °C. El espesor de las películas se determinó con un medidor de espesor DCN-900 (Nueva York, EE.UU.).

RECuento DE BACTERIAS VIABLES EN MEDIO SÓLIDO

50 mg de las películas de MC obtenidas con las distintas concentraciones de FOS fueron rehidratados en 5 ml de NaCl 0,85 % p/v. Las suspensiones se sembraron en agar MRS. Las placas que contenían *L. plantarum* se incubaron a 30 °C durante 24 h en aerobiosis (Golowczyc *et al.*, 2011), y las placas con *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* a 37 °C durante 48 h en aerobiosis (Tymczyszyn *et al.*, 2012).

MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO

Las películas cargadas con bacterias se congelaron en nitrógeno líquido y se fracturaron. Las muestras fueron examinadas con un microscopio electrónico modelo Quanta 200 FEI (Holanda), sin ningún recubrimiento metálico con un voltaje de aceleración de 12,5 kV.

OBTENCIÓN DE LOS ESPECTROS DE FTIR

Los espectros de FTIR de las películas de metilcelulosa se registraron en modo transmisión en un espectrómetro Thermo Nicolet iS10 (Thermo Scientific, MA, EE.UU.). Los espectros se obtuvieron en el rango de 4000-400 cm^{-1} , promediando 64 escaneos a 4 cm^{-1} de resolución espectral.

PROPIEDADES TÉRMICAS DE LAS PELÍCULAS OBTENIDAS

Los análisis dinámico-mecánico (DMA) se realizaron en un equipo Q800 (TA Instruments, EE.UU.). El ensayo de barrido de frecuencia se realizó desde -100 a 220 °C. La temperatura de transición vítrea se determinó a través del punto de inflexión de la curva $\tan \delta$.

ISOTERMAS DE ADSORCIÓN DE AGUA Y ALMACENAMIENTO

Las películas con bacterias fueron equilibradas a 4 °C en atmósferas de: LiCl, MgCl₂, K₂CO₃, NaCl, KCl cuyas humedades relativas (HR) fueron 11, 33, 44, 75, 85 y 97 %, respectivamente. El contenido de humedad de las películas se determinó a 105 °C hasta peso constante. Las películas se almacenaron durante 90 días a 4 °C. La viabilidad se determinó cada 15 días.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico se realizó con Systat-software (SYSTAT, Inc., Evanston, IL, EE.UU.). Se realizaron análisis de varianza (ANOVA), regresiones lineales y pruebas de comparación de LSD Fisher. El nivel de significación utilizado fue 0,05.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

EFFECTO DE LOS FOS COMO COMPUESTOS PROTECTORES

La preparación de películas con bacterias incorporadas incluye dos pasos potencialmente dañinos para los microorganismos: el efecto osmótico de la solución filmogénica y la deshidratación debido al secado. El efecto de los FOS sobre la viabilidad se analizó mediante la inclusión de diferentes concentraciones en la solución filmogénica. La deshidratación dio lugar a una disminución en la viabilidad de *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* CIDCA 333 en ausencia de FOS. El aumento de la concentración de FOS tuvo un efecto protector hasta el 3 % p/v, mientras que no se observó una mejoría a concentraciones más altas (5 % p/v) (Figura 1A). *L. plantarum* CIDCA 83114 mostró una resistencia intrínseca mayor ante el proceso de deshidratación. En la Figura 1B se observa que no hubo diferencias significativas para las diferentes concentraciones de FOS cuando se estudió su viabilidad.

ANÁLISIS ESTRUCTURAL DE LAS PELÍCULAS CARGADAS CON BACTERIAS

La Figura 2 muestra las imágenes de microscopía electrónica de barrido. Ambas cepas bacterianas se ven completamente embebidas en la película de MC. La homogeneidad de las películas indica su integridad estructural, que no se ve afectada por la presencia de los microorganismos. Por otro lado, la morfología bacteriana no se alteró tras la incorporación en las películas de MC.

En la Figura 3 se muestran los espectros de FTIR de las películas de MC con y sin microorganismos. Se observó una banda a 3380 cm^{-1} en los tres espectros. Esta banda se puede atribuir al modo vibracional de todos los compuestos que tienen grupos OH (MC, sorbitol, FOS). Los grupos OH de los polisacáridos de las bacterias también contribuyen a la absorción de esta banda. En la región espectral correspondiente a 1750-1540 cm^{-1} , se observaron dos bandas débiles en el espectro de las películas de MC sin bacterias (Figura 3a). Estas bandas se pueden atribuir a pequeñas cantidades de agua atrapadas en la película. En la misma región, las películas cargadas con ambas bacterias mostraron dos bandas fuertes, en 1651 y 1547 cm^{-1} , correspondientes a las bandas amida I y II de proteínas (Figura 3b y c) (Gerbin *et al.*, 2011). En la región 1200-900 cm^{-1} las películas de MC absorben debido a la contribución de los enlaces glicosídicos C-O-C (en particular los de MC y FOS)

(Figura 3a) (Kizi *et al.*, 2002). Por otra parte, los puentes di-sulfuro (P-S-P) de las cadenas de ADN también absorben en esta región.

Las isotermas se modelaron con las ecuaciones de GAB y de Iglesias–Chirife (Tabla 1). Con el aumento de la actividad de agua se observó la disminución de la viabilidad bacteriana. A valores inferiores al 33 % de humedad relativa, la cepa con mayor estabilidad durante los 105 días de almacenamiento fue el *L. plantarum* (Figura 4a y b). Las películas con MC fueron analizadas por DMA con el fin de estudiar el efecto de los diferentes componentes en las propiedades térmicas. En la curva de $\tan \delta$ (Figura 5) se observan dos relajaciones, β y α . La relajación β en torno $-21\text{ }^{\circ}\text{C}$ es característica de polisacáridos. Otros autores consideran esta relajación β como una relajación típica del agua (Fernández-Carretero *et al.*, 2010). El segundo pico, relajación α , corresponde a la temperatura de transición vítrea (T_g). La incorporación de microorganismos en las películas de MC no tuvo efecto sobre la ubicación de la relajación β y T_g . En las muestras con FOS se observaron menores valores de T_g , tendencia que fue más evidente en presencia de FOS y bacterias simultáneamente. Estos resultados pueden ser explicados en relación con el mayor contenido de humedad de las muestras con FOS. De acuerdo a Park y Ruckenstein (2001) el cambio de la T_g demostraría la compatibilidad entre ambos FOS y MC, así como el efecto de plastificación de FOS.

ALMACENAMIENTO DE LAS PELÍCULAS CARGADAS CON BACTERIAS

Teniendo en cuenta que los FOS son buenos protectores bacterianos pero en altas concentraciones afectan la calidad de las películas de MC debido a su carácter higroscópico, la concentración de FOS fue seleccionada ponderando el efecto protector y la calidad de las películas. Por lo tanto, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* se incorporó a películas que contenían 3 % de FOS y *L. plantarum* a películas con 1 % de FOS. Aún cuando los FOS al 1 % p/v no tuvieron efectos sobre la supervivencia de la última cepa, se los incluyó considerando posibles aplicaciones en alimentos funcionales (efecto prebiótico). La Figura 6 muestra la evolución de $\log N/N^0$ durante el almacenamiento de las películas con bacterias a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ equilibradas a diferentes HR. *L. plantarum* mostró un mejor rendimiento tras el almacenamiento a 11, 33 y 44 % de humedad relativa (Figura 6b). A 33 y 44 % de HR, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* pudo ser almacenado hasta 15 días (Figura 6a). Al 75 % de HR, no se detectó viabilidad luego del tiempo de equilibrio. *L. plantarum* mostró viabilidad

hasta 75 % HR ($\log N/N_0: -2,05 \pm 0,25$), pero fue indetectable después de 15 días de almacenamiento. Por lo tanto, la incorporación de microorganismos en películas de MC que contienen FOS aparece como una buena estrategia para preservar y transportar bacterias lácticas, incluyendo aquellas que son altamente sensibles a la deshidratación y al almacenamiento. La capacidad de *L. plantarum* para sobrevivir en ambientes con mayor humedad relativa, juntos con sus propiedades inhibitorias permitiría la aplicación de películas con esta bacteria incorporada para la formulación de alimentos funcionales.

5. CONCLUSIONES

En este trabajo se analizó la capacidad de las películas de MC con FOS como vehículo para dos cepas de lactobacilos. Los resultados obtenidos mostraron que el desarrollo de este tipo de productos es una estrategia óptima para inmovilizar y almacenar probióticos en concentraciones compatibles con los requerimientos fijados por los organismos internacionales como la EFSA y la FDA. Además, esta estrategia permitiría potenciales aplicaciones de los microorganismos inmovilizados en el desarrollo de productos funcionales que contengan probióticos y prebióticos.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BODVIK, R., Dedinaite, A., Karlson, L., Bergström, M., Bäverbäck, P., Pedersen, J. S., Edwards, K., Karlsson, G., Varga, I., & Claesson, P. M. (2010). Aggregation and network formation of aqueous methylcellulose and hydroxypropylmethylcellulose solutions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 354, 162–171.
- CROWE, J. W., Hoekstra, F. A., & Crowe, L. M. (1992). Anhydrobiosis. *Annual Review of Physiology*, 54, 570–599.
- FERNANDEZ-CARRETERO, F. J., Riande, E., del Río, C., Sanchez, F., Acosta, J. L., & Compan, V. (2010). Preparation and characterization of hybrid membranes based on Nafion® using partially sulfonated inorganic fillers. *Journal of New Materials for Electrochemical Systems*, 13, 83–93.
- GARROTE, G. L., Abraham, A. G., & De Antoni, G. L (2001). Chemical and microbiological characterisation of kefir grains. *Journal of Dairy Research*, 68, 639–652.

- GERBINO, E., Mobili, P., Tymczyszyn, E., Fausto, R., & Gómez-Zavaglia, A. (2011). FTIR spectroscopy structural analysis of the interaction between *Lactobacillus kefir* S-layers and metal ions. *Journal of Molecular Structure*, 987, 186–192.
- GOŁOWCZYK, M., Silva, J., Teixeira, P., De Antoni, G., & Abraham, A. (2011). Cellular injuries of spray-dried *Lactobacillus* spp. isolated from kefir and their impact on probiotic properties. *International Journal of Food Microbiology*, 144, 556–560.
- GÓMEZ-ZAVAGLIA, A., Abraham, A., Giorgieri, S., & De Antoni, G. (1999). Application of polyacrylamide gel electrophoresis and capillary gel electrophoresis to the analysis of *Lactobacillus delbrueckii* whole-cell proteins. *Journal of Dairy Science*, 82, 870–877.
- IGLESIAS, H. A., & Chirife, J. (1981). An equation for fitting uncommon water sorption isotherms in foods. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 14, 105–106.
- KAKISU, E., Bolla, P., Abraham, A. G., de Urraza, P., & De Antoni, G. L. (2013). *Lactobacillus plantarum* isolated from kefir: Protection of cultured Hep-2 cells against *Shigella* invasion. *International Dairy Journal*, 33, 22–26.
- KIZIL, R., Irudayaraj, J., & Seetharaman, K. (2002). Characterization of irradiated starches by using FT-Raman and FTIR spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 3912–3918.
- LÓPEZ DE LACEY, A. M., López-Caballero, M. E., Gómez-Estaca, J., Gómez-Guillén, M. C., & Montero, P. (2012). Functionality of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* incorporated to edible coatings and films. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 16, 277–282.
- PARK, J. S., & Ruckenstein, E. (2001). Viscoelastic properties of plasticized methylcellulose and chemically crosslinked methylcellulose. *Carbohydrate Polymers*, 46, 373–381.
- TAVERA-QUIROZ, M. J., Lecot, J., Bertola, N., & Pinotti, A. (2013). Stability of methylcellulose-based films after being subjected to different conservation and processing temperatures. *Materials Science and Engineering: C*, 33, 2918–2925.
- TYMCZYSZYN, E. E., Sosa, N., Gerbino, E., Hugo, A., Gómez-Zavaglia, A., & Schebor, C. (2012). Effect of physical properties on the stability of *Lactobacillus bulgaricus* in a freeze-dried galacto-oligosaccharides matrix. *International Journal of Food Microbiology*, 155, 217–221.

7. TABLA Y FIGURAS

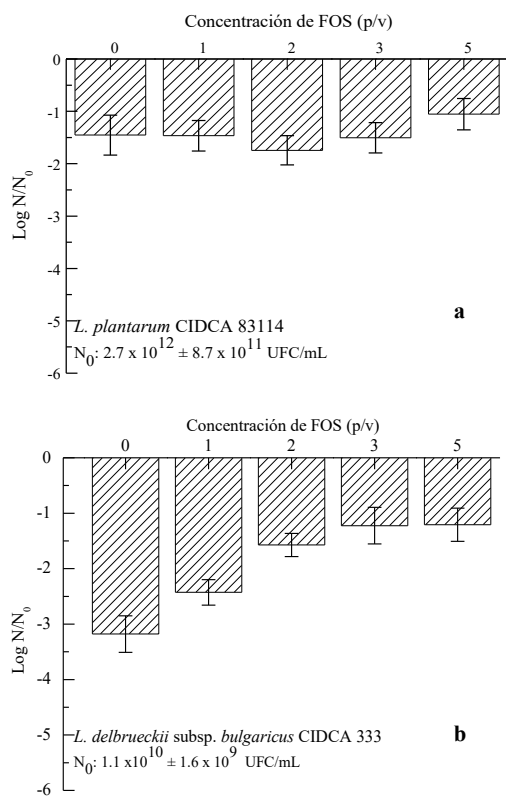


FIGURA 1. $\text{Log } N/N_0$ de microorganismos en películas de MC con distintas concentraciones de FOS. **a:** *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* CIDCA 333; **b:** *L. plantarum* CIDCA 83114

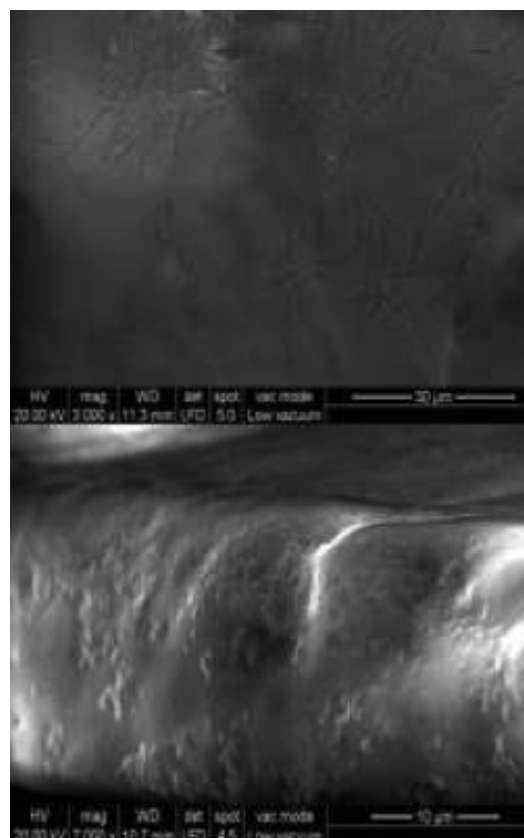


FIGURA 2. SEM de películas con: **a:** *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* CIDCA 333; **b:** *L. plantarum* CIDCA 83114

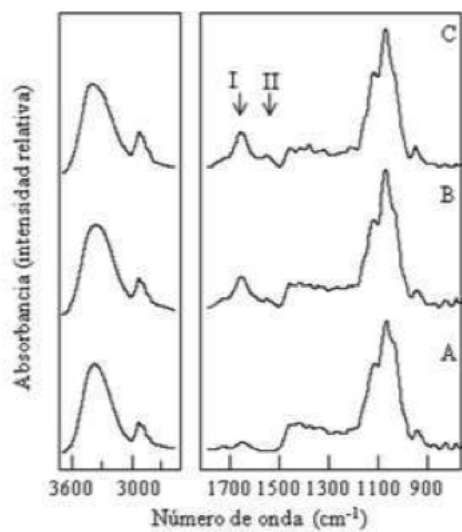


FIGURA 3. Espectro FTIR of: A: películas de MC ; B: con *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* CIDCA 333; C: con *L. plantarum* CIDCA 83114. I y II corresponden a las bandas de amida I y II.

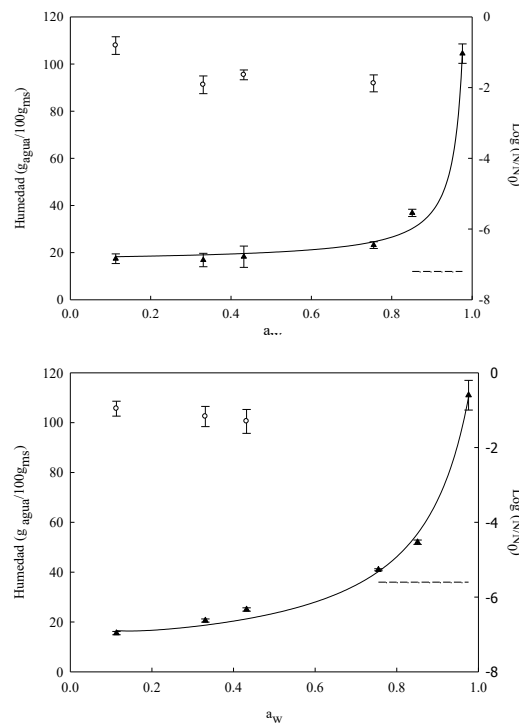


FIGURA 4. Humedad a 4 °C (\blacktriangle) y $\log N/N_0$ (\circ) en función de a_w . a: *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* CIDCA 333; b: *L. plantarum* CIDCA 83114. N corresponde a CFU/g película a cada a_w y N_0 , a CFU/g película después de la deshidratación. La línea punteada indica que $\log N/N_0 \leq -5$

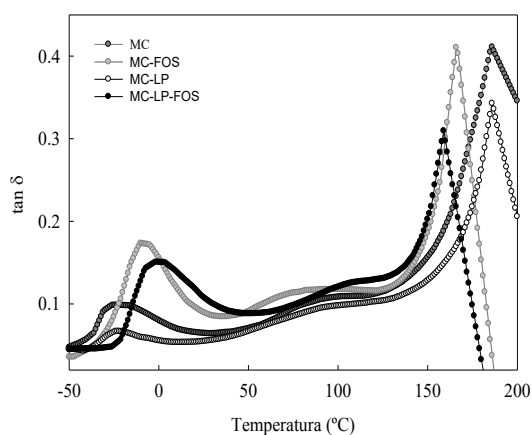


FIGURA 5. Efecto de la incorporación de FOS y/o bacterias sobre el espectro DMA de películas de MC

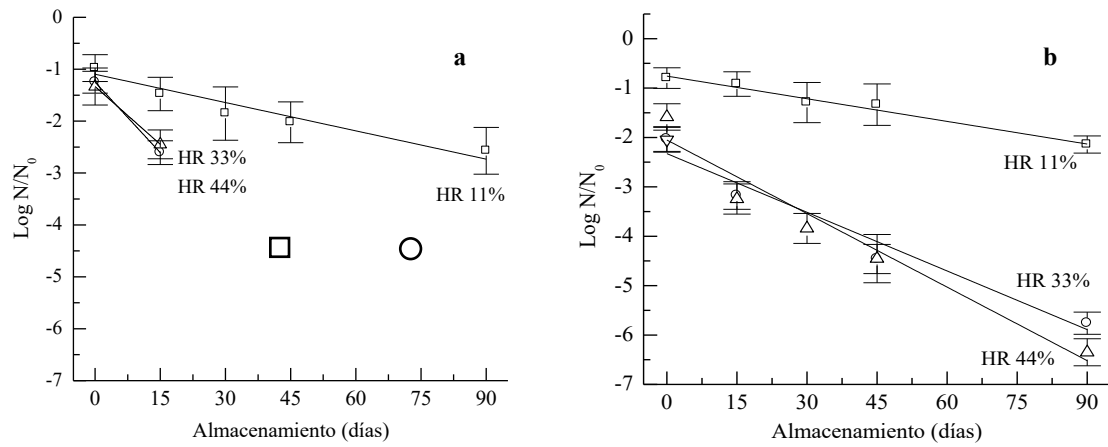


FIGURA 6. Log N/N₀ de microorganismos en películas de MC y almacenadas 90 días a 4 °C a distintas HR: 11 % (□), 33 % (○), 44 % (Δ). Las líneas sólidas muestran la regresión para cada condición. **a:** *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* CIDCA 333 en MC con 3 % FOS p/v; **b:** *L. plantarum* CIDCA 83114 en MC con 1 % FOS p/v

TABLA 1. Parámetros de las ecuaciones de GAB e Iglesias

PARÁMETROS DEL MODELO DE GAB			
M ₀	C	K _{aw}	R ²
12,56	-56,53	0,908	0,992
PARÁMETROS DEL MODELO DE IGLESIAS Y CHIRIFE			
A	B	R ²	
2,17	17,98	0,991	

ANÁLISIS DE LAS EMULSIONES OBTENIDAS EN MEDIO ÁCIDO A PARTIR DE SOLUCIONES DE BETA-LACTOGLOBULINA GLICOSILADA CON GLUCOSA

Griselda Ballerini^{1,2}, Luis Canna¹, Marta Ortega¹, Virginia Giordanengo¹

1. RESUMEN

Mediante la reacción de Maillard es posible conjugar beta-lactoglobulina (principal proteína del suero de leche) con carbohidratos reductores para formar compuestos glicosilados de beta-lactoglobulina. El objeto del presente trabajo fue analizar la estabilidad de las emulsiones obtenidas a partir de beta-lactoglobulinaglicosilada con glucosa a pH 5, 6 y 7. Para la reacción de Maillard se usó una mezcla de beta-lactoglobulina-glucosa (relación molar 1/100), mantenida a 50 °C, con humedad relativa de 65 % durante 80 h. Se obtuvo un valor promedio de 10,6 grupos aminos libres. La cromatografía de exclusión molecular mostró deformación del pico de beta-lactoglobulina-glucosa hacia compuestos de mayor peso molecular, en comparación con la muestra control. La estabilidad de las emulsiones al cremado se determinó por medidas turbidimétricas durante 24 h. La emulsión más estable resultó la obtenida a pH 6 ya que mostró la menor disminución en la turbidez al final del tiempo de ensayo.

2. INTRODUCCIÓN

Las proteínas contribuyen a las propiedades funcionales a través de su habilidad para construir o estabilizar emulsiones en alimentos (Foegeding *et al.*, (2002); Damodaran, 2005). Las emulsiones son dispersiones de dos líquidos inmiscibles, re-

CONTACTO: Griselda Ballerini gballerini@ciudad.com.ar

1. Centro de Investigación y Desarrollo en Tecnología de Alimentos (CIDTA). UTN. FRRo.

2. Área de Tecnología de los Alimentos. Departamento de Tecnología. Fac. Cs. Bioq y Farm. UNR.

sultando una fase continua y una fase dispersa en forma de gotas o glóbulos. En los alimentos estas fases son generalmente una fase acuosa y una lipídica, siendo esta última fase la que se encuentra dispersa en la mayoría de los casos (Wagner *et al.*, 2000). Las emulsiones requieren de energía para su formación y consecuentemente son termodinámicamente inestables. Aunque la desestabilización es un proceso inevitable que el sistema sufrirá en un cierto tiempo, las condiciones medioambientales y/o tratamientos previos de los agentes emulsificantes pueden ser investigados con el propósito de analizar la estabilidad de las emulsiones para mejorar su uso en la alimentación (Moro *et al.*, 2013). Los mecanismos físicos de la desestabilización incluyen: procesos gravitacionales (cremado o sedimentación), floculación, coalescencia de las gotas, maduración de Ostwald e inversión de fase (McClements, 1999). Para una emulsión aceite en agua, en condiciones de reposo, la más obvia manifestación inicial de inestabilidad es el cremado, el cual conduce a la separación de fases macroscópica en dos regiones identificables, (Dickinson, 1991; 2003). El suero de leche, líquido remanente después de la precipitación isoelectrica de caseínas, es una solución diluida de proteínas (aproximadamente 0,7 % en leche bovina), lactosa, sales, vitaminas y varios constituyentes a niveles de trazas (Thompson, 2008). La betalactoglobulina (β -LG) es la más abundante de las proteínas del suero de la leche de la mayoría de los mamíferos (aproximadamente 50 %). Numerosos trabajos han examinado la relación entre las propiedades funcionales de la β -LG y la reacción de Maillard (Herceg *et al.*, 2007; Jiménez-Castaño *et al.*, 2007; Medrano *et al.*, 2012; Moro *et al.*, 2011, Chevalier *et al.*, 2001b). Esta reacción, también conocida como glicosilación o pardeamiento no enzimático, se produce con frecuencia durante el procesamiento industrial y hogareño de los alimentos para la mejorar del color, aroma y sabor. Consiste en una condensación del azúcar reductor con el grupo ϵ -amino de los residuos lisina de las proteínas a través de la formación de iminas (base de Schiff) y el posterior reordenamiento de Amadori. Bien controlada la reacción de Maillard puede ser un buen método para el procesamiento de la proteína en la industria alimentaria (Belitz *et al.*, 2009; Chevalier *et al.*, 2001b). El propósito de este trabajo fue analizar la estabilidad de las emulsiones, obtenidas a partir de soluciones de β -LG glicosilada con glucosa (β -LG-GLU) a pH 5,6 y 7 ya que en este rango de acidez es posible encontrar la mayoría de los alimentos procesados. El progreso de la reacción de Maillard fue seguido a través de medidas de absorbancia y la estimación de grupos aminos libres a través de medidas colorimétricas. Se

aplicó cromatografía líquida de alta performance (HPLC) para estimar la extensión de la agregación proteica y medidas turbidimétricas para la determinación de la estabilidad de las emulsiones.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

MATERIALES

La β -LG y la D-(+)-Glucose fueron suministradas por Sigma Chemicals Co. (St. Louis, MO, USA). El resto de los materiales fueron de calidad analítica.

MÉTODOS

Se mezclaron en relación molar 1/100, β -LG y glucosa (GLU). La mezcla fue disuelta en buffer fosfato 50 mM, pH 6,8 (concentración de β -LG 2,5 % P/V), (Moro *et al.*, 2011) y posteriormente liofilizada. La muestra resultante se llevó a estufa a 50 °C, humedad relativa de 65 % (solución saturada de IK) durante 80 h. (Medrano *et al.*, 2012). Se siguió el pardeamiento por medida de absorbancia (Cheetangdee *et al.*, 2014). Para este propósito se preparó una solución acuosa (1mg/mL) de la muestra en incubación y se leyó absorbancia a 420 nm (espectrofotómetro Jasco V-550. Japón). Transcurrido el tiempo de incubación, el polvo se disolvió, se eliminó el exceso de GLU mediante diálisis y se liofilizó. Como muestra control se usó β -LG a igual concentración que la de la proteína glicosilada y se le efectuó el mismo tratamiento pero sin el agregado del monosacárido. Las muestras liofilizadas fueron redisueltas en buffer fosfato 50 mM pH 6,8 manteniendo la concentración inicial de β -LG. La cantidad de grupos amino libres remanentes se determinó por el método colorimétrico basado en la reacción de O-ftaldialdehído (OPA). El ensayo consistió en mezclar 3 mL de reactivo OPA con 50 μ L de solución de proteína (10 mg mL⁻¹), incubar 30 min a temperatura ambiente y luego medir absorbancia a 340 nm. Además, se realizó una curva de calibración empleando L-leucina como estándar. (Wooster *et al.*, 2007). Para investigar la distribución de tamaño hidrodinámico de los conjugados β -LG-GLU se utilizó cromatografía líquida de alta performance (HPLC). Mediante un equipo Shimadzu LC-20, Japón, equipado con detector UV-visible y software Clarity (Data Apex) se realizó cromatografía de exclusión molecular utilizando una columna BioSep SEC-3000, Phenomenex con rango de separación para péptidos y proteínas de 5 a 700 kDa. Como fase móvil se utilizó

buffer fosfato 100mM, pH 6,8 con agregado de 100mM de ClNa, detector UV (λ igual a 280 nm), caudal 0,8 mL/min, 25 °C, volumen de inyección de 20 μ L. Las emulsiones se prepararon por homogeneización mecánica de alta velocidad (OmniMixer, International, USA) de 3 mL de las muestras acuosas del sustrato proteico (β -LG-GLU o β -LG control) de una concentración de 0,5 % (P/V) en buffer fosfato 50 mM del pH que corresponda de acuerdo al protocolo de trabajo con 1 mL de aceite de maíz comercial, ($\phi=0,25$) a 20000 rpm durante 60 seg. (Moro et al, 2011, 2013; Ballerini, tesis doctoral, 2011). Para poder medir la estabilidad de las emulsiones al cremado, las mismas fueron preparadas en tubos transparentes de 15mL con su parte inferior troncocónica adaptada para extracción de muestra con una jeringa Halmilton. A distintos tiempos y durante 24 h se extrajeron, de cada tubo y por triplicado, 20 μ L de emulsión que se diluyeron a 5 mL con solución estabilizadora (0,1 % P/V de SDS, ClNa100mM, buffer fosfato 100mM, pH 7). Cada tubo con la muestra de emulsión estabilizada fue convenientemente agitado antes de determinar su turbidez por lectura de absorbancia a 500nm contra blanco de solución estabilizadora. Se tomaron fotografías de las emulsiones inmediatamente luego de su obtención y a las 24 h de reposo con cámara digital (Nikon D 3100, 14.2 Mp, Japón). La emulsión más estable fue aquella en la que la turbidez decayó con mayor lentitud al cabo de 24 h. (Ballerini, 2011).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El progreso de la reacción de Maillard se siguió a través del desarrollo del color marrón (Figura 1) y la disminución de los grupos amino libres (Figura 2), durante el tiempo en el cual las muestras de β -LG-GLU y β -LG control se mantuvieron a 50 °C y humedad relativa del 65 %. En la Figura 1 se observa que la β -LG control no desarrolló color marrón durante todo el tiempo de la experiencia, mientras que la muestra de β -LG-GLU fue incrementando la tonalidad característica de la reacción de Maillard primero en forma lenta hasta alrededor de las 20 h de tratamiento incrementándose luego con mayor celeridad (Figura 1). Estos resultados están de acuerdo con las investigaciones de Cheetangdee *et al.*, 2014, quienes trabajaron con β -LG glicosilada con cuatro azúcares reductores. Por otra parte, y en relación a la Figura 2, la cantidad promedio de grupos aminos libre, permaneció sin variación en las muestra control, mientras que en la muestra glicosilada se produjo un abrupto

descenso de los mismos durante las 10 primeras horas de tratamiento, obteniéndose un promedio de 10,6 % de grupos aminos libres. Esto mostró que la glucosa, monosacárido de bajo peso molecular, se conjuga rápida y efectivamente a la β -LG. Los datos obtenidos por cromatografía de exclusión molecular (SE-HPLC), mostraron una modificación del pico correspondiente a la β -LG-GLU en comparación con el correspondiente a la β -LG control. Cabe destacar, que en el cromatograma de la muestra control se observa una deformación a los 13,5 min de tiempo de elución lo que correspondería al pequeño porcentaje de dímero de la β -LG que además es idéntico al que aparece en los cromatogramas de la β -LG sin tratar (dato no mostrado). Esto último reafirmaría que no se afecta la estructura de la β -LG cuando ésta se somete al tratamiento en estudio y refuerza los resultados mostrados en la Figura 2. En el cromatograma de la Figura 3 se observa una marcada disminución de la altura de pico correspondiente a la β -LG, además aumenta considerablemente la altura de pico a los 13,5 min de tiempo de elución, es decir aumenta el porcentaje de moléculas diméricas, así como se observa la aparición de otra región, que se incrementa paulatinamente a partir de los 8,7 min de tiempo de elución, la que no estaba en la muestra control. Esto indicaría que se han formado trímeros y oligómeros de bajo peso molecular. (Cheetangdee *et al.*, 2014; Moro *et al.*, 2013; Wooster *et al.*, 2007). Estos resultados pondrían en evidencia que la conjugación de la β -LG con glucosa ha permitido la formación de uniones inter e intra moleculares (Moro *et al.*, 2011) y además si se comparan las Figura 2 y la 3, podríamos afirmar que, si bien, la disminución de grupos aminos libres es elevada en comparación con la glicosilación de la misma proteína con otros azúcares reductores, (Cheetangdee *et al.*, 2014), los pesos moleculares de los productos obtenidos en esta glicosilación no serían tan elevados como para producir fuerte impedimento estérico y/o disminución acentuada del desplazamiento de la proteína glicosilada hacia la interface cuando se esté evaluando sus propiedades superficiales de emulsificación (Moro *et al.*, 2013). Para el estudio de la estabilidad de las emulsiones se debe tener en cuenta que bajo condiciones de reposo, la formación de crema es el principal proceso de desestabilización, en que las gotitas de aceite migran, con el tiempo, desde el fondo a la parte superior (Dickinson, 2001). La Figura 4 muestra el resultado del análisis de estabilidad al cremado de las emulsiones ensayadas, este gráfico se complementa con la Figura 5, en la cual se observan las fotografías de las emulsiones registradas inmediatamente después de formadas y a las 24 h de reposo. Tanto para las emulsiones

obtenidas usando como sustrato proteico β -LG-GLU como para sus homólogas, usando β -LG control, preparadas a pH 5 y 7, no se observan diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) en los valores de absorbancia relativa a 500nm. Por el contrario, las emulsiones (β -LG-GLU, β -LG control) obtenida a pH6, parecieran ser las más estables ya que no existe solapamiento ente los intervalos de confianza de éstas con sus homólogas a los otros pH investigados y muestran la menor disminución de absorbancia en el tiempo ensayado. Según Medrano *et al.*, 2012, la β -LG-GLU incrementó la estabilidad de la emulsión comparadas con la β -LG nativa. En lo que se refiere a estabilidad de la emulsión, los conjugados de β -LG-polisacáricos previenen efectivamente la agregación entre gotas de aceite más que la β -LG nativa. (Medrano *et al.*, 2012; Dickinson, 1991, 2001), estudiaron las propiedades emulsificantes de emulsiones preparadas usando β -LG glicosilada con glucosa, entre otros azúcares, a pH comprendido entre 3 y 9. Probaron que la tensión interfacial entre los distintos compuestos glicosilados y las muestras control fue comparable. La tensión interfacial alcanzó los valores más bajos para pH cercano al punto isoeléctrico (PI) de la β -LG (pH 4,6 a 5,2) y se incrementó levemente cuando el pH pasó de 6 a 7. Por otra parte los mismos autores probaron que el mayor tamaño de gota en las emulsiones fue obtenido en los alrededores del PI de la β -LG. Basándonos en estas investigaciones y resultados obtenidos por Moro *et al.*, 2013; Dickinson, 2003, 2009; Kumar *et al.*, 1996; Bouyer *et al.*, 2012; Bouyer *et al.*, 2013; Damodaran, 2005 entre otros, se podría inferir que, si bien la tensión interfacial en el rango de pH que hemos estudiado es baja, su variación no podría justificar, por si sola, una gran diferencia de estabilidad para las emulsiones obtenidas. El tamaño de la gotita influencia negativamente a la estabilidad de las emulsiones ya que de acuerdo a la ley de Stokes la tasa de formación de crema depende del cuadrado del radio de la gota por lo tanto cuanto mayor sea el radio de la gota mayor será la desestabilización de la emulsión (Moro *et al.*, 2013). El mayor tamaño de gota obtenido en el rango de pH 4,5 a 5,5 (Cheetangdee *et al.*, 2014), justificaría la menor estabilidad de las emulsiones obtenidas a pH 5. Con respecto a la estabilidad de las emulsiones obtenidas a pH 7, si bien tendrían un tamaño de gota mucho más pequeño que a pH 5, y comparable con el homólogo a pH 6, su mayor tensión interfacial las haría menos estables. En definitiva esta estabilidad mejorada en las emulsiones obtenidas a pH 6 se debería a la baja tensión interfacial (Capek, 2004, Dickinson 2003) y el suficientemente pequeño tamaño de la gota (Moro *et al.*, 2013). Aunque en este trabajo se ha obtenido un mejoramiento de la estabilidad de las emul-

siones a pH 6, el mismo no es mayor al 30 % con relación a la estabilidad evaluada a los otros pH estudiados. Cabe considerar además dos situaciones contrapuestas que coexisten: para el rango de pH comprendido entre 5 y 7 hay escasa exposición de los grupos hidrofóbicos de la β -LG lo que resulta desfavorable para la estabilidad de las emulsiones y la glicosilación no condujo a la formación de compuestos de muy elevado peso molecular lo que es favorable (Ballerini, 2011) pero debido a que la enérgica homogeneización que involucra la emulsificación genera turbulencias que permiten a los agregados alcanzar la interface a través de un transporte de masa convectivo (Dickinson, 2009) su pobre flexibilidad y/o su tamaño podrían ser factores responsables de una adhesión inapropiada a la interfase de la gota de aceite resultando así en una pobre estabilidad de las emulsiones.

5. CONCLUSIONES

La glucosa y la β -LG forman conjugados β -LG-GLU rápidamente con un remanente de grupos amino libre del 10,6 %. La SE-HPLC mostró deformación del pico de β -LG glicosilada hacia compuestos de mayor peso molecular, respecto del pico de la β -LG control, predominando dímeros, trímeros y oligómeros de bajo peso molecular. A pH 6 se obtuvo la mayor estabilidad de las emulsiones, siendo más marcada para el caso de la β -LG-GLU que para la obtenida con la β -LG control. Esta mejora sólo alcanzó aproximadamente al 30 % con respecto a sus homólogas evaluadas a los restantes pH.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BALLERINI, G. Tesis Doctoral en Ciencias Químicas (2011). Facultad de Ciencias Bioq. y Farm. UNR. Dirección Dr. Delorenzi, N
- BELITZ, H.D.; Grosch, W.; Schieberle, P. (2009). Food Chemistry. Springer.
- BOUYER, E.; Mekhloufia, G.; Rosilio, V.; Grossiord, J. L.; Agnelya, F. (2012). Proteins, polysaccharides, and their complexes used as stabilizers for emulsions: Alternatives to synthetic surfactants in the pharmaceutical field?. Int. J. of Pharmaceutics. 436: 359– 378.
- BOUYER, E.; Mekhloufia, G.; Huang, N.; Rosilio, V.; Agnelya, F. (2013). β -Lactoglobulin, gum arabic, and xanthan gum for emulsifying sweet almond oil: Formulation and stabilization mechanisms of pharmaceutical emulsions. Colloids and surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects 433:77– 87

- CAPEK, I. (2004). Degradation of kinetically-stable o/w emulsions. *Adv. Colloid Inter-face Sci.* 107: 125–155
- CHEETANGDEE, N.;FuKada, K. (2014).Emulsifying activity of bovine b-lactoglobuline conjugated with hexoses through the Maillard reaction. *Colloids and surfaces A: Physicochemical and engineering aspects.* 450: 148-155
- CHEVALIER, F.; Chobert, J.; Popineau, Y., Nicolas, M.; Haertlé, T. (2001b). Improvement of functional properties of beta-lactoglobulinglycated through the Maillard reaction is related to the nature of the sugar. *International Dairy Journal.* 11: 145-152
- DAMODARAN, S. (2005). Protein stabilization of emulsions and foams. *J. Food Sci.* 70: 54–66.
- DICKINSON, E.; Galazka, V. (1991). Emulsion stabilization by ionic and covalent complexes of beta-lactoglobulin with polysaccharides. *Food Hydrocolloids.* 5(3): 281-296
- DICKINSON, E. (2001). Milk protein interfacial layers and the relationship to emulsion stability and rheology. *Colloids Surf. B: Biointerf.* 15:161-176
- DICKINSON, E. (2003). Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Food Hydrocolloids* 17:25-39
- DICKINSON, E. (2009). Hydrocolloids as emulsifiers stabilizers. *Food Hydrocolloids* 23:1473-1482
- FOEGEDING, E.; Davis, J.; Doucet, D.; McGuffey, M., (2002). Advances in modifying and understanding whey protein functionality. *Trends in food science and Technology*, 13 (5), 151-159
- HERCEG, Z., Rezek, A., Lelas, V.; Kresic, G.; Franetovic, M. (2007). Effect of carbohydrates on the emulsifying, foaming and freezing properties of whey protein suspensions. *Journal of Food Engineering.* 79(1): 279-286.
- JIMÉNEZ-CASTAÑO, L., M. Villamiel, M.; López-Fandiño, R. (2007). Glycosylation of individual whey proteins by Maillard reaction using dextran of different molecular mass. *Food Hydrocolloids.* 21(3): 433-443.
- KUMAR, S.; Narsimhan, G.; Ramkrishna, D. (1996). Coalescence in creaming emulsions. Existence of a pure coalescence zone. *Industrial and Engineering Chemical Research.* 35(9):3155-3162
- MCCLEMENTS, D. J. (1999). *Food Emulsion principles, practice y technique.* New York: CRC Pres (Chapter 7)
- MEDRANO, A; Abirached, C.; Moyna, P.; Panizzolo, L.; Añón, M.C. (2012). The effect of glycation on oil-water emulsion properties of beta –lactoglobulin. *LWT - Food Science and Technology* 45: 253-260
- MORO, A.; Báez, G.; Busti, P.; Ballerini, G.; Delorenzi, N. (2011). Effects of heat-treated beta-lactoglobulin and its aggregates on foaming properties. *Foods Hydrocolloids* 25 (5):1009-1015

MORO, A.; Baéz, G.; Ballerini, G.; Busti, P.; Delorenzi, N. (2013). Emulsifying and foaming properties of beta-lactoglobulin modified by heat treatment. *Foods research international*. 5(1): 1-7

THOMPSON, A.; Boland, M.; Singh, H. (2008). *Milk Proteins: From Expression to Food*. Academic Press/Elsevier.

WAGNER, J.R., Propiedades superficiales, en *Caracterización funcional y estructural de proteínas*, A.M. Pilosof y G.B. Bartholomai, Editores. (2000), Editorial Universitaria de Buenos Aires (Eudeba). p. 41-74

WOOSTER, T. J. ; Augustin, M. A. (2007). The emulsion flocculation stability of protein-carbohydrate diblock copolymers. *Journal of Colloid and Interface Science*. 313(2): 665-675.

7. TABLAS Y FIGURAS

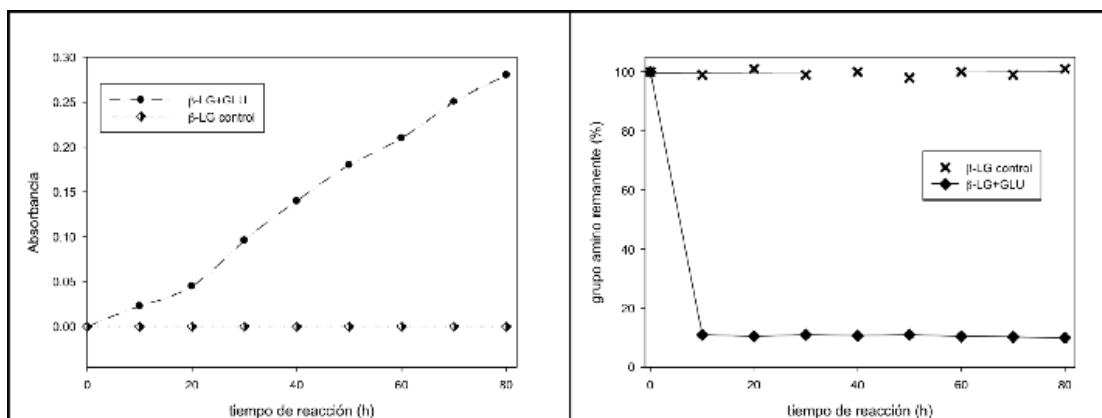


FIGURA 1. Desarrollo de color marrón por medida de absorbancia a 420 nm

FIGURA 2. Grupos amino libres remanentes por medida colorimétrica (OPA)

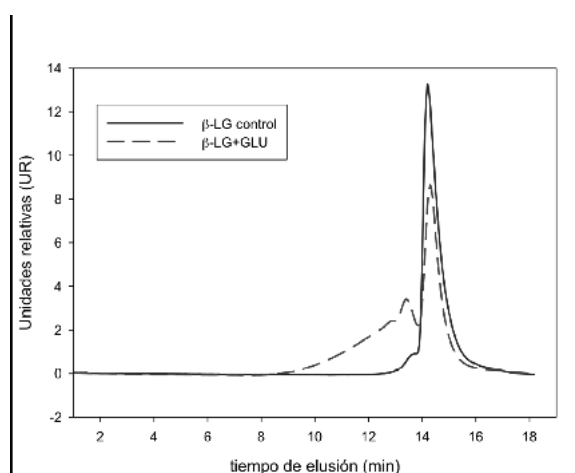


FIGURA 3. Superposición de cromatogramas de exclusión molecular

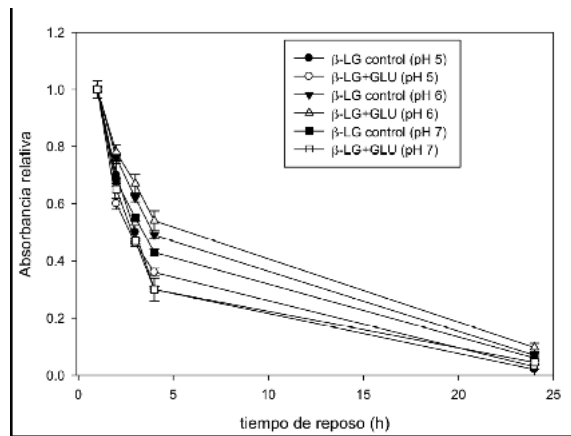


FIGURA 4. Estabilidad relativa de emulsiones a pH 5, 6 y 7

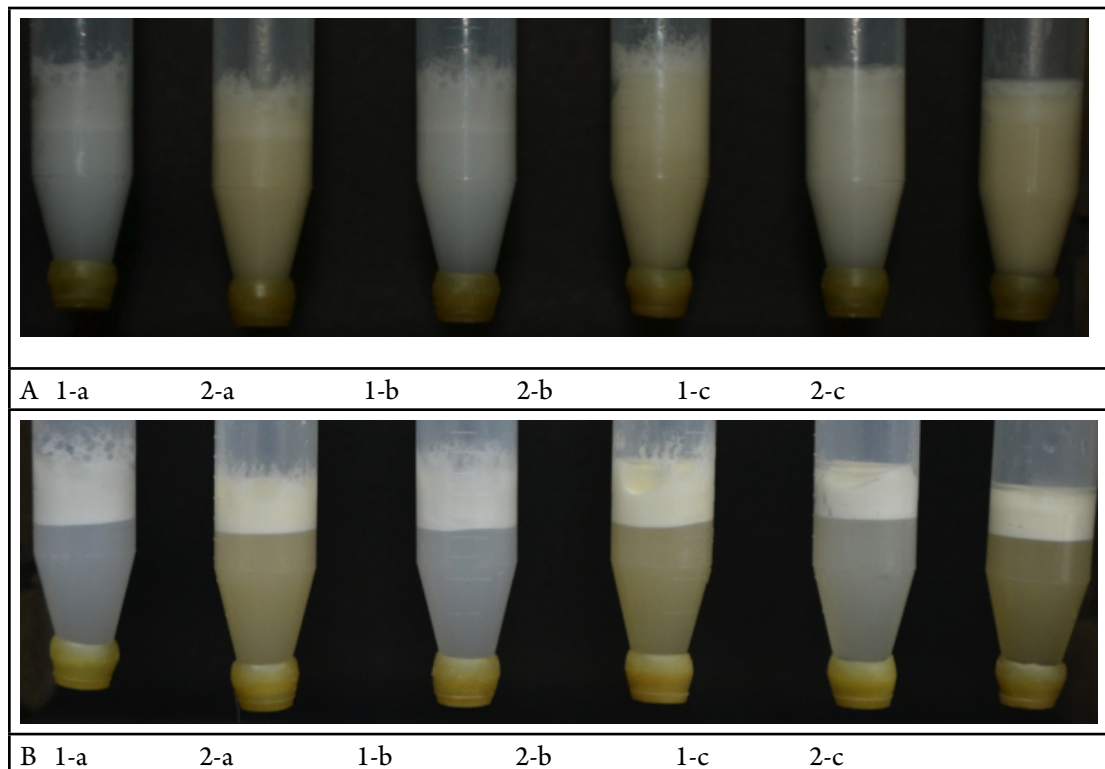


FIGURA 5.

A: fotografías tomadas inmediatamente después de preparadas las emulsiones

B: fotografías tomadas 24 h después de preparadas las emulsiones

1-a: β-LG control pH 5

2-a: β-LG-GLU pH 5

1-b: β-LG control pH 6

1-b: β-LG-GLU pH 6

1-c: β-LG control pH 7

2-c: β-LG-GLU pH 7

BREA GUM AS WALL MATERIAL FOR ENCAPSULATION OF HYDROPHOBIC COMPOUNDS OR CONTROLLED RELEASE APPLICATIONS

Emiliano Buseghin, Virginia Castel, Andrea Piagentini, Carlos Carrara, Amelia Rubiolo

1. ABSTRACT

This study aimed to evaluate the potential of BG in the microencapsulation of corn oil by spray drying in comparison with GA. Different concentration of BG solutions (5 %, 10 % and 20 % w/w) were used to emulsify pure corn oil in a 10:1 ratio with a homogenizer followed by an ultrasonic treatment. Emulsions were spray dried in laboratory scale equipment. All the powders presented similar spherical shape with no apparent cracks with sizes varying between 0.6 and 26 μm . Moisture content and water activities of GB powders were lower than GA powder. GB powders presented lower luminosity and more red and yellow parameters than GA powder as the color analysis showed. EE increased with GB concentration, reaching 71.32 % of EE with the 20 % GB solution which was in the range of the EE achieved with 20 % GA (88.66 %). It was concluded that GB could be suggested as an alternative wall material for microencapsulation of hydrophobic compounds replacing GA.

2. INTRODUCTION

Brea gum (BG) is an exudate obtained from *Parkinsonia praecox* trees that grows in Salta (Argentina). This hydrocolloid is similar to gum Arabic (GA), consisting in 83.77 % polysaccharides and 7.5 % proteins. Hydrocolloids are typically used not only as rheology control and suspending agents but also as structured carriers for controlled release and encapsulation applications. Encapsulation is a rapidly

CONTACTO: Carlos Carrara ccarrara@fiq.unl.edu.ar

Instituto de Tecnología de Alimentos, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina.

expanding technology with a lot of potential in different areas including pharmaceutical and food industries. GA is one of the most common wall materials used in microencapsulation by spray drying. Although it presents desirable encapsulating characteristics, the oscillation in supply and the increasing prices are leading researchers to look for alternative wall material. In this context, BG is a biopolymer that represents an interesting alternative to synthetic polymers as it is a biocompatible and biodegradable hydrocolloid. In this study, spray drying encapsulation using BG as wall materials was tested in comparison with a commercial GA.

3. MATERIALS AND METHODS

MATERIALS

GB exudate nodules were collected from trees in the area near to Salta city in Argentina and kindly supplied by the promotion project of Brea as non-wood forest product for the sustainable development of Wichí and Criollas communities of Chaco Salteño. The crude gum was purifying by following the dissolution, centrifugation, filtration and freeze-drying steps. A 15 % (w/w) aqueous solution of the exudate was allowed to stand for 24 h to reach a complete hydration of the sample. The gum solution was then centrifuged and filtered through Whatman No.1 filter paper to separate any undissolved matters. The solution obtained was vacuum-filtered through 0.5 μ fiberglass filter to remove farther impurities. Finally, the purifying solution was freeze-dried. The GA was a commercial sample.

EMULSION PREPARATION

BG was added to distilled water at 25 °C in concentration of 5 %, 10 % and 20 % w/w, the mixture was stirred until completely dissolved and kept overnight to warrant a full saturation of the polymer molecules. The same procedure was carried out to prepare a 20 % w/w GA solution. Then, 10 % w/w pure corn oil in a proportion was added to the solutions and a two step method was used to obtain the emulsion: (a) pre-emulsions were obtained with a Polytron homogenizer blending (Polytron, Kinematica, Bohemia, NY, USA) followed by an ultrasonic treatment (Ultrasound generator, Sonics and Materials VC-750, Newton, CT).

SPRAY-DRYING THE EMULSION

Emulsions were spray dried in laboratory scale equipment (Spray Dryer, ADL311 Yamato), using an inlet and outlet air temperatures of 150 ± 5 °C and 80 ± 5 °C respectively, with an atomization pressure of 0.1 MPa.

MORPHOLOGY OF MICROCAPSULES BY SCANNING ELECTRONIC MICROSCOPY (SEM) ANALYSIS

The morphology and microstructure of the powders was observed by scanning electronic microscopy (JSM-35C, JEOL, Tokyo, Japan). The powders were placed on the SEM stubs using a two-sided adhesive tape and subsequently coated with aurum using a magnetron sputter coater. Examinations were made at 1000x, 3000x and 10000x magnifications. An approximate range of particle size was obtained by measuring particle diameters with an image processing program, ImageJ 1.48v. Different micrographs of the same sample were observed trying to make a representative measure.

MOISTURE CONTENT AND WATER ACTIVITY DETERMINATIONS

Powders' water activity was measured with a team Aqua-Lab Water Activity Meter. Temperature was maintained at 25 ± 0.1 °C during the tests. The moisture content was determined gravimetrically by drying in a vacuum oven at 70 °C until constant weight.

COLOR ANALYSIS

Color analysis was performed in a colorimeter Minolta 508d. The color of the samples was reported in term of the tristimulus coordinates L, a, b.

FREE OIL DETERMINATION

The microcapsule free oil was determined according to Klinkesorn *et al.* (2006) method with modifications. Fifteen milliliters of petroleum ether were added to 2.5 g of powder in a glass jar with a lid, which was shaken by hand during 2 min and then allowed to stand for 5 min at room temperature. The mixture was filtered through a Munktell 00R filter paper and collected in a round-bottomed flask. The hexane was evaporated in rotary evaporator at 70 °C, and the solvent-free extract was dried at 105 °C until constant weight (about 1 h). The amount of free oil was calculated

based on the difference between the weight of the initial clean flask and that containing extracted oil residue.

TOTAL OIL DETERMINATION

The total oil content was determined according to the method of Klinkesorn *et al.* (2006) with modifications. Four milliliters of ultrapure water were added to 0.5 g of powder and the mixture was stirred until completely dissolved. Then, 25 ml hexane/isopropanol (3:1 v/v) was added to the solution and the tube was shaken for 10 min using a vortex mixer and centrifuged for 15 min at 12000 g. The clear organic phase was filtered through a Munktell 00R filter paper and collected in a round-bottomed flask. The solvent was evaporated in a rotary evaporator at 70 °C and the residue dried to constant weight. The amount of oil extracted was determined gravimetrically as in free oil method.

ENCAPSULATION EFFICIENCY

Encapsulation efficiency (EE) was calculated from the ratio between the amount of encapsulated oil and total oil present in the powders determined by gravimetric methods:

$$EE (\%) = \frac{[\text{Total oil } (\frac{\text{g}}{100\text{g powder}}) - \text{Free oil } (\frac{\text{g}}{100\text{g powder}})] \times 100}{\text{Total oil } (\frac{\text{g}}{100\text{g powder}})}$$

4. RESULTS AND DISCUSSION

SCANNING ELECTRONIC MICROSCOPY (SEM)

All the microcapsules obtained with GB and GA presented similar external morphologies: spherical shape with no apparent cracks or fissures (Figure 1). This could indicate that capsules have low permeability to gases, increasing protection and retention of the core material. An exception to that was found in few particles of GB5 that presented some pores (Figure 1B). Some authors suggest that these pores probably arise in the last phase of drying process due to uneven shrinkage of the material (Buma, 1971). The porosity may affect the free oil measured using solvent extraction since considerable part of the encapsulated oil could be extracted from the interior of the microcapsules due to possible solvent penetration through the pore (Klinkesorn *et al.*, 2006). Similar spherical morphologies were found by

several authors using spray-drying as microencapsulation process (Carneiro *et al.*, 2013; Rodea-González *et al.* 2012; Klinkesorn *et al.*, 2006).

Particles sizes of the powders exhibited a large size range, with diameters varying from 0.6 to 26 μm . The variety in size is a typical characteristic of particles produced by spray drying (Carneiro *et al.*, 2013). GB5 showed slightly higher particle sizes than GB10, but in more homogeneous size distribution (sizes from 1.8 to 10 μm). Also, GB5 powders showed structure morphology with a trend to form clumps of particles that seem to have fused together. This appearance could be related to the presence of high surface oil on the powders (McNamee *et al.*, 1998). GB10 and GB20 powders presented wider size distributions, from 0.8 to 10 μm for GB10 and from 0.9 to 26 μm for GB20. Although the polydispersity of the particle size distribution increased with the gum concentration, in both powders, GB10 and GB20, the smaller particles are majority population. This may be due to the higher concentration of wall material available to form more interfacial area allowing the formation of more particles with smaller diameters. Microcapsules prepared with GA presented similar aspect to those of GB20, although some particles with higher diameter were observed.

MOISTURE CONTENT AND WATER ACTIVITY

The moisture content and water activity of the powders showed no relation with gum concentration (Table 1). GB5 presented the lower moisture content, followed by GB20. Moreover, moisture content and water activity of GB powders were lower than the ones of GA20 and lower than some others presented in the literature. For example, Kim and Morr (1996) reported moisture content of 5.7 % for spray-dried powder of orange oil/ GA (30 % oil on total solid basis) with similar oil/gum ratio to GB20 (35 % oil on total solid basis). Rodea-González *et al.* (2012) obtained moisture contents in range of 4.35- 5.26 % for chia oil microcapsules prepared with WPC and variations of GA and Mezquite gum as wall materials. Authors such as Hogan *et al.* (2001), Jafari *et al.* (2008) and Carneiro *et al.* (2013) obtained lower moisture contents (1- 3 %) encapsulating soybean oil, fish oil and flaxseed oil, respectively, with different wall material and they all observed that these values were not affected by the type of wall material used. On the other hand, moisture content was related to the operating temperatures in the spray-drying process (Klinkesorn *et al.*, 2006).

COLOR

Difference in the color of powders can be quantified by colorimetric measurements of tristimulus coordinates, such as L (lightness), a (redness and greenness) and b (yellowness and blueness) values. Varying GB concentration had no significant effect on the color of powders as can be seen from the coordinate values (Table 2). Since GB, unlike GA, has a brown reddish color, the powders obtained with GB were a little more colorful compared with the ones obtained with GA. Comparing the coordinate values, GB powders presented less lightness (lower L- values) and more red (a-value positive) and yellow (b-value positive) than GA powder. GB color can be easily attenuated performing a discoloration process with activated charcoal if the application require less colorful microcapsules.

ENCAPSULATION EFFICIENCY (EE)

Free oil, total oil, oil retention and EE of the different powders are presented in Table 3.

The amount of free oil in powdered emulsions is usually defined as that part of the oil that can be extracted with organic solvents and highly depend on the extraction conditions used and the matrix system (Klinkerson *et al.*, 2006). Therefore, EE value reflects not only the presence of free oil on the surface of the particles but also the degree to which the wall matrix can prevent extraction of internal oil (Hogan *et al.*, 2001a). Then, the high value of free oil in GB5 powders could be due to different effects: high amount of oil in the surface as noted by the clumps and fused particles observed in SEM micrographs, oil extracted from the interior of the particle through the pores observed in some particles and maybe the break of some particles in the extraction process because of the matrix thinness. The low concentration of wall material available to form the matrix might be the cause of the pores and fragility of the GB5 microcapsules. Moreover, many authors states that smaller emulsion droplet size, which generally represent higher emulsion stability, is strongly related to a low surface oil (Kim and Morr, 1996; Liu, 2001; Barbosa *et al.*, 2005; Soottitantawat, 2005; Jafari, 2008; Carneiro *et al.*, 2013). Previous work, have shown that GB5 emulsions present larger particles and less stability than the others emulsion with higher GB concentration (data not shown) which is in concordance with the high amount of nonencapsulated material on particles surface. The result of all these was a low EE for GB5.

When the gum concentration increased to 10 %, GB10, although the particles were mostly smaller, no pores were observed and the emulsions were more stables (data not shown), the EE did not increase significantly. A good EE of 71.32 % was achieved increasing gum concentration to 20 % (GB20) which was in the range of GA20 (88.66 %). In this condition free oil decreased drastically which is important for providing storage stability to the encapsulated materials (Anandaraman and Reineccius, 1987). EE achieved in this work with GB20 was in the range of those obtained by Kim and Moor (1996) in microencapsulated orange oil with GA (75.9 % EE) and WPI (72.7 % EE) as wall materials. Rodea-González *et al.* (2012) achieved EE in the range from 70.70 to 80.70 % encapsulating chia essential oil with WPC combined to Mezquite gum or GA but using higher total solid content (30 and 40 %). Carneiro *et al.*, (2013) obtained 62.3 % EE using GA/ maltodextrin as wall material to encapsulate flaxseed oil. The same author reached 95.7 % EE using a modified starch/ maltodextrin as wall material. However, compare results between different studies is a difficult and not too wise because of the variety of method to determine free oil and total oil, hence, EE. Also, there are so many factors affecting EE, like type and composition of wall material, the ratio of core to wall material, the drying process used, and the stability and physicochemical properties of the emulsions (Klinkesorn *et al.*, 2006).

5. CONCLUSIONS

According to these results, GB could be suggested as a good alternative wall material for microencapsulation of hydrophobic compounds, which could replace GA.

ACKNOWLEDGMENTS

Authors would like to thank the financial support of project: PICT-2011-1118: Extensive use of non-wood forest products: purification, characterization and applications of Brea Gum and Espina Corona Gum and CAI+D. UNL. 501 201101 00021 LI - Utilización de un polisacárido nativo en la protección de compuestos lipofílicos.

6. REFERENCES

ANANDARAMAN S. and Reineccius G. A. (1987). Analysis of encapsulated orange peel oil. *Perfumer and Flavorist*. 12, 33-39.

- BARBOSA, M., Borsarelli, C., Mercadante, A. (2005). Light stability of spray-dried bixin encapsulated with different edible polysaccharide preparations. *Food Research International*, 38, 989-994.
- BUMA, T. J. (1971). Free fat in spray-dried whole milk. 8. The relation between free-fat content and particle porosity of spray-dried whole milk. *Netherlands Milk and Dairy Journal*, 25, 123-140.
- CARNEIRO, H., Tonon, R., Grosso, C., Hubinger, M. (2013). Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combination of wall materials. *Journal of Food Engineering*, 115, 443-451.
- HOGAN, S., McNamee B. F., O' Riordan, E. D., and O' Sullivan, M. (2001). Emulsification and microencapsulation properties of sodium caseinate/carbohydrate blends. *International Dairy Journal*, 11, 137-144.
- JAFARI, S.M., Assadpoor, E., Bhandari, B., He, Y. (2008). Nano particle encapsulation of fish oil by spray drying. *Food Research International*, 41 (2), 172-183.
- KIM Y. D. and Morr C. V. (1996). Microencapsulation properties of gum arabic and several food proteins: spray-dried orange oil emulsion particles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 1314-1320.
- KLINKERSON, U., Sophanodora, P., Chinachoti, P., Decker, E.A., McClements, D.J. (2006). Characterization of spray-dried tuna oil emulsified in two-layered interfacial membranes prepared using electrostatic layer-by-layer deposition. *Food Research International*, 39 (4), 449- 457.
- LIU X., Atarashi, T., Furuta, T., Yoshii, H., Ohkawara, M., Linko, P. (2001). Microencapsulation of emulsified hydrophobic flavors by spray drying. *Drying Technology*, 19, 1361-1374.
- MCMAMEE, B.F., O'Riordan, E., O'Sullivan, M. (1998). Emulsification and microencapsulation properties of gum arabic. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 4551-4555.
- RODEA-GONZÁLEZ D., Cruz-Olivares J., Román-Guerrero, A., Rodríguez-Huezo M., Vernon-Carter, E., Pérez-Alonso, C. (2012). Spray-dried encapsulation of chia essential oil (*Salvia hispanica*L.) in whey protein concentrate-polysaccharide matrices. *Journal of Food Engineering*, 111 (1), 102-109.
- SOOTITANTAWAT, A., Bigeard, F., Yoshi, 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 (1), 107-114.

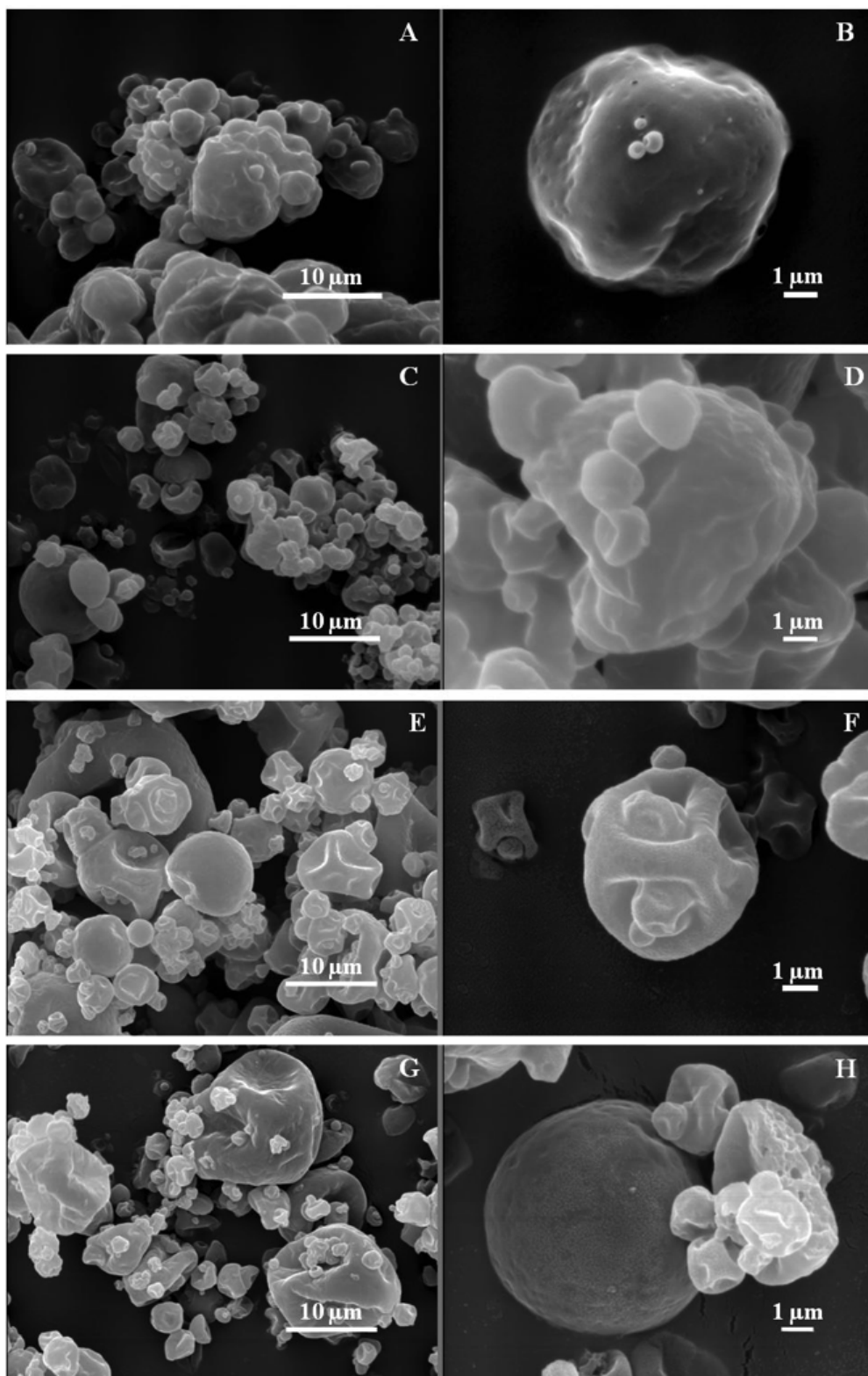


FIGURE 1. Micrographs of microcapsules (SEM) of (A) GB5 x3000, (B) GB5 x10000, (C) GB10 x3000, (D) GB10 x10000, (E) GB20 x3000, (F) GB20 x10000, (G) GA20 x3000 and (H) GA20 x10000.

TABLE 1. Moisture contents and water activities of the different powders obtained

Sample	Moisture content (%) [*]	a ^{w*}
GB5	1.17	0.356
GB10	3.73	0.374
GB20	2.77	0.318
GA20	4.38	0.412

^{*}Mean of duplicated values.

TABLE 2. Color coordinates values of microcapsules

Sample	L [*]	a [*]	b [*]
GB5	85.59 ± 0.38 ^a	0.60 ± 0.06 ^a	10.21 ± 0.47 ^a
GB10	88.03 ± 0.43 ^a	0.58 ± 0.05 ^a	9.76 ± 0.05 ^b
GB20	86.35 ± 0.19 ^a	0.70 ± 0.03 ^b	10.41 ± 0.12 ^c
GA20	92.43 ± 0.48 ^b	0.10 ± 0.03 ^c	4.33 ± 0.10 ^d

Means of triplicate values ± standard deviation. Different letters indicate significant difference between samples at $p \leq 0.05$.

TABLE 3. Free oil, total oil, oil recovery and encapsulation efficiency of powders

Sample	Free oil (g/ 100g powder)	Total oil (g/ 100g powder)	Oil recovery [*] (%)	EE (%)
GB5	40.29 ± 2.28 ^a	61.20 ± 0.70 ^a	88.74	34.16
GB10	29.75 ± 2.28 ^b	47.59 ± 1.69 ^b	90.42	37.48
GB20	9.50 ± 2.82 ^c	33.12 ± 3.40 ^c	92.74	71.32
GA20	3.83 ± 0.01 ^d	33.80 ± 0.44 ^c	94.64	88.66

^{*}Based on the initial oil mass in the emulsion. Means of triplicate values ± standard deviation. Different letters indicate significant difference between samples at $p \leq 0.05$.

DESARROLLO DE UN PRODUCTO CÁRNICO INNOVADOR UTILIZANDO ALTA PRESIÓN HIDROSTÁTICA

María Belén Gimenez¹, Natalia Gisel Graiver¹, Alicia Califano¹,
Noemí Elisabet Zaritzky^{1,2}

1. RESUMEN

Las nuevas tecnologías basadas en altas presiones hidrostáticas (APH) constituyen una alternativa a los tratamientos tradicionales de conservación de alimentos, sin embargo sus efectos negativos en la coloración de las carnes rojas constituyen un aspecto que requiere análisis. Los objetivos de este trabajo fueron: a) desarrollar un producto cárnico a partir de la combinación de un proceso de inmersión en una solución conteniendo una formulación optimizada de aditivos, seguido de un tratamiento posterior de APH (300 y 600 MPa, 5 minutos a 20 °C); b) analizar los cambios en el color, textura, exudado y calidad microbiológica durante su almacenamiento refrigerado a 4 °C.

Se utilizaron discos de carne vacuna, que fueron sumergidos en soluciones preservadoras conteniendo cloruro de sodio, nitrito de sodio y ácido ascórbico. Los parámetros de textura y color de las muestras cárnicas se modificaron debido al proceso de inmersión, el tratamiento con APH y el almacenamiento refrigerado, aunque presentaron valores adecuados para su consumo. Asimismo a 4 °C, mantuvieron su estabilidad microbiológica por más de 4 semanas al aplicar 300MPa y por más de 6 semanas con 600MPa en comparación con los controles (sin APH) que presentaron una vida útil de 2 semanas. Estos resultados permiten concluir que el tratamiento propuesto resultó eficiente en la conservación de carnes refrigeradas sometidas a altas presiones hidrostáticas.

CONTACTO: Natalia Gisel Graiver nataliagraiver@hotmail.com

1. Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecología de Alimentos (CIDCA), CONICET, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP. 47 y 116, La Plata (1900), Argentina.

2. Depto. de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería, UNLP.

2. INTRODUCCIÓN

El tratamiento de APH es una tecnología emergente en ciencia de los alimentos con un gran potencial en el área de productos cárnicos. En primer lugar, el tratamiento de APH por encima de 300 MPa a temperatura ambiente puede mejorar la seguridad microbiológica y extender la vida útil del producto (Balasubramaniam y Farkas, 2008 y Carlez y col., 1994). En segundo lugar, el tratamiento APH conserva el sabor (Schindler y col., 2010) mejor que el tratamiento térmico, ya que sólo afecta a enlaces no covalentes (Cheftel y Culioli, 1997). La eficacia del proceso depende de parámetros tecnológicos como la presión, mantenimiento de temperatura y tiempo, así como del tipo y estado fisiológico de los microorganismos, y de las propiedades intrínsecas del alimento (pH, aw) (Bover-Cid y col., 2011; Hugas y col., 2002; Hereu y col., 2012; Jofré y col., 2009; Díez, 2009).

Los estudios encontrados hasta ahora indican que los tratamientos de APH pueden influir en la textura y el color de los productos cárnicos curados (Jung y col., 2003; Carballo y col., 1997; Bak y col., 2012). El color es uno de los atributos de calidad más importantes cuando el consumidor adquiere carne (Cheftel y Culioli, 1997, Risvik, 1994) y está determinado por la cantidad y química del estado de las hemoproteínas presentes, así como por la estructura de la carne. La hemoproteína principal en la carne es la mioglobina, que en la carne cruda está presente en tres formas: oximioglobina rojo brillante (oxyMb), desoximioglobina púrpura (deoxyMb), y metamioglobina marrón (metMb). OxyMb y deoxyMb contienen hierro en el estado ferroso (Fe^{+2}), mientras que metMb contiene hierro en el estado férrico (Fe^{+3}) (Govindarajan, 1973). La decoloración en carnes frescas pigmentadas es producida a niveles superiores a 300 MPa, que son las presiones requeridas para la inactivación de células vegetativas. Se encontró que en carne vacuna un tratamiento previo con sales de curado permitió la formación de nitrosomioglobina, una proteína que tiene la característica de ser más resistente a las altas presiones, manteniendo un color adecuado en la superficie del producto. Luego de obtener la combinación de aditivos de la solución de inmersión que proporcionó el mejor color superficial y aspecto de las muestras cárneas tratadas con APH se realizó la optimización de las concentraciones de $NaNO_2$ y ácido ascórbico de la misma (Gimenez y col., 2012).

El objetivo de este trabajo fue desarrollar un producto cárnico a partir de la combinación de un proceso de inmersión en una solución conteniendo una formulación optimizada de aditivos, seguido de un tratamiento posterior de APH y estu-

diar los cambios sobre las características fisicoquímicas y microbiológicas durante el almacenamiento refrigerado a 4 °C.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

MATERIA PRIMA

Se utilizaron cortes de cuartos traseros (nalga). Los músculos se separaron luego de 48 horas postmortem y se eliminó grasa visible. Las materias primas tenían un valor de pH entre 5.4 y 5.7.

CURADO

El proceso involucro un tiempo de difusión de sales en secciones de carne bovina de 3 mm de espesor y 6 cm de diámetro, que se colocaron durante 3 h en la solución de inmersión compuesta por: 0.06 g NaNO₂/100 ml, 0.85 g ác. Ascórbico /100 ml y 6 g NaCl/100 ml.

ENVASADO DE LAS MUESTRAS

Las muestras de carne se envasaron al vacío en bolsas Cryovac BB4L (Sealed Air, Buenos Aires, Argentina), y se sometieron al proceso de alta presión hidrostática (APH).

APLICACIÓN DE APH

Se utilizaron dos niveles de presión 300 y 600 MPa. El tiempo de proceso de APH fue de 5 min. La temperatura de trabajo fue 20 °C ± 5 °C. Se incluyeron muestras control (rodajas no presurizadas).

El tratamiento de APH se llevó a cabo en un sistema de Stansted Fluid Power (modelo FPG9400:922, cilíndrico de 2 litros de capacidad, presión máxima de trabajo 900MPa, rango de temperatura: de -20 a 120 °C) en el Laboratorio del INTA Castelar. La velocidad de presurización con la que opera el equipo es de 300 MPa/min y la despresurización se realizó instantáneamente.

DETERMINACIONES DE CLORURO Y NITRITO

La cantidad de NaCl presente en el tejido después del tratamiento se determinó mediante un electrodo selectivo (Cole-Parmer 27.502-12) y la determinación de nitrito se llevó a cabo utilizando el kit Hach Nitriver 3 (método 371), según Graiver y col. (2006).

EXUDADO

Se determinó periódicamente por triplicado mediante la diferencia de peso de la muestra previo y posterior al tratamiento APH.

ACTIVIDAD ACUOSA

Se evaluó el efecto del tiempo de almacenamiento y la APH sobre la a_w de las muestras. Se realizó en un equipo Aqua Lab Serie 3 (Decagon Devices, USA) calibrado con una solución de K_2SO_4 ($a_w = 0.979 \pm 0.005$) y agua bidestilada ($a_w = 1$). Las medidas fueron realizadas a 25 °C por duplicado.

DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS DE COLOR

Se realizó con un colorímetro triestímulo Minolta C400 el cual utiliza la escala de color CIE Lab*, mediante la cual el color es descrito por los parámetros de luminosidad L, y de cromaticidad a^* y b^* . Las determinaciones se realizaron semanalmente sobre 3 rodajas de carne, y 6 medidas para cada muestra.

DETERMINACIÓN DE TEXTURA

Se empleó la sonda Volodkevich (HDP/VB). Esta sonda permite simular la mordedura de un alimento con los incisivos (Wen-Ching y col. 2007), lo que corresponde al primer contacto de una rodaja de carne con la boca. Se determinó en cada caso la fuerza máxima alcanzada cuando se realiza una compresión hasta el 30 % del espécimen. Se determinó semanalmente sobre 3 rodajas, en cada una de ellas por triplicado.

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Se analizó el desarrollo microbiano en los productos mediante recuento en placa de microorganismos totales mesófilos aerobios (PCA, 30 °C, 48 h), psicrótrofos totales aerobios (PCA, 4 °C, 7 días), Enterobacteriaceae (AVRB, 37 °C, 24 h), bacterias ácido lácticas (MRS, 30 °C, 48 h) y hongos y levaduras (YGC, 5 días, 30 °C). Estas determinaciones se hicieron semanalmente.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los análisis estadísticos fueron realizados utilizando el software SYSTAT (SYSTAT Inc., 1990, v. 10.0). Las diferencias significativas entre las medias fueron determinadas por el método de la menor diferencia significativa, LSD ($P < 0.05$).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CONCENTRACIÓN DE NITRITO Y CLORURO

Las concentraciones de nitrito de sodio y cloruro de sodio en las muestras cárneas luego del tratamiento fueron: 0.0038 ± 0.0004 g NaNO_2 /100 g tejido y 4.71 ± 0.38 g NaCl /g tejido cárneo, cumpliéndose con lo que establecido en la normativa vigente; el uso de nitrito de sodio, nitrato de potasio o de su combinación no debe superar los 200 ppm (0.2 mg / g), expresado en nitrito de sodio en el producto final (USDA-FSIS 1999).

EXUDADO

En la Figura 1 se observa una tendencia al aumento del exudado con los días de almacenamiento refrigerado, no siendo significativas las diferencias. Se puede ver que las presiones utilizadas afectan el exudado producido, siendo este mayor a la mayor presión utilizada.

ACTIVIDAD ACUOSA

Se observó que ni las presiones empleadas ni el tiempo de almacenamiento refrigerado influyeron significativamente en la actividad acuosa del producto, siendo el valor medio de 0.950 ± 0.005 .

COLOR

La luminosidad L^* , se vio afectada significativamente tanto por el tiempo de almacenamiento como por las presiones ensayas (Figura 2), no siendo significativa la interacción entre estos parámetros. Los valores medios obtenidos para las dos presiones fueron: 52.76 ± 0.48 (300 MPa) y 55.78 ± 0.52 (600 MPa), esto concuerda con lo expuesto por Bak *et al.* (2012) el cual reportó que el aumento de la presión por encima de 300 MPa conduce a un pequeño aumento en la luminosidad. Se puede observar en la figura una tendencia al aumento de L^* luego de la tercer semana de almacenamiento. El parámetro a^* dependió significativamente ($P < 0.05$) de la presión ensayada, del tiempo y de la interacción entre estos dos factores. En la Figura 3 puede observarse que a ambas presiones los mayores valores se alcanzan luego de dos semanas de almacenamiento, disminuyendo a partir de entonces; en el caso de las muestras sometidas a 300MPa se estabilizan a partir de la cuarta semana.

Los valores más bajos de a^* los presentan las muestras tratadas a 600MPa. Jung y col., 2003, relacionó la disminución del valor de a^* durante el almacenamiento con la acumulación de metamioglobina en la muestra. El parámetro de color b^* fue afectado por ambos factores pero su interacción no fue significativa. La presión aplicada influyó en el parámetro b^* (Figura 4). Los valores medios obtenidos fueron 9.39 ± 0.30 a 300 MPa y 10.24 ± 0.19 para 600 MPa.

TEXTURA

Se encontró que la fuerza máxima dependió significativamente ($P < 0.05$) de la presión ensayada y del tiempo, pero no de la interacción entre estos factores; a 600MPa se obtuvo un producto de mayor dureza que a 300MPa (Tabla 1), pudiéndose relacionar con el mayor exudado producido al incrementar la presión que conduce a un tejido muscular con menor contenido de humedad. En la Figura 5 se observa un aumento de la fuerza durante el almacenamiento refrigerado para ambas APH ensayadas.

CALIDAD MICROBIOLÓGICA

No hubo crecimiento de hongos, levaduras y de bacterias psicrótrofas en ninguna de las muestras cárnicas. En la carne fresca sin tratar se determinó que la flora predominante estaba constituida por bacterias mesófilas y ácido lácticas presentando una carga microbiana inicial de 3 log UFC/g y superando los valores de UFC/g carne permitidos Según el Código Alimentario Argentino Artículo 255bis - (Res 712, 25.4.85) y Artículo 286 - (Resolución Conjunta SPyRS N° 104/2005 y SAGPyA N° 414/2005), a partir de la tercer semana de almacenamiento refrigerado a 4 °C. Las muestras tratadas a 300 MPa presentaron un número de bacterias mesófilas y lácticas por debajo del límite de detección del método (< 2 log UFC/g) durante las primeras 4 semanas de almacenamiento. A partir de la quinta semana el conteo fue cercano a 4 log UFC/g y aumentó aproximadamente dos ciclos logarítmicos a la semana siguiente. Para las muestras tratadas a 600 MPa no se encontró crecimiento de bacterias mesófilas durante las 7 semanas de almacenamiento mientras que hubo desarrollo de bacterias ácido lácticas en la semana 7 (Figuras 6 y 7). Las enterobacterias mostraron crecimiento en la carne fresca en la primera semana de almacenamiento alcanzándose en la segunda una concentración relativamente alta, mientras que en las muestras tratadas con APH no se pudo detectar crecimiento de enterobacterias durante el almacenamiento.

5. CONCLUSIONES

La carne sin ningún tipo de tratamiento perdió su condición sanitaria adecuada para el consumo luego de la segunda semana de almacenamiento, mientras que la utilización de APH disminuyó la carga inicial 2 ciclos logarítmicos y mantuvo la estabilidad microbiológica por más de 4 semanas a 300 MPa y por más de 6 semanas a 600 MPa. Estos resultados encontrados permiten concluir que la aplicación de APH es eficiente en la conservación de este tipo de alimentos cárneos. Los parámetros de textura y color de las muestras cárnicas se modificaron debido al proceso de inmersión, el tratamiento con APH y el almacenamiento refrigerado, aunque presentaron valores adecuados para su consumo.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por: Effect of high pressure on the diffusion of curing salts in meat tissues, investigador responsable Dra. N. Zaritzky, dentro del Proyecto «Safety improvement and shelf life extension of fresh and cooked beef products applying non-thermal technologies». Instituto de Ciencia y Tecnología de Agroalimentos Academia China de Ciencias Agropecuarias (CAAS), Beijing- INTA.

Agradecemos a Sergio Vaudagna y al INTA de Castelar por permitirnos usar el equipo de APH.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BALASUBRAMANIAM, V. M., & Farkas, D. (2008). High-pressure food processing. *Food Science and Technology International*, 14, 413–418.
- BAK, K. H.; Lindahl, G.; Karlsson, A. H.; Lloret, E.; Ferrini, G.; Arnau, J.; Orlien, V. (2012). High pressure effect on the color of minced cured restructured ham at different levels of drying, pH, and NaCl. *Meat Science*, 90: 690–696.
- BOVER-CID, S.; Belletti, N.; Garriga, M.; Aymerich, T. (2011). Model for *Listeria monocytogenes* inactivation on dry-cured ham by high hydrostatic pressure processing. *Food Microbiology*, 28: 804-809.
- CARBALLO, J.; Fernández, P.; Carrascosa, A. V.; Solas M. T.; Jiménez-Colmenero, F. (1997). Characteristics of low- and high-fat beef patties: Effect of high hydrostatic pressure. *Journal of Food Protection*, 60 (1): 48-53.

- CARLEZ, A., ROSEC, J. -P., RICHARD, N., & CHEFTEL, J. -C. (1994). Bacterial growth during chilled storage of pressure-treated minced meat. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 27, 48–54.
- CHEFTEL, J.C.; CULIOLI, J. (1997). Effects of high pressure on meat: A review. *Meat Science*, 46: 211–236.
- DÍEZ, A.M., SANTOS, E. M., JAIME, I.ROVIRA, J. (2009). Effectiveness of combined preservation methods to extend the shelf life of Morcilla de Burgos. *MeatScience*, 81: 171-177.
- GIMÉNEZ M. B., GRAIVER N., CALIFANO A., ZARITZKY N. (2012). Efecto de la alta presión hidrostática en las características fisicoquímicas y parámetros de calidad de un producto cárneo sometido a sales de curado. *Actas del IV Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Córdoba, Argentina*.
- GOVINDARAJAN, S. (1973). Fresh meat colour. *CRC Critical Reviews in Food Technology*, 3, 117–140.
- GRAIVER, N.; PINOTTI, A.; CALIFANO, A.; ZARITZKY, N. (2006). Diffusion of sodium chloride in pork tissue. *Journal of Food Engineering*, 77: 910–918.
- HEREU A.; BOVER-CIDÍ S.; GARRIGA M.; AYMERICH T. (2012). High hydrostatic pressure and biopreservation of dry-cured ham to meet the Food Safety Objectives for *Listeria monocytogene*. *International Journal of Food Microbiology*, 154: 107–112
- HUGAS, M.; GARRIGA, M.; MONFORT, J. M. (2002). New mild technologies in meat processing: high pressure as a model Technology. *Meat Science*, 62: 359-371.
- JOFRÉ, A.; AYMERICH, T.; GRÈBOL, N.; GARRIGA, M. (2009). Efficiency of high hydrostatic pressure at 600 MPa against food-borne microorganisms by challenge tests on convenient meat products. *Food, Science and Technology*, 42: 924-928.
- JUNG S.; GHOUL M.; DE LAMBALLERIE-ANTON M. (2003). Influence of high pressure on the color and microbial quality of beef meat. *Lebensmittel Wissenschaft und-Technologie*, 36: 625-631.
- RISVIK, E. (1994). Sensory properties and preferences. *Meat Science*, 36, 67–77.
- SCHINDLER, S., KRINGS, U., BERGER, R. G., & ORLIEN, V. (2010). Aroma development in high pressure treated beef and chicken meat compared to raw and heat treated. *Meat Science*, 86, 317–323.
- WEN-CHING, K.; WEN-CHIAN, L.; YU-TING, T.; CHANG-WEI, H.; (2007). Kinetics of winter mushrooms (*Flammulina velutipes*) microstructure and quality changes during thermal processing. *Journal of Food Engineering*, 81: 587–598.

7. TABLAS Y FIGURAS

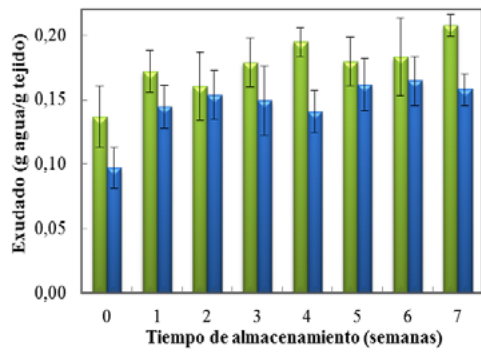


FIGURA 1. Variación del exudado en función de las semanas de almacenamiento a las dos presiones ensayadas (—) 300MPa y (—) 600MPa.

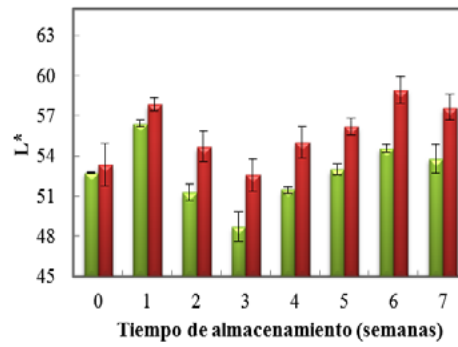


FIGURA 2. Variación de la luminosidad (L^*) de las muestras cárneas en función del tiempo de almacenamiento refrigerado a (—) 300MPa y (—) 600MPa.

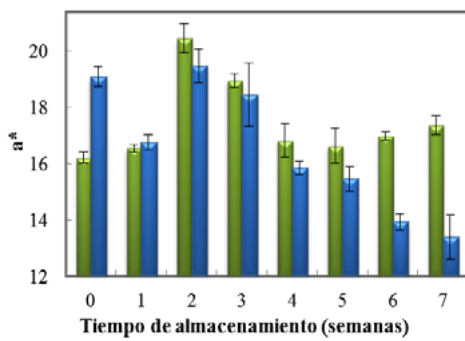


FIGURA 3. Variación del parámetro a^* de las muestras cárneas en función de las semanas de almacenamiento a las dos presiones ensayadas. (—) 300MPa y (—) 600MPa.

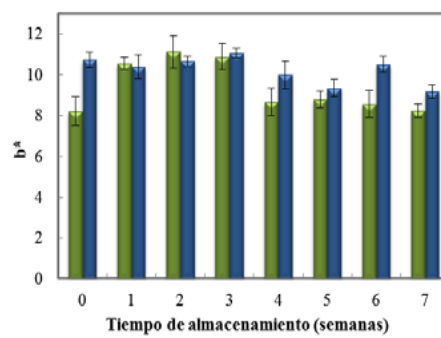


FIGURA 4. Variación del parámetro b^* de las muestras cárneas en función de las semanas de almacenamiento a las dos presiones ensayadas. (—) 300MPa y (—) 600MPa.

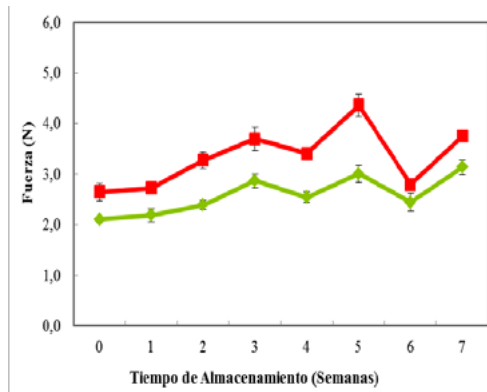
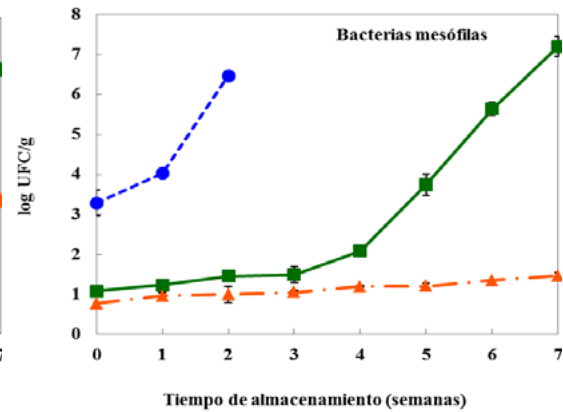
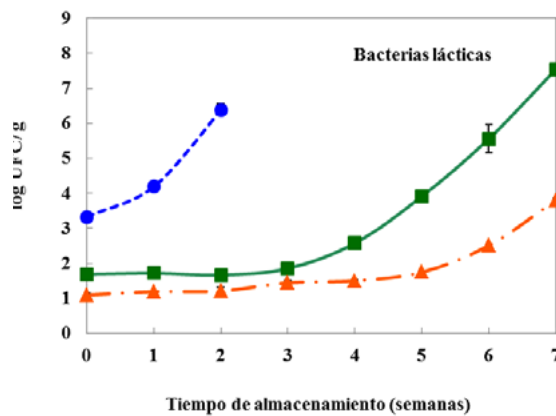


FIGURA 5. Variación de la fuerza máxima en función del tiempo de almacenamiento refrigerado para las dos APH ensayadas (—) 300MPa y (—) 600MPa.

TABLA 1. Efecto de las presiones ensayadas sobre la fuerza máxima y el exudado en las muestras carneas.

PRESIÓN (MPa)	FUERZA (N)	EXUDADO (g agua/g Tejido)
300	2.58±0.08	0.15±0.01
600	3.33±0.13	0.18±0.03



FIGURAS 6 Y 7. Recuento microbiano durante el almacenamiento refrigerado a 4 °C. Carne fresca (●) carne tratada a 300 MPa (■) y carne tratada a 600 MPa (▲)

STUDY OF THE EFFECT OF pH ON COLOR OF FLAVORED SOLUTIONS OF *SPIRULINA* SPP.

A. Catarina Correia¹, Pilar Morais², M. Helena Gomes², Carla Barbosa¹, Rita Pinheiro¹, Manuela Vaz Velho¹

1. ABSTRACT

Microalgae have been identified as an alternative and innovative source of nutrients considered important to human diet, in particular as a source of natural antioxidants not only carotenoids but also polyphenols. The general purpose of this study is to use *Spirulina* spp. as an ingredient for the development of a new food product, using encapsulation techniques to produce colored beads composed of a biopolymer gel network, with a liquid center, for incorporation in a beverage. Preserving its natural blue/green color was considered to be an added value factor to the product, therefore the main objective of this work is to study the effect of pH on color of concentrated lemon juice solutions with *Spirulina* spp. This organism is no longer considered a microalgae and it has been recently classified as a Cyanobacteria and renamed *Arthrospira* spp. In order to evaluate the influence of pH on the stability of the color of this microalgae, solutions of concentrated lemon juice (54° Brix) with 0.10 % of *Spirulina* spp. were prepared at three pH values: 9.08, 4.64 and 3.44. The color of these solutions was measured immediately after the preparation and after a thermal treatment (T = 80 °C, 5 minutes). The following color parameters were registered: lightness (L*), chromaticity coordinates a* and b*, saturation (C*) and hue (h°). A one way ANOVA test was applied followed by a Tukey test (Statistica 7). Differences were considered significant if p<0.05. pH value was found to have a significant effect in all parameters, independently of the step (before or after pasteurization). The pasteurization step significantly influenced the C parameter of all solutions independent-

CONTACTO: Manuela Vaz Velho mvazvelho@estg.ipv.pt

1. UIDICTA, Escola Superior de Tecnologia e Gestão, Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Viana do Castelo, Portugal.

2. Frutech, Centro de Inovação e Tecnologia Agroalimentar, Maia, Portugal.

ly of the pH value. The effect of pasteurization was not significant for the solutions control (pH 9.08) with respect to the other L, a*, h* and b* parameters and the blue/green color was kept at this pH. Therefore for the further development of pasteurized blue/green colored beads with a liquid center, other mixes and other concentrations of *Spirulina* spp., at near neutral pH, could be also tested.

2. INTRODUCTION

Microalgae are a renewable source of enormous potential for obtaining a wide variety of products such as carotenoids, pigments, vitamins, proteins, fatty acids, and other active compounds. Although not well known by the general population, Microalgae are used for a long time for production of compounds for various types of industries (pharmaceuticals, cosmetics) and also for human food (Gouveia *et al.*, 2007). The use of microalgae in the diet of humans, is one of the first records of 2000 years ago, in which the Chinese use *Nostoc* species (currently classified as cyanobacteria) in periods of high food shortages (Priyadarshani and Rath, 2012; Spolaore *et al.*, 2006). Also the Aztec people used various microalgae (eg *Spirulina*, now classified as cyanobacteria) in their daily diet (Bewicke and Potter, 2009). In addition to its nutritional value, these small organisms have the ability to perform photosynthesis process, converting solar energy into chemical energy, a. This conversion mechanism is largely similar to what occurs in terrestrial plants, where photosynthesis takes place in specific complexes called chloroplasts. (Harun *et al.*, 2010; Priyadarshani and Rath, 2012). Chlorophyll is the pigment responsible for the characteristic green color of many fruits and vegetables, as well as of microalgae. This pigment is extremely sensitive to many factors, reaching suffer irreversible changes when exposed to unfavorable conditions of pH and temperature. Generally, the major cause of loss of the characteristic green color is due to the conversion of chlorophyll pigment in pheophytin when the medium is too acid or when the products are subjected to too high processing temperatures (Koca *et al.* 2007). In this reaction the green color is converted to an olive green color which for most consumers is perceived as negative feature.

The cyanobacteria *Arthrospira*, commonly known as *Spirulina* (previously classified as a microalgae) is used for human consumption due its high protein content (60-70 %). It is also rich in iron, unsaturated fatty acids, mainly γ -linolenic acid

(Posten and Walter, 2012). In addition to those nutritional properties is also one of the few cyanobacteria that was recognized and received the status of GRAS (Generally Recognized as Safe) by the FDA, thus safe for human consumption. Because it is a FDA recognized ingredient, make possible its incorporation into the development of new products.

The main objective of this work was to study the effect of pH on color of *Spirulina* spp. solutions aiming its further incorporation in food matrices alone or together with other microalgae.

3. MATERIALS AND METHODS

To evaluate the behavior of *Spirulina* spp. at different pH values, three solutions of water and concentrated lemon juice were prepared. Lemon juice concentrate (054 Brix) was chosen in order to simulate the conditions of a fruit juice composition, the new product intended to be developed. A solution of 100 % water, having pH of 9.08, was set as control. 0.12 and 0.44 g of lemon juice were placed in plastic tubes and water was added up to a volume of 100 ml and mixed until complete dissolution. The pH of each solution was then measured. To these solutions 0.10 g (0.10 %) of *Spirulina* powder (100 % spray dried biomass, Iswari, China) were added and stirred until complete dissolution (Table 1). The color of these three solutions was measured immediately after preparation and after a further thermal treatment (T=80 °C, 5 min). The pasteurized solutions were kept at room temperature (18 ± 2 °C) to cool down before color measurement.

For each step, before and after pasteurization, two consecutive color measurements were made and the values of lightness (L*), coordinates a* and b*, saturation (C) and hue (h0) were recorded (colorimeter Konica Minolta CR 400)(Table 2). For the statistical analysis the software STATISTICA version 7 (StatSoft, Inc, USA) was used.

4. RESULTS AND DISCUSSION

Apart from preserving *Spirulina* nutritional value, preserving its natural blue/green colour, when subjected to different pH and heat processing, was considered to be an added value factor to the new product development. If this experiment was suc-

cessful on preserving colour, new products with *Spirulina* spp. alone or *Spirulina* spp. with other microalgae, such as *Chorella vulgaris*, could be developed. There are already some commercial applications where *Spirulina* spp. and *Chlorella vulgaris* are used in combination.

In this experiment difficulties of dissolution of *Spirulina* in water were found and in a short time after mixing/stirring deposition of *Spirulina* particles occurred (Figure 1). Even so, as it was considered that the application of *Spirulina* spp. would be advantageous for various food applications, it was important to evaluate its performance at different pH values. Results showed that pH have a significant effect in all color parameters of all solutions before pasteurization and there were significant differences between samples ($p < 0.005$) (Figure 2). The acid solutions (pH 4.64 and 3.44) acquired a brownish color. Also, the heat treatment, significantly influenced the color parameters of all solutions.

In Figure 2 lightness (L^*) in samples before pasteurization, with exception of sample of pH 4.64, increases as pH decreases, meaning solutions becoming more white. The unexpected result of this sample might be addressed to the deposition of *Spirulina* at the bottom that, in some cases, obliged to delay the sampling time for colour measurements and, therefore, interfering in the behavior of the samples. The pasteurization significantly affected samples at acid pH whereas the control solutions (pH= 9.08) kept the L^* value independently of the heat treatment (Tukey test, significant ($p < 0.05$)).

With regard to the parameter a^* , which represents the color green in the negative direction and red in the positive direction, we verified that the samples of pH 9.8 and 4.64 are those that presented the higher a^* values before pasteurization, this value increasing in all solutions after pasteurization.

For parameter b^* , the highest value recorded was in samples at pH = 3.44 after pasteurization, this solution being the closest to the yellow color. Again, we could also verify, that pH and heat treatment significantly affected the b^* parameter of solutions, the control solutions (pH=9.08) being less influenced by the heat treatment.

Regarding the behavior of the parameter saturation C^* , control samples were not significantly affected by pasteurization step and this parameter value was significantly affected by pH before and after pasteurization. Hue angle (h°) of control samples was not affected by pasteurization. However, both C^* and h° values of the three samples do not follow a pattern with respect to pH, and this might be due to

Spirulina particle's aggregation which created difficulties in measuring these parameters. However, with respect to this parameter, is again noticeable that the control solutions are less affected by pasteurization.

5. CONCLUSIONS

The effect of pasteurization did not significantly affect the control solutions (pH 9.08) with respect to the L, a*, h*, C and b* parameters and the blue/green color was kept at this pH value in all samples before pasteurization. However aggregation of particles occurred which pose difficulties in stabilizing the solutions. The fact that samples at acid pH were affected by the heat treatment, make clear that for preserving the blue/green color solutions having a pH near neutrality should be used. Therefore, for the further development of pasteurized blue/green colored beads with a liquid center, other mixes and/or other concentrations of *Spirulina* spp. alone, or with other components, should be also tested.

6. REFERENCES

- BEWICKE, D., and B. Potter, 2009, *Chlorella: The Emerald Food*, Ronin Publishing.
- GOUVEIA, L., A. P. Batista, A. Miranda, J. Empis, and A. Raymundo, 2007, *Chlorella vulgaris* biomass used as colouring source in traditional butter cookies: *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, v. 8, p. 433-436.
- HARUN, R., M. Singh, G. M. Forde, and M. K. Danquah, 2010, Bioprocess engineering of microalgae to produce a variety of consumer products: *Renewable & Sustainable Energy Reviews*, v. 14, p. 1037-1047.
- KOCA, N., F. Karadeniz, and H. S. Burdurlu, 2007, Effect of pH on chlorophyll degradation and colour loss in blanched green peas: *Food Chemistry*, v. 100, p. 609-615.
- POSTEN, C., and C. Walter, 2012, *Microalgal Biotechnology: Integration and Economy*, De Gruyter.
- PRIYADARSHANI, I., and B. Rath, 2012, Commercial and industrial applications of micro algae – A review *Journal of Algal Biomass Utilization*, Department of Biotechnology, North Orissa University, p. 89-100.
- SPOLAORE, P., C. Joannis-Cassan, E. Duran, and A. Isambert, 2006, Commercial applications of microalgae: *Journal of Bioscience and Bioengineering*, v. 101, p. 87-96.

7. TABLES AND FIGURES

TABLE 1. Composition of *Spirulina* spp. solutions, and respective pH values, after preparation

	Lemon concentrate (g)	<i>Spirulina</i> poder (g)	water (mL)	pH
Control	--	0.10	100	9.08
Solution 1	0.12	0.10	99.88	4.64
Solution 2	0.44	0.10	99.56	3.44

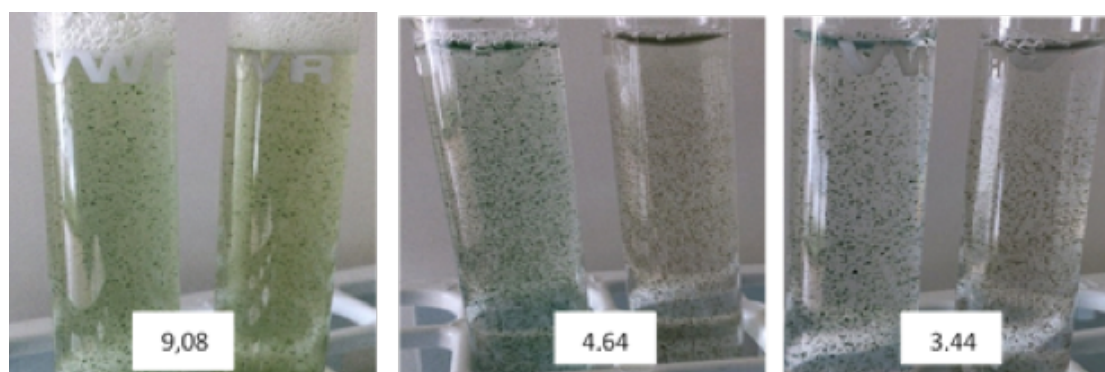


FIGURE 1. *Spirulina* spp. solutions at different pH values, before and after pasteurization, respectively in left and right containers

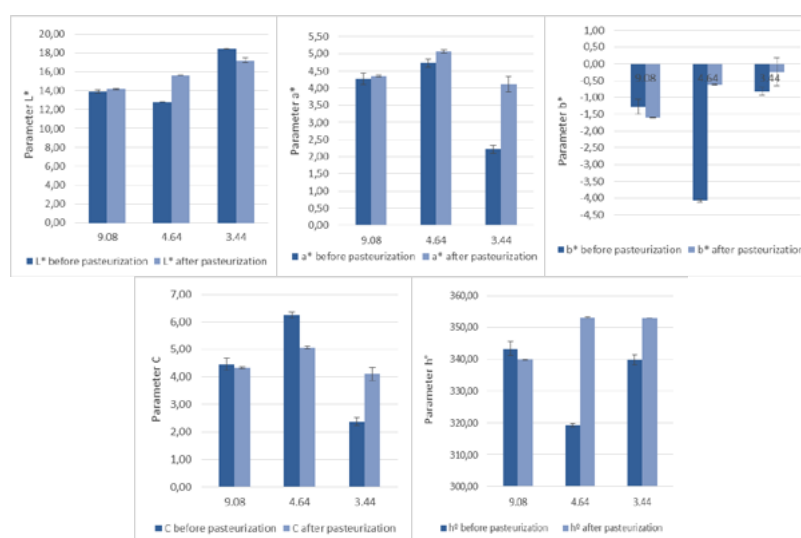


FIGURE 2. Variation of color (L^* , a^* , b^* , C e h° parameters) of *Spirulina* spp. solutions at different pH, before and after pasteurization

EFFECTO ANTIMICROBIANO DE CITRAL EN SISTEMAS MODELO DE BEBIDAS FORMULADAS A BASE DE SUERO DE QUESO

Valentín Cucagna, Sandra Lía Mugliaroli, Rosa Jagus

1. RESUMEN

El suero de queso, efluente de la industria quesera, presenta una alta demanda biológica de oxígeno y por lo tanto no puede ser eliminado sin tratar. Como contrapartida, presenta un alto valor nutritivo por lo que resulta de interés desarrollar procesos de recuperación y revalorización para su aprovechamiento integral. Las bebidas a base de suero de queso resultan una posibilidad para recuperar este subproducto. Se trata de alimentos proteicos y de alto contenido acuoso que resultan susceptibles al desarrollo microbiano. Por lo tanto, su diseño requiere la aplicación de tratamientos que prolonguen su vida útil microbiológica. En este sentido, existe gran interés en la investigación de antimicrobianos naturales como los aceites esenciales de origen vegetal, en particular, el citral, presente en aceites de lemongrass, aceites de limón y naranja. El objetivo de este estudio fue evaluar la efectividad antimicrobiana del citral en sistemas modelo de bebidas a base de suero de queso. Se estudió el comportamiento de *Listeria innocua* y de *Saccharomyces cerevisiae* frente a distintas concentraciones de citral (0,01 a 0,1 %) en sistemas modelo de bebidas formuladas a base de suero de queso de pH 4 y pH 6. El citral resultó eficaz para controlar el crecimiento de *L. innocua* a ambos pH, pero el aumento de acidez incrementó este efecto notoriamente. En los sistemas de pH 4, la aplicación de 0,05 % citral tuvo acción inhibitoria instantánea disminuyendo el recuento por debajo de 1 log UFC. ml⁻¹, mientras que el agregado de 0,02 % citral ejerció el mismo poder inhibitorio a partir de las 24h de almacenamiento. A su vez, el citral controló el crecimiento de *S. cerevisiae*, y su efecto inhibitorio no se vio modificado por la variación de pH. En

CONTACTO: Sandra Lía Mugliaroli smugliaroli@di.fcen.uba.ar

Laboratorio de Microbiología Industrial: Tecnología de Alimentos,
Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería,
Universidad de Buenos Aires (UBA).

este caso, la aplicación de 0,01 % de citral fue suficiente para provocar una disminución del recuento hasta 1 log UFC.ml⁻¹ a las 24 h de almacenamiento. Los resultados obtenidos demostraron que el empleo de citral como antimicrobiano natural es una alternativa innovadora para extender la vida útil de los sistemas de bebidas formuladas a base de suero de queso.

2. INTRODUCCIÓN

El consumidor actual exige alimentos más naturales, saludables y seguros. En este sentido, existe gran interés en la investigación sobre el potencial uso de aceites esenciales de origen vegetal como antimicrobianos naturales. Entre otros investigadores, Lang y Buchbauer (1), Singh y col. (2) y Voon y col.(3) han demostrado el poder antimicrobiano de gran parte de ellos, muchos de los cuales han sido certificados como GRAS (Generally Recognized As Safe) (4). Entre estos productos, se encuentran aceites que contienen citral como los aceites de lemongrass, limón y naranja. El citral (C₁₀H₁₆O, 3,7-dimetil-2,6-octadienal) es un terpenoide que se encuentra en la naturaleza en ambas formas isoméricas, trans (geranial) y cis (neral). Fisher y Carol (5) comprobaron su poder antimicrobiano frente a *E. coli*, *Salmonella* spp. y *Listeria* spp. en jugo de manzana. Asimismo, otros estudios dieron cuenta de su efectividad frente a *Salmonella typhimurium* (6), *Candida* spp (7), *Penicillium italicum* y *Rhizopus stolonifer*, (8). Sin embargo, es escasa la información sobre su aplicación como antimicrobiano en formulaciones lácteas. El suero de queso posee un alto valor nutritivo ya que contiene más del 50 % de los sólidos de la leche, incluyendo proteínas solubles, lactosa, minerales y vitaminas (9) y, debido a su alta demanda biológica de oxígeno, no puede ser eliminado sin tratar. Las bebidas a base de suero de queso resultan una posibilidad para aprovechar y revalorizar este subproducto. Como una buena alternativa, se pueden encontrar desarrollos de bebidas a base de suero líquido de buen valor nutricional, y buena aceptabilidad entre los consumidores (10,11). En cuanto a los posibles problemas microbiológicos asociados a este tipo de productos, se señala la importancia de la contaminación de levaduras y mohos en el área de producción de quesos de suero (12,13). Por otra parte, Kousta (14) y Samelis (15) destacaron la presencia de *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp. y *Escherichia coli* O157:H7 como contaminantes patógenos de importancia a nivel de granjas y plantas procesadoras

de quesos. Por estas razones, resulta interesante desarrollar procesos que permitan prolongar la vida útil de este tipo de productos utilizando antimicrobianos naturales. El objetivo de este estudio fue evaluar la efectividad antimicrobiana del citral frente a *L. innocua* y *S. cerevisiae* en sistemas modelo de bebidas a base de suero.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Los sistemas modelo (0,6 % proteína y 1,73 % de sólidos) se prepararon a partir de WPC (proteínas concentradas de suero 35 % proteínas; LACTOPRODAN 35, Arla Food Ingredients S.A.). Para evaluar el efecto antimicrobiano a distintos pHs, un grupo de sistemas se ajustó a pH 4 y otro a pH 6 por agregado de ácido cítrico. Se prepararon sistemas de pH 4 con diferentes concentraciones de citral (aceite citral extra fino, Saporiti Sabores, Argentina): 0,01 %, 0,02 %; 0,03 % y 0,05 %. En cuanto a los sistemas de pH 6, se hicieron agregados de citral para alcanzar concentraciones de 0,03 %; 0,05 %; 0,07 % y 0,1 %. Para ambos pHs se prepararon sistemas control, sin citral. Todos los sistemas se inocularon con *L. innocua* (ATCC 33090) con aproximadamente 10^6 UFC.ml⁻¹, a partir de un cultivo fresco del microorganismo en caldo tripteína de soja enriquecido con extracto de levadura (TSBYE, Biokar Diagnostics, Francia) incubado a 28 °C en agitación. En cuanto al estudio de *S. cerevisiae* (CBS 1171, cepa de colección SC cepa), los sistemas se inocularon con aproximadamente 10^5 UFC.ml⁻¹ a partir de un cultivo del microorganismos en caldo Sabouraud dextrosa con extracto de levadura (Biokar Diagnostics, Francia), incubado a 28 °C en agitación durante 18 h . Los sistemas inoculados se almacenaron en agitación a 28 °C durante 48hs. La efectividad antimicrobiana frente a ambos microorganismos se evaluó a: 1h, 24h y 48h de la inoculación, realizando recuentos microbiológicos en medios apropiados. Los recuentos de *L. innocua* se realizaron en agar Oxford (Biokar Diagnostics, Francia), 24-48h a 37 °C. Los recuentos de *S. cerevisiae* se realizaron en agar glucosa, cloranfenicol extracto de levadura (YGC, Biokar Diagnostics, Francia), 3 – 5 días a 28 °C. Se empleó *S. cerevisiae* como ejemplo de levadura contaminante y posible agente de deterioro y *L. innocua* como subrogante de *L. monocytogenes*. Muchas investigaciones han empleado *L. innocua* como marcador de *L. monocytogenes* por presentar características semejantes, similitud fisiológica y ser ambas contaminantes frecuentes de plantas elaboradoras

de alimentos (16, 17, 18). Todos los análisis se realizaron por duplicado y se informaron como promedio del recuento y desviaciones estándar (SD). Para el análisis estadístico de los datos se empleó el programa STATGRAPHIC PLUS.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La evolución de la población de *L. innocua* en los sistemas modelos de pH 6 almacenados a 28 °C en agitación se muestra en la Figura 1. La contaminación inicial de los sistemas fue de aproximadamente 6 log UFC.ml⁻¹. Al finalizar el almacenamiento la población de *L. innocua* en el control alcanzó un nivel de 7,14 log UFC.ml⁻¹. La respuesta de *L. innocua* frente al citral dependió de la concentración agregada. En los sistemas con 0,03 % de citral se registró un recuento igual al control al final del almacenamiento. En los sistemas de pH 6, la única concentración que ejerció una reducción instantánea hasta recuentos inferiores a 1 log UFC.ml⁻¹ fue 0,1 % de citral (Tabla 1). A partir de las 24 h de almacenamiento, la aplicación de concentraciones de 0,05 % o mayores disminuyeron el recuento microbiano a valores inferiores a 1 log UFC.ml⁻¹. En la Figura 2 se muestra el comportamiento de *L. innocua* en sistemas modelo de pH 4. La contaminación inicial de los sistemas fue de aproximadamente 6 log UFC.ml⁻¹. En el sistema control, la población sufrió una reducción de 2,0 ciclos log UFC.ml⁻¹ respecto de la contaminación inicial al final del almacenamiento. La influencia del agregado de ácido sobre el crecimiento de *Listeria spp.* en alimentos ha sido muy estudiada. Phan-Thanh y col. (19) observaron que el pH mínimo que estas bacterias pueden resistir depende de la composición del medio, de la cepa y de su estado fisiológico. En los sistemas de pH 4, el antimicrobiano tuvo un efecto instantáneo sobre *L. innocua* que mostró recuentos de 5,88; 3,77 y menor de 1 log UFC.ml⁻¹ al aplicar 0,02 %; 0,03 % y 0,05 % de citral respectivamente (Tabla 1). Sin embargo a partir de las 24 h de almacenamiento todas las concentraciones ejercieron el mismo efecto inhibitorio y la población microbiana mostró recuentos menores de 1 log UFC.ml⁻¹. En este sentido, Ricke y col. (20), señalaron que la actividad antimicrobiana de muchos aceites esenciales presenta un efecto sinérgico con los tratamientos ácidos y de calor, hecho que se debería a que estos tratamientos afectan distintas estructuras microbianas y de metabolismo. Lanciotti y col. (21) informaron que el carácter lipofílico de estos aceites les facilita la entrada a la membrana celular provocando pérdida del contenido citoplasmático y pérdida de

su funcionalidad. La Figura 3 muestra el comportamiento de *S. cerevisiae* en los diferentes sistemas modelos a pH 6, almacenados a 28 °C en agitación. La contaminación inicial de los sistemas fue de aproximadamente 5 log UFC.ml⁻¹. Esta levadura resultó muy sensible a la acción de citral ya que la aplicación de 0,01 % de citral fue suficiente para disminuir el recuento por debajo de 1 log UFC.ml⁻¹ a las 24 h de almacenamiento. Zore y col. (22) estudiaron la actividad inhibitoria de seis compuestos terpénicos, frente a *Cándida albicans* y otras levaduras y comprobaron que las concentraciones mínimas inhibitorias (MIC) variaban entre 0.032 y 0,064 %. La Figura 4 muestra la evolución de la población de *S. cerevisiae* en los sistemas modelo a pH 4. Al final del almacenamiento, el recuento alcanzado por el control (6,85 log UFC.ml⁻¹) no mostró diferencias significativas ($p < 0,05$) con el observado en el sistema control a pH 6. De la misma forma, no se comprobaron diferencias significativas en la acción instantánea entre los sistemas con iguales concentraciones de citral a ambos pHs, (Tabla 2). Asimismo, a partir de las 24 h, los recuentos fueron menores a 1 log UFC. ml⁻¹ en todos los sistemas con citral a pH 6 y pH 4. Estos resultados demostraron que *S. cerevisiae* no fue sensible a la disminución del pH. Peter Piper *et al.* (23) han informado diferentes mecanismos para explicar la resistencia desarrollada por algunas levaduras frente a la acción de ácidos orgánicos débiles. El mecanismo adjudicado a *S. cerevisiae* consiste en la extracción activa de ácido de la célula, que involucra considerable gasto de energía asociado con altos niveles de un transportador específico de ATP (Pdr12) inducido dentro de la membrana plasmática para catalizar este flujo.

5. CONCLUSIONES

Los resultados de este estudio demostraron que es posible utilizar citral como antimicrobiano natural en sistemas modelo de bebidas formuladas a base de suero de queso. Se comprobó que el citral tuvo un fuerte efecto inhibitorio sobre *L. innocua* y *S. cerevisiae*, presentes en estos sistemas, provocando una caída del recuento microbiano por debajo de los límites de detección del método a las 24 de almacenamiento a 28 °C.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. LANG G, Buchbauer G. A review on recent research results (2008-2010) on essential oils as antimicrobial and antifungals. A review. *Flavour and Fragrance Journal*. 2012Jan; 27(1): 13-39.
2. SINGH BR, Singh V, Singh RK, Ebibeni N. Antimicrobial activity of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) oil against microbes of environmental, clinical and food origin. *Int. Research of Pharmacy and Pharmacology*. 2011Dec; 1(9): 228-236.
3. VOON HCH., Bhat R, Rusul G. Flower extract and their essential oils as potential antimicrobial agents for food uses and pharmaceutical applications. *Compr Rev Food Sci Food Saf*. 2012Jan; 11: 34-55.
4. CODE OF FEDERAL REGULATIONS, Title 21, Volume 3. Revised as of April 1; 2013.
5. FISHER K, Phillips C. Potential antimicrobial uses of essential oils in food: is citrus the answer? *Trends Food Sci Technol*. 2008Mar; 19(3): 156-164.
6. Kim JM, Marshall MR, Cornell JA, Preston JF, Wei CI. Antibacterial activity of carvacrol, citral, and geraniol against *Salmonella typhimurium* in culture medium and fish cubes. *J Food Sci*. 1995Nov; 60 (6): 1364-1368.
7. BONA DA SILVA C, Guterres SS, Weisheimer V, Schapoval EES. Antifungal activity of the lemongrass oil and citral against *Candida* spp. *Braz J Infect Dis*. 2008Feb; 12(1): 63-66.
8. SADDIQ AA, Khayyat SA. Chemical and antimicrobial studies of monoterpene: Citral. *Pestic Biochem Physiol*. 2010Sep; 98: 89-93.
9. SMITHERS GW. Whey and whey proteins – From ‘gutter – to – gold’. *Int Dairy J*. 2008Jul; 18: 695-704.
10. SAKHALE BK, Pawar VN, Ranveer RC. Studies on the development and storage of whey based RTS beverage from mango cv. Kesar. *J Food Process Technol*. 2012Mar; 3 (3): 148-151.
11. TRANJAN BC, Cruz AG, Walter EHM, Faría JAF, Bolini HMA, Moura MRL, Carvalho LMJ. Development of goat cheese whey-flavoured beverages. *Int J Dairy Technol*. 2009Aug; 62(3): 438-443.
12. TEMELLI S, Sahsene A, Cem S, Pelin A. Determination of microbiological contamination sources during Turkish white cheese production. *Food Control*. 2006Nov; 17: 856–861.
13. WELTHAGEN JJ, Viljoen BC. Yeast profile in Gouda cheese during processing and ripening (*1*) *International Journal of Food Microbiology*. 1998 Febr; 41(3):185-194.
14. KOUSTA M, Marios M, Panagiotis S, Drosinos EH. Prevalence and sources of cheese contamination with pathogens at farm and processing levels. *Food Control*. 2010Jun; 21(6): 805-815.

15. SAMELIS A, Kakouria KJ, Roggab IN, Savvaidisb MG, Kontominas MG. Nisin treatments to control *Listeria monocytogenes* post-processing contamination on Anthotyros, a traditional Greek whey cheese, stored at 4 °C in vacuum packages. *Food Microbiol.* 2003Dec; 20: 661-669.
16. NORIEGA E, Laca A, Díaz M. *Listeria* growth under diffusional limitations in synthetic meats. *Int J Food Sci Technol.* 2009Mar; 44(4): 725-734.
17. PINTO M S, Carvalho AF, Pires ACS, Paula JCJ, Sobral D, Magalhães FAR. Survival of *Listeria innocua* in Minas Traditional Serro cheese during ripening. *Food Control.* 2009Dec; 20: 1167-1170.
18. SILVA IMM, Almeida RCC, Alves MAO, Almeida PF. Occurrence of *Listeria* spp. In critical control points and the environment of Minas Frescal cheese processing. *Int J Food Microbiol.* 2003Mar; 81: 241-248.
19. PHAN-THANH L, Mahouin F, Aligé S. Acid responses of *Listeria monocytogenes*. *Int J Food Microbiol.* 2000Apr; 55: 121-126.
20. RICKE S C, Kundinger MM, Miller DR, Keeton JT. Alternatives to antibiotics: Chemical and Physical Antimicrobial Interventions and Foodborne Pathogen Response. *Poultry Science.* 2005Apr; 84 (4): 667-675.
21. LANCIOTTI R, Gianotti A, Patrignani F, Belletti N, Guerzoni ME, Gardini F. Use of natural aroma compounds to improve shelf-life and safety of minimally processes fruits. *Trends Food Sci Technol.* 2004Apr; 15(4): 201-208.
22. ZORE GB, Thakre AD, Jadhav S, Karuppayil SM. Terpenoids inhibit *Candida albicans* growth by affecting membrane integrity and arrest of cell cycle. *Phytomedicine.* 2011Oct; 18(13):1181-90.
23. PIPER P, Ortiz Calderona C, Hatzixanthis K, Mollapour M. Weak acid adaptation: the stress response that confers yeasts with resistance to organic acid food preservatives. *Microbiology.* October 2001 Oct; 147(10): 2635-2642.

7. TABLAS Y FIGURAS

TABLA 1. Recuentos de *Listeria innocua* en sistemas modelo a pH 6 con diferentes concentraciones de citral medidos a 1 h de almacenamiento a 28 °C. El límite de detección del método de recuento es 1,00 log UFC.ml⁻¹ y la indicación “---” corresponde a determinaciones no realizadas. Los recuentos con el mismo supraíndice no presentan diferencias significativas entre sí (p<0,05).

% citral en sistemas modelo	log UFC.ml ⁻¹	
	pH 6	pH 4
Control	6,58 ±0,03 ^a	6,36±0,51 ^{ab}
0,02	---	5,88±0,48 ^{cd}
0,03	6,19±0,37 ^b	3,77±0,04
0,05	5,95±0,41 ^{bc}	< de 1,00
0,07	5,36±0,08 ^d	---
0.1	< de 1,00	---

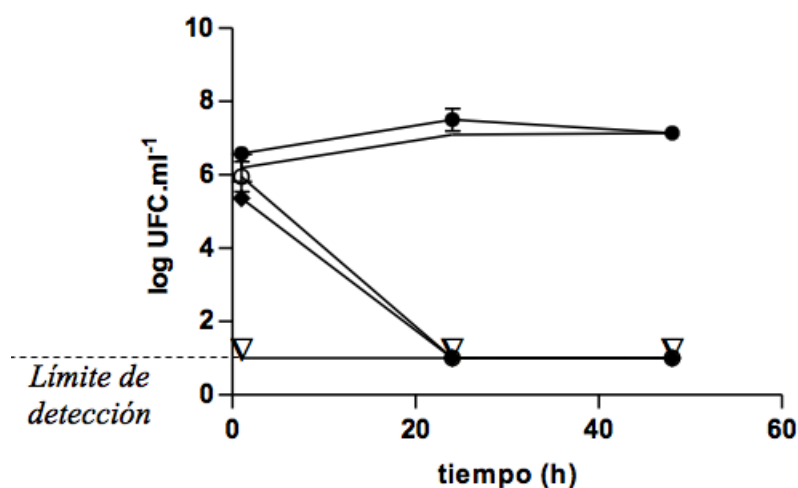


FIGURA 1. Evolución de la población de *Listeria innocua* en sistemas modelos de bebidas de suero pH 6; 0,6 % de proteínas; almacenado a 28 °C con diferentes concentraciones de citral:

● control, □ 0,03 % citral, ○ 0,05 % citral, ◆ 0,07 % citral, ∇ 0,1 % citral.

Las barras de error indican la desviación estándar. El límite de detección es 1 log UFC.ml⁻¹.

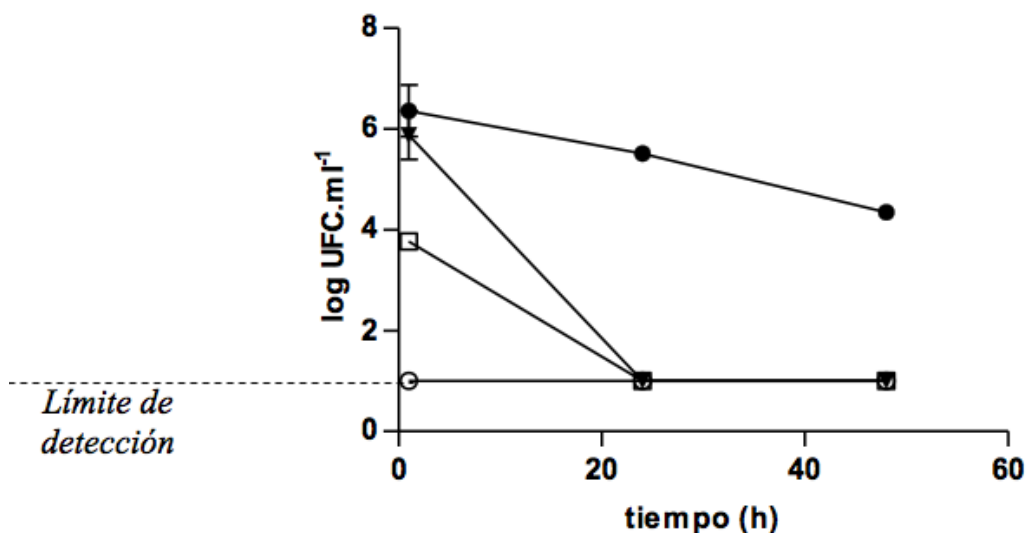


FIGURA 2. Evolución de la población de *Listeria innocua* en sistemas modelos de bebidas de suero pH 4; 0,6 % de proteínas; almacenado a 28 °C con diferentes concentraciones de citral:

● control, ▼ 0,02 % citral, □ 0,03 % citral, ○ 0,05 % citral.

Las barras de error indican la desviación estándar. El límite de detección es 1 log UFC.ml⁻¹.

TABLA 2. Recuentos de *Saccharomyces cerevisiae* en sistemas modelo a pH 6 con diferentes concentraciones de citral medidos a 1 h de almacenamiento a 28 °C. Los recuentos con el mismo supraíndice no presentan diferencias significativas entre sí ($p < 0,05$).

% citral en sistemas modelo	log UFC.ml ⁻¹	
	pH 6	pH 4
Control	4,90±0,13 ^a	4,75±0,07 ^{ab}
0,01	4,15±0,11 ^b	4,45±0,11 ^b
0,02	3,75±0,45 ^c	3,72±0,12 ^c
0,03	2,77±0,45 ^d	2,65±0,49 ^d

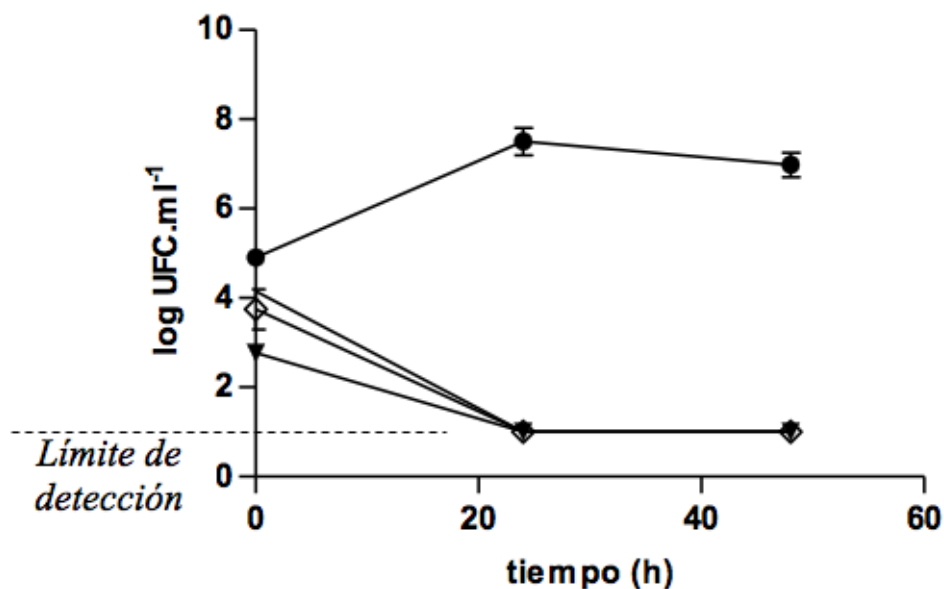


FIGURA 3. de la población de *Saccharomyces cerevisiae* en sistemas modelos de bebidas de suero pH 6; 0,6 % de proteínas; almacenado a 25 °C con diferentes concentraciones de citral:

● control, □ 0,01 % citral, ◇ 0,02 % citral, ▼ 0,03 % citral.

Las barras de error indican la desviación estándar. El límite de detección es 1 log UFC.ml⁻¹.

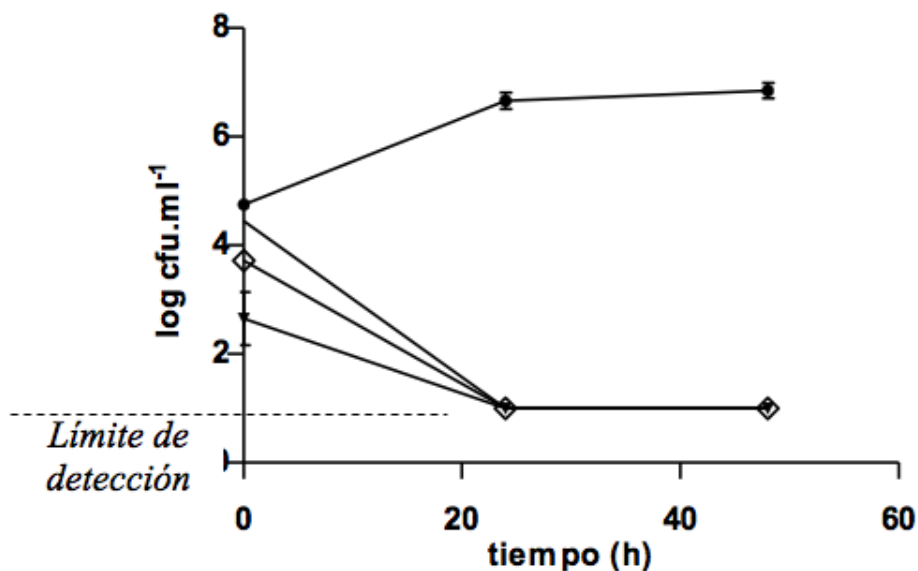


FIGURA 4. Evolución de la población de *Saccharomyces cerevisiae* en sistemas modelos de bebidas de suero pH 4; 0,6 % de proteínas; almacenado a 25 °C con diferentes concentraciones

de citral: ● control, □ 0,01 % citral, ◇ 0,02 % citral, ▼ 0,03 % citral.

Las barras de error indican la desviación estándar. El límite de detección es 1 log UFC.ml⁻¹.

NEW INSIGHTS IN BREWER SPENT YEAST EXTRACT USED AS GEL STABILIZER IN COOKED HAM PRODUCTION

Gastón Ignacio Pancrazio^{1,2}, Sara Cunha², Paula Guedes de Pinho³, Isabel Maria Pinto Leite Viegas Oliveira Ferreira², Olívia Maria de Castro Pinho^{1,2}

1. ABSTRACT

In beer production, yeast is used several times for fermentation and then discards being the second major by-product from brewing industry. Currently, yeast extracts have received attention as flavour enhancers in different meat and foods product but to our knowledge its use as stabilizer in meat products was not studied yet. Cooked ham is a brine-treated product obtained after tumbling and cooking/cooling treatment with a shelf-life of 90 days. The effect of spent yeast addition on cooked ham with reduced tumbling time compared with conventional process was studied by two-way ANOVA. Control samples (added with acetate buffer 0.04M) and cooked ham added with spent yeast extract were tumbled 9 hours whereas conventional cooked hams were tumbled 18 hours. Proximal composition, Texture Profile Analysis (TPA), CIE $L^* a^* b^*$, Free Amino Acids (FAA) and volatile compounds analysis were done in this study. Spent yeast extract addition increased TPA parameters (hardness, gumminess and chewiness) in around 30 % when compared with control cooked ham at 12 and 90 days after production. Finally, according with this study, spent yeast extract could be used as gel stabilizer in cooked ham formulations and with main emphasis in cooked ham productions where the processing time is an important goal for food industry producers.

CONTACTO: Gastón Ignacio Pancrazio gpancrazio@fb.uner.edu.ar

1. Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação, Universidade do Porto, Porto, Portugal.

2. REQUIMTE, Departamento de Ciências Químicas, Laboratório de Bromatologia e Hidrologia, Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto, Porto, Portugal.

3. REQUIMTE, Departamento de Ciências Biológicas, Laboratório de Toxicologia, Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto, Porto, Portugal.

2. INTRODUCTION

Yeast extracts have received much attention as flavour enhancers in low-sodium fermented sausages, in low-sodium cured meat products and such as sauces, gravies, chips and crackers (Desmond 2006, Campagnol *et al.* 2011). Brewer's yeast is generally recognized as safe (GRAS) and has good nutritional characteristics (Chae *et al.* 2001). It is rich in numerous enzymes, namely, vacuolar proteases including serine, aspartyl, and metallo proteases, among others (Ferreira, Pinho *et al.* 2010). It is the second major by-product from brewing industry, being basically used as animal feed (Ferreira *et al.* 2010). No studies described its proteolytic activity effects on meat tenderization, or as an ingredient in the production of cooked ham, thus the industrial application of these enzymes is a field to explore.

Cooked ham is a very common brine-treated product consumed worldwide. The quality of cooked ham is influenced by raw material, brine composition, mechanical and cooking/cooling treatments. Brine promotes protein solubilisation, increases flavour, gives a better yield, and uniform brine ingredients. Tumbling facilitates the extraction of proteins that cause binding of meat pieces and colour development and distribute the brine into muscle. Cellular disruption, extraction and solubilisation of myofibrillar proteins that occurs during tumbling have beneficial effects on ham texture (Siegel *et al.* 1978, Hullberg and Lundström 2004, Szman *et al.* 2007, Cassidy *et al.* 1978, Xargayó 2010). Cooking can be considered as pasteurization (Toldrá *et al.* 2010). Thus, the main objectives of this step are microbial destruction, development of sensory properties, denatures the myofibrillar proteins and enzyme inactivation (Lagares 2010, Toldrá *et al.* 2010). Cooked ham shelf-life is 90 days, defined as the time period during which it remains effective, useful, and suitable for consumption. Additionally, relatively few data are available on the effect of tumbling time on quality attributes, proteolysis and volatiles of cooked ham.

During the past years, there has been an economic incentive to use high-protein non-meat additives to decrease production costs. The use of whey protein concentrates, isolates or fluid whey is described in literature (Dutra *et al.* 2012). No studies described the use of protein rich extracts from spent yeast biomass from brewing industry on production of cooked ham. Thus, the goal of this study was the use of brewer spent yeast extract as gel stabilizers in cooked ham production with reduce tumbling time and maintain its high quality characteristics. Were evaluated phy-

sical-chemical and sensory characteristics of different cooked hams: conventional product; samples with reduced tumbling time and with addition of brewing spent yeast extract. Instrumental measurable parameters and sensory analyses were performed at the beginning and end of shelf-life.

3. MATERIALS AND METHODS

PROTEIN RICH SPENT YEAST EXTRACT

The brewing spent yeast biomass was washed three times with deionized water at a ratio of 1:3 (w/v) (yeast biomass: water) and centrifuged at 10.000xg, 4 °C, 5 min between each wash. The cell wall was destroyed with glass beads at a ratio of 1:2:1 (biomass: 0.04 M acetate buffer pH 5: glass beads, g/v/g) by vortexing 10 minutes. Glass beads were removed and the homogenate was centrifuged at 15.000xg, 4 °C for 30 min. The pellet was discarded and the supernatant was used as a cell wall-free extract. For each batch of yeast added cooked ham the extract was lyophilized during 48hs. The powder was re-suspended in 0.04 M acetate buffer to a final volume of 250 ml. Total protein was measured by Bradford micro assay method at 595 nm (Bradford 1976). Proteins from spent yeast extract were analysed by RP-HPLC/UV according to Silva *et al.* (2008) using an analytical HPLC system (Jasco, Tokyo, Japan). Protein profile of spent yeast extract was evaluated on extracts stored at 4 °C and extracts incubated at 70 °C during 1 hour.

SAMPLING

Cooked hams were prepared by the industry at pilot scale. Two batches of high quality cooked hams with Conventional Tumbling (coded as CT) were prepared in different days using 20 kg of pork leg cuts injected with 35 % brine solution. The meat cuts containing brine was tumbled (Technical, PULMAX 200) with 7 cycles/min under vacuum at controlled temperature between 0-4 °C during 18 h. Meat cuts were packaged to form cooked ham pieces with approximately 900 g each. Ten hams were cooked in an oven (Verinox, Junior 1100) with a constant atmospheric temperature of 80 °C to obtain a central temperature of 68 °C. Cooking time was 1 hour and 30 min. After, the samples refrigerated at 0-4 °C overnight and stored during 12 days at 4 °C. Two batches of 10 cooked hams with Reduced Tumbling time (coded as RT) were tumbled during 9 h (Control samples). Furthermore, other

two batches of 10 cooked hams with 9 h added of 1 % Yeast extract (coded as RTY). Thus, a total of 60 hams (CT, RT, RTY) were produced for this study.

Three hams of each batch of CT, RT and RTY were collected after 12 days to perform laboratorial analysis and another 3 hams were collected after 90 days. Triplicate analyses were carried out.

PHYSICAL ANALYSES OF COOKED HAM

Texture profile analysis (TPA) was performed according with González H *et al.* (2009). Cooked ham samples were cut into cubes 20 x 30 mm using a steel cutter from a 30 mm central slice. TPA was performed using a TA-XT2i texture analyser (Stable Micro Systems®) equipped with a load cell of 25 kg and a probe of 20 mm diameter SMSP/20. Colour analysis was performed using a Minolta colorimeter (Minolta Inc., Ramsey, NJ, USA) calibrated for internal light (D65) before the measurement of L* (lightness), a* (redness/greenness) and b* (yellowness/blueness). Hams were cut on the middle of the piece and measurements were carried out at three randomly chosen points.

CHEMICAL ANALYSES OF COOKED HAM

Proximal composition was evaluated using (AOAC 2000) methods (950.46, 920.153, 928.08 and 991.36). Analyses of pH were performed according to Liu *et al.* (2011). All determinations were carried out in duplicated. Ham free amino acids were analysed according to Pérez-Palacios *et al.* (2013) derivatized with N-Methyl-N-tert-butyltrimethylsilyltrifluoroacetamide (MTBSTFA) carried out in an Agilent 6890 gas chromatograph (Agilent, Avondale, PA, USA) coupled to a MS detector (Agilent 5973).

The volatile compounds were extracted by headspace solid phase microextraction (HS- SPME) and analysed by Chromatographic analysis (Varian 4000 GC-MS) coupled to a mass selective detector (Varian 240MS/4000 Mass Spec). The optimised HS-SPME procedure used for evaluation of volatiles compounds in cooked ham samples was adapted from Pérez-Palacios *et al.* (2012). The agitation temperature was 55 ± 1 °C and each sample was incubated during 5 min and agitation speed used was 250 rpm. Fibre was exposed to the HS for 45 min under constant agitation (250 rpm). Thereafter, the SPME fibre was inserted and desorbed for 4 min at 230 °C, in the splitless mode, with 1 ml/min-flow.

STATISTICAL ANALYSES

ANOVA was performed in order to assess the effect of yeast addition and reduction of tumbling time. Statistical analyses were performed at 5 % significance level, using SPSS software for Windows, version 21 (IBM Corporation, New York, USA).

4. RESULTS AND DISCUSSION

CHARACTERIZATION OF SPENT YEAST EXTRACT TO BE USED AS INGREDIENT

The total protein content of yeast extract was 10.4 ± 0.02 mg/ml. Spent yeast extract presented proteolytic activity, the value obtained according to Cupp-Enyard (2008) method was 0.34 U ml⁻¹.

Protein chromatographic profile is presented in Figure 1. The main peak area in spent yeast extract at 4 °C (Figure 1A) has retention time (RT) 25-33 min (66.3 %) corresponding to proteins with molecular weight >60kDa. RT 15-25 min (25.4 %) is the second main peak area corresponding to proteins and polypeptides >14 kDa and < 60 kDa and RT 5-15 min represented only the 8.3 % of total peak area and belongs to polypeptides with molecular weight <14 kDa. In Figure 1 (B) it was observed that the peak area between RT 25 min to 33 min was completely degraded by heat effect and an increase in relative peak area of RT 15-25 min (68.2 %) and RT 5-15 min (31.8 %) was observed. These chromatograms highlight that proteins from spent yeast extracts suffer proteolysis when submitted to heat treatment.

Concerning FAA composition of spent yeast extract, the content of Gln, Lys, Glu, Ser and Val was higher than 100 µg/L, whereas the content of Ala, Gly, Hys, Arg, Leu, Iso, Trp, Pro, Thr, and Phe ranged between 30 and 100 µg/L. A potential application of spent yeast extract is as ingredient in the production of cooked ham for contains proteins and enzymes that are hydrolysed at temperatures applied in cooking step.

EFFECT OF ADDITION OF SPENT YEAST EXTRACT IN THE PROXIMAL COMPOSITION OF COOKED HAM

Proximal composition and pH of CT, RT and RTY is presented in Table 1. Mean pH value of these cooked ham varied from 6.20 and 6.30 which is similar to those reported by Tomović *et al.* (2013) and Li *et al.* (2011). The moisture content is in agreement with other works from literature that studied cooked ham composition

(Moretti *et al.* 2009, Tomović *et al.* 2013). Similar values were also observed for total protein (Zell *et al.* 2012), fat (Válková *et al.* 2007) and ash content (Casiraghi *et al.* 2007). With regard to cooked hams with Reduced Tumbling (RT) and with Reduced Tumbling added of Yeast extract, similar contents were observed. Na⁺ and K⁺ values were lower than those reported by other authors (Válková *et al.* 2007, Casiraghi *et al.* 2007, Cardoso *et al.* 2013).

CHEMICAL CHARACTERISTICS OF COOKED HAMS

Sixteen FAA were quantified: alanine, glycine, valine, leucine, isoleucine, proline, phenylalanine, serine, threonine, hydroxyproline, glutamic acid, asparagine, lysine, glutamine, histidine, and tryptophan. At 12 and 90 days isoleucine was the major FAA, followed by glutamic acid. Typical FAA profile of cooked ham observed at 12 days of storage (Ile >Glu>Gln>Trp) was changed during shelf-life. At the end of 90 days the FAA profile in CT was Ile >Glu> His >Phe. In RT and RTY the profile was Ile > His >Glu>Phe in cooked hams with different processing methods.

Concerning volatile compounds, 19 compounds were identified, the main chemical family was from carboxylic acids (hexanoic acid, octanoic acid, nonanoic acid, decanoic acid, dodecanoic acid) that, followed by aldehydes (hexanal, benzaldehyde, octanal, nonanal, decanal, dodecanal). The third major chemical family were aromatics (toluene, ethylbenzene, p-xylene). Minor chemical families were esters (octanoic acid methyl ester, dodecanoic acid methyl ester, hexadecanoic acid methyl ester) and terpenes (limonene, terpineol). Lower differences were observed at 90 days.

PHYSICAL CHARACTERISTICS OF COOKED HAMS

Figure 2 shows TPA attributes (hardness, gumminess and chewiness) and L*, a* and b* values of CT, RT, RTY cooked hams analysed at 12 and 90 days. ANOVA indicates similar results between CT and RTY at 12 days, while RT cooked hams presented significantly lower texture parameters when compared with RTY, but no significant differences were observed between CT and RT (Figure 2A). After 90 days of storage (Figure 2 B) CT and RTY presented similar texture, whereas lower values were observed for RT. The results highlight that reducing tumbling decreases hardness, gumminess and chewiness of cooked ham, but this effect can be avoided by the addition of spent yeast extract. At 12 days significant differences were found

($p < 0.05$) between RTY and CT and RT cooked hams for L^* and a^* values. No significant differences were found in b^* value of CT and RTY (Figure 2C). After shelf life (Figure 2D) significantly higher values ($p < 0.05$) were observed in L^* values of CT when compared with RT and RTY. No significant differences were observed between the three types of ham for a^* and b^* values.

5. CONCLUSIONS

Spent *Saccharomyces* yeast extract obtained from brewing industry yeast by-product was tested as a food ingredient. This new ingredient can be used to reduce tumbling time in cooked ham production maintaining physical, chemical, TPA and CIE $L^*a^*b^*$ characteristics of high quality conventional cooked ham. The higher hardness of cooked ham added with yeast extract is explained by the higher protein content and denaturation due to heat action that strength the gel formed during cooking and improves TPA characteristics of cooked ham. According with this study, spent yeast extract could be used as gel stabilizer in cooked ham formulations and with main emphasis in cooked ham productions where the processing time is an important goal for food industry producers.

6. REFERENCES

- AOAC (2000). Official methods of analysis (17th ed.). AOAC. Arlington, VA, Association of Official Analytical Chemists.
- BRADFORD, M. M. (1976). "A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding." *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- CAMPAGNOL, P. C. B., B. A. dos Santos, R. Wagner, N. N. Terra and M. A. R. Pollonio (2011). "The effect of yeast extract addition on quality of fermented sausages at low NaCl content." *Meat Science* 87(3): 290-298.
- CASIRAGHI, E., C. Alamprese and C. Pompei (2007). "Cooked ham classification on the basis of brine injection level and pork breeding country." *LWT - Food Science and Technology* 40(1): 164-169.
- CASSIDY, R. O., H. W. Ockerman, B. Krol, P. S. Van Roon, R. F. Plimpton and V. R. Cahill (1978). "Effect of tumbling method, phosphate level and final cook temperature on histo-

- logical characteristics of tumbled porcine muscle tissue.” *Journal of Food Science*43(5): 1514-1518.
- CHAE, H. J., H. Joo and M.-J. In (2001). “Utilization of brewer’s yeast cells for the production of food-grade yeast extract. Part 1: effects of different enzymatic treatments on solid and protein recovery and flavor characteristics.” *Bioresource Technology*76(3): 253-258.
- DESMOND, E. (2006). “Reducing salt: A challenge for the meat industry.” *Meat Science*74(1): 188-196.
- DUTRA, M. P., G. P. Cardoso, E. M. Ramos, A. D. S. Ramos, A. C. M. Pinheiro and P. R. Fontes (2012). “Technological and sensory quality of restructured low-fat cooked ham containing liquid whey.” *Ciencia E Agrotecnologia*36(1): 86-92.
- FERREIRA, I. M. P. L. V. O., O. Pinho, E. Vieira and J. G. Tavela (2010). “Brewer’s *Saccharomyces* yeast biomass: characteristics and potential applications.” *Trends in Food Science and Technology*21(2): 77-84.
- GONZÁLEZ H, M., H. Suárez M and O. Martínez A (2009). “Análisis estructural de la carne de jamón durante el proceso de cocción y temperatura de almacenamiento.” *Revista MVZ Córdoba*14: 1803-1811.
- HULLBERG, A. and K. Lundström (2004). “The effects of RN genotype and tumbling on processing yield in cured–smoked pork loins.” *Meat Science*67(3): 409-419.
- LAGARES, J. (2010). Manufacturing process for whole muscle cooked meat products V: Cooking. *Metalquimia. Technology Articles. Metalquimia. Girona, Spain, Metalquimia. 1: 161-169.*
- Li, C. B., S. Szczepaniak, L. Steen, O. Goemaere, S. Impens, H. Paelinck and G. H. Zhou (2011). “Effect of tumbling time and cooking temperature on quality attributes of cooked ham.” *International Journal of Food Science and Technology*46(10): 2159-2163.
- LIU, C., Y. L. Xiong and G. K. Rentfrow (2011). “Kiwifruit protease extract injection reduces toughness of pork loin muscle induced by freeze-thaw abuse.” *LWT - Food Science and Technology*44(10): 2026-2031.
- MORETTI, V. M., F. Bellagamba, M. A. Paleari, G. Beretta, M. L. Busetto and F. Caprino (2009). “Differentiation of cured cooked hams by physico-chemical properties and chemometrics.” *Journal of Food Quality*32(1): 125-140.
- PÉREZ-PALACIOS, T., A. Melo, S. Cunha and I. M. P. L. V. O. Ferreira (2013). “Determination of Free Amino Acids in Coated Foods by GC-MS: Optimization of the Extraction Procedure by Using Statistical Design.” *Food Analytical Methods*: 1-9.

- PÉREZ-PALACIOS, T., C. Petisca, A. Melo and I. M. P. L. V. O. Ferreira (2012). "Quantification of furanic compounds in coated deep-fried products simulating normal preparation and consumption: Optimisation of HS-SPME analytical conditions by response surface methodology." *Food Chemistry*135(3): 1337-1343.
- SIEGEL, D. G., D. M. Theno and G. R. Schmidt (1978). "Meat massaging: the effects of salt, phosphate and massaging on the presence of specific skeletal muscle proteins in the exudate of a sectioned and formed ham." *Journal of Food Science*43(2): 327-330.
- SILVA, F., L. C. Nogueira, C. Goncalves, A. A. Ferreira, I. Ferreira and N. Teixeira (2008). "Electrophoretic and HPLC methods for comparative study of the protein fractions of malts, worts and beers produced from Scarlett and Prestige barley (*Hordeum vulgare* L.) varieties." *Food Chemistry*106(2): 820-829.
- SZERMAN, N., C. B. Gonzalez, A. M. Sancho, G. Grigioni, F. Carduza and S. R. Vaudagna (2007). "Effect of whey protein concentrate and sodium chloride addition plus tumbling procedures on technological parameters, physical properties and visual appearance of sous vide cooked beef." *Meat Science*76(3): 463-473.
- TOLDRÁ, F., L. Mora and M. Flores (2010). *Cooked Ham. Handbook of Meat Processing*, Wiley-Blackwell: 299-311.
- TOMOVIĆ, V. M., M. R. Jokanović, L. S. Petrović, M. S. Tomović, T. A. Tasić, P. M. Ikonić, Z. M. Šumić, B. V. Šojić, S. B. Škaljac and M. M. Šošo (2013). "Sensory, physical and chemical characteristics of cooked ham manufactured from rapidly chilled and earlier deboned *M. semimembranosus*." *Meat Science*93(1): 46-52.
- VÁLKOVÁ, V., A. Saláková, H. Buchtová and B. Tremlová (2007). "Chemical, instrumental and sensory characteristics of cooked pork ham." *Meat Science*77(4): 608-615.
- WUNDERLICH, S. and W. Back (2009). *Overview of manufacturing beer: ingredients, processes, and quality criteria. Beer in health and disease prevention*. V. R. Preedy. New York, Elsevier.: 3-16.
- XARGAYÓ, M. (2010). *Manufacturing process of whole muscle cooked meat products II: injection and tenderization. Metalquimia. Technology Articles. Metalquimia. Girona, Spain, Metalquimia. 1: 43-51.*
- ZELL, M., J. Lyng, D. Morgan and D. Cronin (2012). "Quality Evaluation of an Ohmically Cooked Ham Product." *Food and Bioprocess Technology*5(1): 265-272.

7. TABLES AND FIGURES

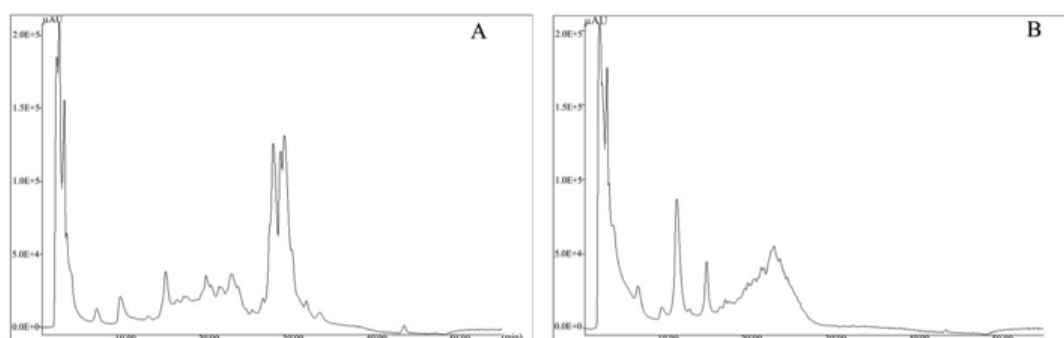


FIGURE 1. Chromatographic profile of spent yeast extract. A: at 4 °C; B: 1 hour at 70 °C

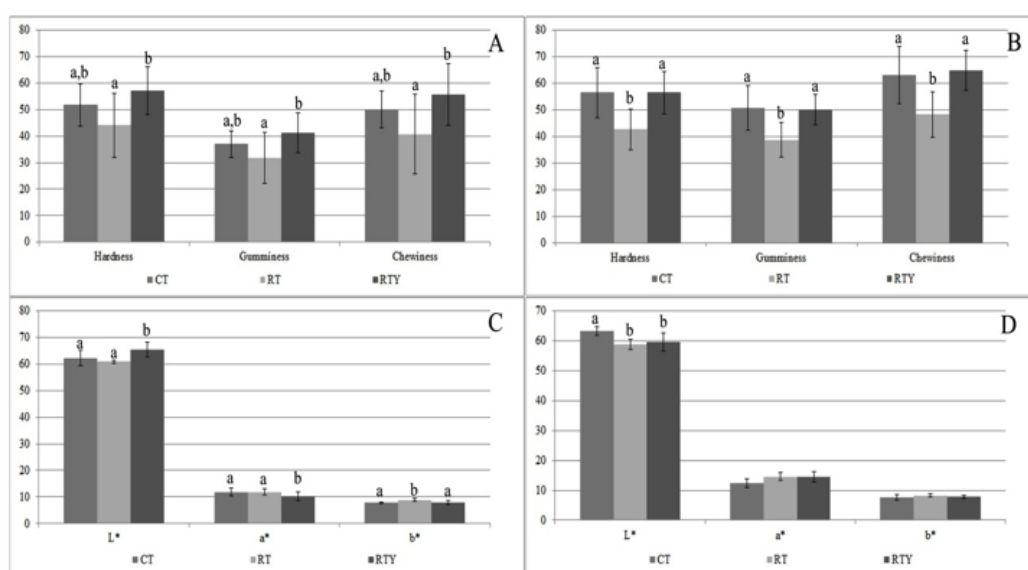


FIGURE 2. TPA attributes and CIE lab values of cooked hams with Conventional Tumbling (CT), Reduced Tumbling (RT) and Reduced Tumbling added of Yeast extract (RTY). A) TPA at 12 days; B) TPA at 90 days C) CIE lab at 12 days; D) CIE lab at 90 days. Different letters in the same attribute indicate significant differences between cooked ham samples ($p < 0.05$).

TABLE 1. Proximal composition of high quality cooked hams with Conventional Tumbling (CT), with Reduced Tumbling (RT) and with Reduced Tumbling added of Yeast extract (RTY).

Samples	Moisture	Protein	Lipids	Ash	Na+	K+	pH
CT	75.8 ± 0.5	15.9 ± 0.7	3.00 ± 1.56	3.75 ± 0.49	0.69 ± 0.01	0.35 ± 0.03	6.30 ± 0.11
RT	75.4 ± 1.3	14.4 ± 0.5	4.60 ± 2.72	3.60 ± 0.16	0.92 ± 0.10	0.32 ± 0.03	6.20 ± 0.24
RTY	74.3 ± 2.1	16.3 ± 0.8	3.90 ± 1.70	3.93 ± 0.34	0.73 ± 0.06	0.35 ± 0.02	6.27 ± 0.12

VALOR NUTRICIONAL Y GRADO DE SATISFACCIÓN DE UN ALFAJOR FORMULADO CON PALTA

María Sol Labadié, Alejandra Viele, Macarena Vigo, María Cristina Ciappini

1. RESUMEN

Existe desde hace tiempo una preocupación por la calidad, cantidad y frecuencia de los alimentos que los niños consumen. La industria, los medios de comunicación y la sociedad han llevado hacia una elección alimentaria, donde se privilegia el consumo y el placer por sobre la salud y la integración familiar y cultural. La preocupación social que genera el aumento de la obesidad en edades tempranas, es un motivo de alerta en todas las áreas de la salud, principalmente en la nutrición. Atentos a esta problemática, pero conscientes de que los cambios en los hábitos alimentarios son exitosos cuando ofrecen la incorporación de productos palatables, con alta aceptación hedónica, prácticos en el uso y disponibles, la presente investigación tuvo como objetivo formular una tapa de alfajor, utilizando palta (*Persea Americana*) como ingrediente. Este fruto aporta principalmente fibra, hidratos de carbono, proteínas y grasas, ácidos grasos mono (75 %) y poliinsaturados (10 %), vitaminas A, C, D, B6 y E, minerales, carotenoides y tocoferol. Como resultado de diversos ensayos, se obtuvo una tapa de la consistencia y textura deseadas, que se asemejó en sus características sensoriales al alfajor tipo *maicena*, a excepción del color. La prueba de grado de satisfacción indicó que solo al 4,8 % de los participantes les desagradó el producto, cuando se presentó a 125 niños de edades comprendidas entre 4 y 6 años. En comparación con el alfajor tipo *maicena* original fabricado industrialmente, el contenido calórico disminuyó un 23,85 %, las grasas totales, un 73,4 %; el contenido de colesterol, un 6,51 %, mientras que las grasas poliinsatura-

CONTACTO: María Cristina Ciappini mcciappini@fro.utn.edu.ar
Facultad de Química, Universidad del Centro Educativo
Latinoamericano, Rosario, Argentina. Avda. Pellegrini 1332 –
S200BUN Rosario, Santa Fe, Argentina.

das aumentaron 28,57 %. Estos indicadores señalan una notable mejora en el perfil lipídico para los alfajores elaborados con palta. El aporte de fibras también se vio incrementado. Estas características nutricionales y sensoriales convierten a este alfajor en una alternativa más saludable que otras golosinas del mercado.

2. INTRODUCCIÓN

La obesidad infantil constituye un serio problema de salud pública en nuestro país, siendo uno de los riesgos más comunes en niños y adolescentes, habiéndose documentado el aumento en su prevalencia en las últimas décadas (Calvo, 2002).

El niño de uno a seis años centra su interés en socializar más que en alimentarse, en ocasiones se encuentra tan inmerso con el juego que se olvida de comer; esto, aunado al apetito escaso propio de esa edad, origina inconvenientes. A esta edad, la conducta alimentaria debe dar al niño la oportunidad de desarrollar habilidades para alimentarse, aceptar una variedad de alimentos y socializar en torno a la comida (Lestingi, 2007).

Las preferencias por la alimentación están asociadas al contexto social en el que el niño se desenvuelve, con repetidas experiencias de las señales sensoriales y con las consecuencias fisiológicas correspondientes a la ingestión de alimentos.

En el periodo de transición que conduce a una alimentación regular con el resto de la familia, hay una cierta tendencia al consumo de alimentos con alto contenido de grasa, probablemente en relación con su alto contenido energético y con el hecho de que la grasa aumenta la palatabilidad de un amplio abanico de alimentos (Plazas, 2000).

FAO- OMS (2012) recomienda que la ingesta de ácidos grasos esenciales debe constituir el 4-5 % de la energía total, con un mínimo de 3 % como linoleico, precursor de los omegas 6, y 0,5 % como alfa- linoleico, precursor de los omegas 3. A partir de los 2 años de edad es importante fomentar hábitos alimentarios que no favorezcan la ingesta excesiva de grasas (superior del 30 % de las calorías) ni de grasas saturadas en más del 10 % de la ingesta.

El hecho de que haya una frecuente oportunidad de consumir alimentos con alto contenido de grasa, llega a condicionar un hábito. La insistencia educativa tiene una influencia positiva sobre una conducta que no favorezca el consumo de grasas.

Aunque se sabe que la preferencia por ciertos alimentos puede tener un componente genético, las influencias predominantes están determinadas por la cultura. Por ejemplo, los niños adquieren gusto por alimentos con alta densidad energética a través de condicionamientos asociativos. Cuando los alimentos ricos en lípidos están disponibles todo el tiempo, es fácil que se consuman con frecuencia, por lo que se vuelven familiares y por lo tanto tienen más probabilidades de ser aprobados. Además, la asociación sistemática de dichos alimentos con contextos sociales positivos (fiestas, premios, regalos, recreo, vacaciones, diversión), incrementa su preferencia (O'Donnell y Grippo, 2005).

Los patrones de preferencia, selección y consumo de alimentos son únicos para cada niño y dependen de varios factores, algunos innatos y otros aprendidos. Entre los primeros está la predilección por alimentos dulces, que es universal, y salados, así como el rechazo por los sabores amargos y ácidos. Los niños no necesitan aprender el gusto por los alimentos dulces y salados, pero en los alimentos en los que predominan otros sabores, las preferencias dependen del contexto y las consecuencias posteriores a su ingestión. El hogar y la escuela son los lugares donde tienen la oportunidad de adquirir hábitos de conducta y de alimentación saludable (MECCyT, 2010).

El consumo de golosinas y snacks resulta prácticamente inevitable entre los niños y los adolescentes; el problema no es impedir su consumo, sino lograr que este sea limitado, que no constituya una parte importante del aporte energético total diario y que sea hecho a base de productos de reconocida calidad y equilibrados, en cuanto a la composición de sus nutrientes.

Para ello, debe tenerse una base de conocimientos acerca de la composición de los alimentos que se ofrecen y de los inconvenientes que pueden surgir, cuando se utilizan demasiados productos manufacturados, dado que a veces esta composición es difícil de establecer (Ballabriga y Carrascosa, 2001).

De las diversas golosinas que se ofrecen para el consumo, los alfajores constituyen un producto muy atractivo, asequible y práctico. En la bolsita del jardín de infantes, en el bolsillo de la mochila del colegio, el alfajor es la estrella de las golosinas. De chocolate, dulce de leche o fruta, ocupa el 50 % del mercado de las golosinas. De un tipo o de otro, los argentinos comen alrededor de 6 millones de unidades de alfajores por día, según indican los empresarios del sector (Manzoni, 2010).

Atentos a esta problemática pero conscientes de que los cambios en los hábitos alimentarios son exitosos cuando ofrecen la incorporación de productos palatables,

con alta aceptación hedónica, prácticos en el uso y disponibles, se tuvo el propósito de formular un producto innovador a partir de un formato convencional, ampliamente difundido e incorporado a la dieta como es el alfajor, ampliando la oferta de golosinas, lo que permitiría diversificar la dieta y orientarla a productos con características nutricionales de menor riesgo para la salud. De las diversas materias primas disponibles, en estudios previos se seleccionó la palta (*Persea Americana*) como ingrediente primordial, por todos los beneficios que este fruto proporciona: contiene fibra, hidratos de carbono, proteínas, ácidos grasos mono (75 %) y poliinsaturados (10 %), vitaminas A, C, B1, B2, B6, B9 y minerales, carotenoides y tocoferol, constituyendo un alimento sano y saludable, de alto valor nutritivo (Iriondo, 2007).

El objetivo de este proyecto fue modificar la composición de un alimento tan clásico y consumido por los niños como lo son las tapas para alfajores tipo *maicena*, con el propósito de disminuir su contenido en grasas saturadas y azúcares.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Las tapas de alfajores se formularon modificando la receta correspondiente a las tapas de alfajores de *maicena*. Se elaboraron en la cocina experimental de la Facultad de Química de UCEL, que cuenta con amasadora y horno de escala piloto.

Sobre las tapas de alfajor elaboradas, se determinó la grasa total, según AOAC 920.85 (1995); grasas saturadas, monoinsaturadas y poliinsaturadas, según AOAC 963.22 (1995); colesterol, según el método enzimático – colorimétrico, basado en la reacción de Trinder y el contenido de fibra alimentaria total, de acuerdo al método 32.20 AACC.

Se estimaron los valores de kilocalorías, hidratos de carbono y proteínas, por medio de la tabla de composición química de alimentos del Centro de Endocrinología Experimental y Aplicada (O`Conor y col., 1995).

Todas las determinaciones se hicieron por duplicado, sobre una muestra compuesta obtenida por cuarteo, a partir de 10 tapas de alfajor de cada tipo, molidas y reunidas para ese fin. Estas tapas cumplían con los requisitos de no estar deformadas ni quemadas y tenían el peso promedio esperado para su tamaño.

Las mismas determinaciones se realizaron sobre alfajores de maicena comerciales. Se informaron los valores promedio en ambos casos. La diferencia entre medias se evaluó mediante la prueba t de Student, utilizando Excel 2007.

Participaron de las pruebas afectivas de Grado de Satisfacción, los niños de 4 a 6 años que concurren al nivel inicial del Jardín San José de la ciudad de Arroyo Seco (n =158 niños) (Ciappini, 2003).

Se incluyeron niños de ambos sexos, que contaron con la autorización escrita de sus padres para participar de la prueba, que no fueran celíacos o estuvieran atravesando algún cuadro alérgico o gastrointestinal y que estuvieran voluntariamente dispuestos a probar la golosina.

La edad de los niños participantes de la prueba era tal, que su maduración no asegura la correcta asociación entre una frase (escala hedónica verbal) o un ícono (escala hedónica gráfica) y el grado de satisfacción que el alfajor degustado les produce (Resurreccion, 1999). Era factible que el niño eligiera un ícono porque este le gustaba en sí mismo o le resultaba más simpático. En consecuencia, las respuestas fueron registradas por los organizadores de la prueba y/o los maestros, según la escala propuesta y mediante un diálogo con el niño, que fue reforzado por la observación de la conducta: el niño consumía todo el alfajor, pedía otro, manifestaba “que rico” o, por el contrario, se negaba a seguir consumiéndolo o expresa frases de disgusto.

Las pruebas se llevaron a cabo en siete sesiones, según los horarios de asistencia al jardín.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Luego de sucesivos ensayos, se obtuvo una formulación que permitió obtener una tapa de alfajor de la consistencia y textura deseadas, que se asemeja en sus características sensoriales al alfajor tipo *maicena*, a excepción del color.

La Tabla 1 muestra la composición del alfajor diseñado, que incluye palta entre sus ingredientes, en comparación con el alfajor de *maicena*.

En comparación con el alfajor tipo *maicena* original fabricado industrialmente, el producto diseñado presentó contenidos inferiores de calorías y de grasas totales, saturadas y monoinsaturadas; no contenía grasas trans. El tenor de colesterol del alfajor diseñado superó al del alfajor tipo *maicena*.

También resultó superior su contenido de fibra, que podría representar un aporte adicional a la dieta, con los beneficios conocidos a partir de su ingesta sobre diversas patologías tales como dislipemias, enfermedad diverticular, constipación y prevención del cáncer de colon, en combinación con una dieta balanceada.

En la prueba de grado de satisfacción, los niños se mostraron entusiasmados ante la propuesta y se contó con la inestimable colaboración de las maestras, que también generaron confianza entre los niños. Se permitió la participación de todos los niños presentes ($n = 158$).

De acuerdo a las manifestaciones de padres y maestras, la mayoría de los niños son consumidores habituales de productos de pastelería, así como de alfajores tipo *maicena*. Para esta prueba, se consideró como consumidor a todo niño que consumiera al menos un alfajor por semana ($79 \% = 125$) (Figura 1).

En la Figura 2, se observa el grado de satisfacción manifestado por los 125 niños que pudieron calificarse como consumidores de alfajores. Se observa que las respuestas están centradas en “Me gusta mucho” (57.6%) y “Me gusta” ($28,8 \%$), representando la suma de las elecciones favorables, el 86.4% ; solo el 1.6% expresó “Me disgusta mucho”.

5. CONCLUSIONES

Se logró elaborar una tapa de alfajor con características similares a una tapa tipo *maicena* utilizando palta como ingrediente, modificándose el perfil lipídico del producto tradicional, reduciendo su contenido de grasas y aumentando el contenido de fibras.

El producto tuvo resultados satisfactorios en las pruebas realizadas con niños consumidores.

En consecuencia, se considera que se obtuvo una formulación adecuada para presentar en el mercado, como una golosina más saludable que otras que actualmente se comercializan.

Correspondería ampliar la prueba del grado de satisfacción, extendiendo el rango etario de los participantes y aumentando su número, para confirmar estos resultados.

Se recomienda evaluar la vida útil del producto, proponer formas variadas de presentación (estrella, corazón) y utilizar coco rallado de varios colores, para que el alfajor resulte más atractivo para los niños, y estimar el costo del producto.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOAC (1995) Official Methods of Analysis of AOAC International, 16th ed. Gaithersburg, MD.
- BALLABRIGA, A., Carrascosa, A. (2001) Nutrición en la infancia y adolescencia. 1º Ed. Maja-dahonda, Ergon: Madrid.
- CALVO, E.B. (2002) Obesidad infantil y adolescente: un desafío para la prevención. Arch. Argen. Pediatría (5): 355-356.
- CIAPPINI, M.C. (2003) Introducción al Análisis Sensorial de Alimentos. 1º Ed, CERIDER: Rosario, Argentina. Cap. 5, p 49-61.
- FAO. (2012) Grasas y Ácidos Grasos en Nutrición Humana. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) y Fundación Iberoamericana de Nutrición (FINUT): Granada, España.
- IRIONDO, LE. (2007) Palta: mucho más que tradición culinaria. Punto Vital. Nutrinfo [Acceso 09/ 2012]. Disponible en http://www.puntovital.cl/alimentacion/sana/nutricion/beneficios_palta.htm
- LESTINGI, M.E. (2007) Pautas de alimentación en el niño preescolar, escolar y adolescente. En: Lorenzo, J., Guidoni, M., Diaz, M., Marenzi, M., Lestingi, M.E., Lasevita, J. y et. Nutrición del niño sano. Editorial Corpus: Argentina. Capítulo 11, 143-159.
- MANZONI, C. (2010) La dieta Argentina: cada día se comen 6 millones de alfajores. En: La Nación; Buenos Aires, 2010; [Acceso en Junio 2013]. Disponible en: <http://www.lanacion.com.ar/1310435-la-dieta-argentina-cada-dia-se-comen-6-millones-de-alfajores>
- MECCyT (2010) Ministerio de Educación, Cultura, Ciencia y Tecnología. Subsecretaría de articulación interinstitucional. Dirección de Salud Educativa. Buenos Aires, Argentina.
- O'DONNELL, A., Grippo, B. (2005) Obesidad en la niñez y adolescencia. 1º Ed. Editorial Científica Interamericana: Buenos Aires. Cap. 6, p. 101-112.
- O'CONNOR, C., Burraco, E., Bazán, N. (1995) Tabla de Composición Química de Alimentos del Centro de Endocrinología Experimental y Aplicada, CENEXA Feiden Editores: La Plata, Argentina.
- PLAZAS, M. (2000) Nutrición del preescolar y el escolar. 1ª Ed. En Prensa: México.
- RESURRECCION, A.V. (1999) Consumer Sensory Testing for Product Development. Aspen Publishers: New York.

7- TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1. Valores nutricionales del alfajor elaborado con palta y del alfajor de maicena

PORCION		Alfajor con palta		Alfajor de Maicena	
		unidad	100 g	unidad	100 g
Valor energético	kcal	161.5	351.1 ^a	209.1	394.6
Carbohidratos	g	32.23	70.07 ^a	27.6	52.08
Proteínas	g	4.59	9.98 ^a	4.08	7.70
Grasas	g	2.25	4.90 ^a	9.15	17.26
Saturadas	g	1.01	2.20 ^a	4.14	10.17
Trans	g	0	0	0	0
Monoinsaturadas	g	0.83	1.80 ^a	3.30	6.23
Poliinsaturadas	g	0.41	0.90	0.47	0.89
Colesterol	mg	158.2	344 ^a	105.4	198.8
Fibra alimentaria total	g	0.69	1.47 ^a	0.67	1.27
Fibra Soluble	g	0.25	0.54	0.18	0.34
Fibra insoluble	g	0.44	0.93	0.49	0.93

^a diferencias significativas para los contenidos promedios ($p = 0.001$)

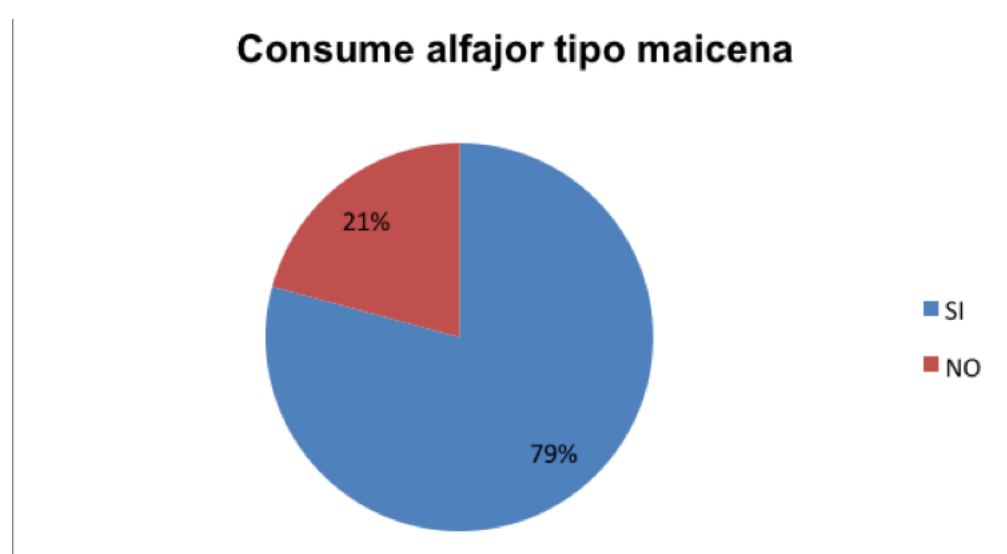


FIGURA 1. Porcentaje de consumidores de alfajor tipo maicena entre los niños participantes.

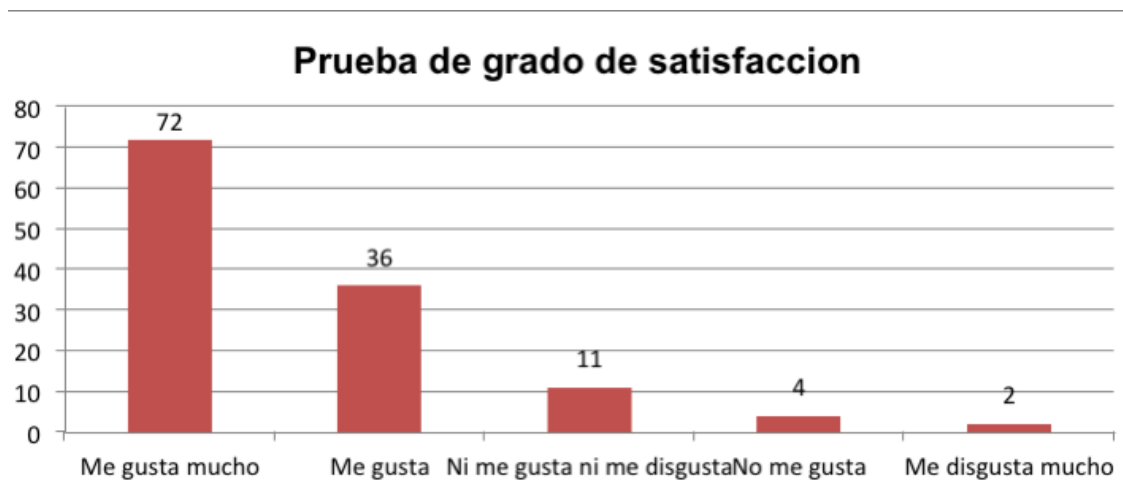


FIGURA 2. Frecuencias absolutas para el grado de satisfacción para el consumo de alfajor con palta expresado por niños de 4 a 6 años.

EFFECTO DE CARACTERÍSTICAS ENOLÓGICAS Y VARIABLES DE PROCESO SOBRE PROPIEDADES TENSOACTIVAS DE ESPUMANTES DE NARANJA

María Cristina Cayetano Arteaga, Andreína Stefani, Rodrigo González,
María Mercedes Ferreyra, María del Carmen Schwab

1. RESUMEN

El espumante de naranja fue obtenido sometiendo vinos de naranja a una segunda fermentación en botella, adaptando el tradicional método *champenoise*. La característica distintiva de un espumante es su efervescencia, que atrapa la atención de un consumidor al servir una copa; los factores que la afectan son diversos (tensión superficial, composición química, entre otros). Para estudiar las propiedades tensoactivas y relacionarlo con características enológicas básicas y condiciones de proceso, se elaboraron espumantes con dos formulaciones del licor de tirage (con y sin agregado de corteza de levaduras comercial, “chips”) y se dejaron en contacto con las lías durante 6, 9 y 12 meses, manteniendo la temperatura controlada a 16 ± 1 °C durante toda la elaboración y maduración. Se realizaron determinaciones basadas en las técnicas OIV, a muestras previamente desgasificadas: pH, alcohol, °Brix, azúcares totales y reductores, acidez total y volátil, contenido proteico; y se midieron propiedades físicas: tensión superficial, viscosidad y densidad. Las propiedades enológicas básicas resultaron comparables a las de espumantes tradicionales a base de uva. El contenido en etanol osciló entre 11°G.L. y 12°G.L. Se observaron valores elevados del contenido proteico –determinado por método de Bradford– al transcurrir el tiempo en contacto con las lías, aunque no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las muestras a los diferentes tiempos y con las dos formulaciones ensayadas, (ANOVA con un 95 % de confianza). Las proteínas activas sobre la efervescencia poseen bajos puntos isoeléctricos, cercano al pH de

CONTACTO: Ma. Cristina Cayetano A. cayetanoc@fcal.uner.edu.ar
Facultad de Ciencias de la Alimentación, Universidad Nacional de
Entre Ríos. Concordia, Entre Ríos, Argentina.

los espumantes que resultaron entre 3,53 y 3,64. La tensión superficial de los espumantes presentó valores entre 55,6 y 59,8 mN/m a 20 °C. Los espumantes con chip de levaduras agregados mostraron menores valores de la tensión superficial y se observó una disminución del 6,8 % al transcurrir el tiempo. Los espumantes sin chip también siguieron este comportamiento, mostrando una disminución de la tensión superficial del 5,7 %. Sería de interés relacionar las características mostradas con la capacidad espumante para decidir qué variables tecnológicas son las que conducen a productos de calidad óptima.

2. INTRODUCCIÓN

La posibilidad de ofrecer alternativas innovadoras en el sector de bebidas espumantes, atendiendo a cambios en las preferencias y demandas de los consumidores, representa una oportunidad para el desarrollo de productos innovadores como el “espumante de naranja”. El espumante de naranja ha sido obtenido sometiendo vinos de naranja (Schwab, 2006; Ferreyra, 2006), a una segunda fermentación en botella, adaptando el tradicional método *champenoise* (Stefani *et al.*, 2011). El proceso consta de dos etapas: la obtención del vino base de naranja y la segunda fermentación en botella (proceso de toma de espuma), en las que el vino base es mezclado con licor de tirage que contiene levaduras, sacarosa (en cantidad suficiente para desarrollar al menos 6 atm), nutrientes y coadyuvantes de clarificación. Finalizada la segunda fermentación se mantiene el espumante en contacto con las lías, durante un tiempo que define la calidad final del espumante. Durante el tiempo en contacto con las lías o borras se produce la autólisis de levaduras, que provoca la liberación de numerosos componentes intracelulares al medio, como aminoácidos, péptidos, manoproteínas, -entre otros- que exhiben un efecto positivo en la calidad final del espumante. Este es un proceso que lleva varios meses, por lo tanto se busca desarrollar procedimientos que aceleren estos procesos naturales (Torresi *et al.*, 2011), por ejemplo, adicionando en el licor de tirage componentes (como los chips de levaduras) que proporcionen sustancias similares a las que de forma natural, durante el envejecimiento sobre las lías, se liberan por autólisis al cabo de varios meses.

La característica distintiva de un espumante es su efervescencia, que atrapa la atención de un consumidor al servir una copa. Un espumante es un sistema de dos fases, la gaseosa formada por el CO₂ producido durante la segunda fermentación

en botella, dispersa en una fase líquida continua, sobresaturada en CO₂ (presión interior ≈6 atm). Cuando se destapa una botella la presión cae bruscamente y para alcanzar un nuevo estado de equilibrio termodinámico a presión atmosférica el espumante debe desgasificarse. La formación de burbujas en una copa ocurre por nucleación heterogénea de tipo IV (Jones *et al.*, 1999). La tensión superficial determina el radio crítico de nucleación (Liger-Belair *et al.*, 2005). Los compuestos que producen una disminución de la tensión superficial involucran a moléculas pequeñas, como el etanol y otras moléculas más grandes como aminoácidos, polisacáridos, proteínas y glicoproteínas. Las burbujas ascienden formando trenes o rosarios, y al llegar a la superficie forman una corona de espuma en la interfase líquido-aire. Burbujas más pequeñas y finamente distribuidas caracterizan a un espumante de calidad. Por otro lado, la efervescencia y la espuma no son únicamente atributos visuales ligados a la belleza de un vino, sino que influyen de manera significativa sobre las sensaciones que se perciben en el paladar (Vanrell *et al.*, 2007); el tamaño de las burbujas puede afectar la liberación de aromas y la percepción en boca (Liger-Belair *et al.*, 2005).

La estructura de la espuma depende de la constitución del vino base, de su poder espumante, pero también de la técnica de champanización, de su envejecimiento sobre lías y de la temperatura del vino (Peynaud, 1999). La estabilidad de las interfases líquido/gas ya sea con aire (en la superficie) o CO₂ (en el seno del líquido) está ligada a la presencia de partículas coloidales en solución (Senée *et al.*, 1999). Las primeras investigaciones sobre las propiedades espumantes de los vinos han establecido una correlación positiva entre el contenido proteico y la espumabilidad y/o estabilidad de la espuma (Cilindre *et al.*, 2010; Moreno-Arribas *et al.*, 2000). Las consecuencias comerciales de las propiedades de la espuma son muy importantes; el conocimiento de los factores que influyen en la formación de burbujas y en la estabilidad de la espuma permite tomar decisiones y actuar sobre las variables de proceso en la elaboración del espumante.

Se ha estudiado la influencia del tiempo en contacto con las lías y dos formulaciones de la composición del licor de tirage en la elaboración de espumantes de naranja, evaluando las propiedades físicas del producto: tensión superficial, viscosidad y densidad, y sus características enológicas básicas: graduación alcohólica, °Brix, pH, acidez total y volátil, azúcares reductores y totales y contenido proteico.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

ELABORACIÓN DEL ESPUMANTE DE NARANJA

La Figura 1 muestra el proceso de obtención de espumante de naranja. Todo el proceso de elaboración de espumantes así como el tiempo que se mantuvieron en contacto con las lías, se desarrolló en cámaras, al abrigo de la luz y a temperatura controlada de 16 ± 1 °C. Se elaboraron espumantes con dos formulaciones de licor de tirage: una con agregado de chips de levaduras (EC) y otra sin agregado de chips de levaduras (ES) utilizando preparado comercial de chips de levaduras (Fermoplus Integrateur) en proporción 45 g/Hl. Se mantuvieron en contacto con las lías durante 6, 9 y 12 meses. Así obtuvimos 6 productos para caracterizar, rotulados como se muestra en la Tabla 1: EC1, EC2, EC3, ES1, ES2, ES3.

DETERMINACIONES FÍSICAS Y QUÍMICAS

Se realizaron determinaciones de algunos parámetros enológicos para caracterizar el espumante, en base a las técnicas OIV para caracterización de vinos, adaptadas a los “vinos de naranja” (Schwab, 2006; Ferreyra, 2006). Antes de cada determinación las muestras de espumantes se agitaron durante 10 minutos a 400 rpm para eliminar el gas carbónico: graduación alcohólica por aerometría (según técnica MA-E.AS312-01-TALVOL, O.I.V., 2009); pH, potenciométricamente (pHmetro BOECO BT- 500); sólidos solubles, con refractómetro ATAGO modelo DTM-1, expresados en °Brix; azúcares reductores y totales, técnica de Somogyi-Nelson, expresados en %p/v; acidez total, por titulación (AOAC 9.135, 1984), determinada como ácido cítrico anhidro y expresada en % (p/V); acidez volátil, por destilación y posterior titulación (AOAC 28.1.30, pág. 8, 1995), determinada como ácido acético y expresada en g/L; tensión Superficial, (TAXT plus-Texture Analyser), método Du Noüy, con anillo de platino, en mN/m; densidad por picnometría, según Compendium of International Methods of wine and must Analysis (OIV, 2008), en g/ml; viscosidad con viscosímetro Brookfield Modelo IV, adaptador UL (para muestras de muy bajas viscosidades), spindle n° 1 y velocidad de rotación 30 rpm, expresada en cP; proteínas totales aplicando método colorimétrico de Bradford, se basa en la unión específica del reactivo coloreado Comassie Blue Brillante formando un complejo que absorbe a 595 nm.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó ANOVA simple para analizar las diferencias significativas entre las muestras de los 6 productos diferentes, con $\alpha = 0,05$. Test de comparación de medias de Tukey. Se utilizó software estadístico Stat graphic Centurion®.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 2 se muestran los resultados de los parámetros enológicos evaluados.

Las propiedades enológicas básicas resultaron comparables a las de espumantes tradicionales a base de uva (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2003). La acidez en los espumantes de naranja ha sido expresada en g ácido cítrico/100 ml ya que es el ácido mayoritario presente en este producto.

La temperatura baja y controlada durante todo el proceso, permite desarrollar una fermentación regular y lenta, que además mejora la integración del CO₂ formado, otorgando fineza a la espuma. La densidad y viscosidad de los espumantes no mostraron cambios en los tiempos analizados.

La graduación alcohólica de los espumantes obtenidos resultó entre 11,6°-12°G.L. a partir de un vino base con 10 °G.L., lo que muestra un incremento durante la toma de espuma, aumento previsible y esperado en todos los procesos de champanización tradicionales (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2003).

El contenido en azúcares totales de los espumantes de naranja obtenidos en todos los casos resultó comprendido entre 3 y 8 g/l por lo que podríamos definirlos tipo “Extra Brut” atendiendo a las categorías para vinos espumantes establecidas en el Reglamento Vitivinícola del Mercosur (Res No. 45/96). En el proceso de degüelle, no se agregó azúcar en el licor de expedición, por lo tanto esta cantidad representa azúcares que quedaron sin fermentar al finalizar la toma de espuma.

El pH afecta a varios componentes de los vinos, y por supuesto, la configuración de las proteínas. La mayoría de las proteínas de los vinos exhiben bajos puntos isoeléctricos, entre 4,1 a 5,8 (Ferreira *et al.*; 2002). El pH registrado ha sido entre 3,53 y 3,63 - menores a los valores citados anteriormente-, por lo que las proteínas aparecerían menos solubles, más hidrofóbicas, por lo tanto, con mayor actividad superficial en los espumantes de naranja. El origen de las proteínas en los espumantes es múltiple; pueden proceder de la materia prima, de la autólisis de las levaduras y/o de los productos de clarificación (coadyuvantes de tirage). La evolución del

contenido de proteínas durante el proceso de añejamiento ha sido analizado por numerosos autores, reportando resultados diversos: Vanrell *et al.* (2007) no han detectado liberación de proteínas al cabo de 24 meses en contacto con las borras; resultados similares a los de Luguera *et al.* (1998); Cilindre *et al.* (2010) analizaron la evolución del contenido de proteínas con el tiempo y al finalizar las etapas de añejamiento (15 meses) todos los champagnes alcanzaron niveles similares del contenido en proteínas, indicando que no parece haber liberación de proteínas solubles durante la toma de espuma. Martínez Rodríguez *et al.* (2002) describen cuatro etapas durante el tiempo de añejamiento de cavas sobre las lías; en la primera observaron disminución de las proteínas porque se liberan péptidos de bajo peso molecular que exhiben propiedades tensioactivas y bioactivas (acción antioxidante, antimicrobial, antihipertensiva), luego se liberan componentes nitrogenados que sirven de nutrientes para las pocas células viables que aún sobreviven, la última etapa es caracterizada por la acción de enzimas intracelulares, se liberan proteínas y péptidos.

En los espumantes de naranja, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los parámetros químicos evaluados de las muestras con las dos formulaciones ensayadas, (ANOVA con un 95 % de confianza) en los tiempos ensayados.

Se puede apreciar una disminución del contenido de proteínas, para las dos formulaciones ensayadas, a los 9 meses (Tabla 2). Las proteínas liberadas por las levaduras, son en su mayoría altamente glicosiladas (manoproteínas), pero su fracción glicosilada podría interferir con la unión del colorante de Bradford por impedimento estérico (Cilindre *et al.*, 2010), el método utilizado determina proteínas solubles y polipéptidos de alto peso molecular.

La tensión superficial de los espumantes presentó valores entre 55,6 y 59,8 mN/m a 20 °C (Figura 2). Los espumantes con chip de levaduras agregados mostraron menores valores de la tensión superficial y se observó una disminución del 6,8 % al transcurrir el tiempo. Los espumantes sin chip también siguieron este comportamiento, mostrando una disminución de la tensión superficial del 5,7 %. Se observa que la adición de chips en el licor de tirage ha provocado una disminución en la tensión superficial, que afectaría de manera positiva la dispersión de las burbujas de CO₂ en el seno del líquido.

El contenido de etanol ha sido reportado como el principal responsable de la disminución de la tensión superficial en vinos (Glampedaki *et al.*, 2010).

5. CONCLUSIONES

El agregado de chips de levaduras en el licor de tirage provocó una disminución en la tensión superficial de los espumantes de naranja. Al transcurrir el tiempo de maduración en contacto con las lías, mejoraron las propiedades tensioactivas de los espumantes, por lo tanto podría esperarse mayor dispersión de las burbujas y espuma más estable. Actualmente se están estudiando distintas variables tecnológicas que podrían afectar la capacidad de formación de burbujas y estabilidad de la espuma, que definen la calidad del producto final.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOAC INTERNATIONAL. *Official Methods of Analysis of AOAC International*. 14va ed. Gaithersburg: AOAC, 1984. Official Method 9.135.
- CILINDRE, C.; Liger-Belair, G.; Villaume, S.; Jeandet, P.; Marchal, R. (2010). Foaming properties of various champagne wines depending on several parameters: grape variety, aging, protein and CO₂ content. *Analytica Chimica Acta* 660, 164-170.
- FERREIRA, R.B., Piçarra-Pereira, M.A., Monteiro, S., Loureiro, V.B. and Teixeira, A.R. (2002). The wine proteins. *Trends in Food Science and Technology*, 12, 230–239.
- FERREYRA, M.M. Estudio del proceso biotecnológico para la elaboración de una bebida alcohólica a partir de jugo de naranja. Valencia: Universidad Politécnica de Valencia, 2006. (Tesis Doctoral).
- GLAMPEDAKI, P.; Hatzidimitriou, E.; Paraskevopoulou, A.; Pegiadou-Koemtzopoulou, S. (2010) Surface tension of still wines in relation to some of their constituents: A simple determination of ethanol content. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23:373-381.
- JONES, S., Evans, G., & Galvin, K. (1999). The cycle of bubble production from a gas cavity in a supersaturated solution. *Advances in Colloid and Interface*, 51–84. Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S000186869800075X>.
- LIGER-BELAIR, G. (2005) The physics and chemistry behind the bubbling properties of champagne and sparkling wines: a state-of-the-art review. En: *J. Agric. Food Chem.*, 53(8): 2788–2802.
- LUGUERA, C.; Moreno-Arribas, M.V.; Pueyo, E.; Bartolomé, B.; Polo, M.C. (1998). Fractionation and partial characterization of protein fractions present at different stages of the production of sparkling wines. *Food Chemistry*, 53 (8): 2788-2802.

- MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ, A.J.; Carrascosa, A.V.; Martín-Alvarez, P.J.; Moreno-Arribas, M.V.; Polo, M.C. (2002). Influence of the yeast strain on the changes of the amino acids, peptides and proteins during sparkling wine production by the traditional method. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 29:314-322.
- MORENO-ARRIBAS, E.; Pueyo, E.; Nieto, P.J.; Martínez-Alvarez, P.J.; Polo, C. (2000). Influence of the polysaccharides and the nitrogen compounds on foaming properties of sparkling wines. *Food Chemistry*, 70:309-317.
- ORGANISATION INTERNATIONALE DE LA VIGNE ET DU VIN. *Compendium of international methods of wine and must analysis*. [s.l.]: OIV, 2009.
- PEYNAUD, E.; Blouin, J. El gusto del vino: el gran libro de la degustación. Mundi Prensa, 1999. ISBN 847114817X, 9788471148179.
- POZO-BAYÓN, M.A.; Martínez Rodríguez, A.; Pueyo, E.; Moreno Arribas, M.V. Chemical and biochemical features involved in sparkling wine production: from a traditional to an improved winemaking technology. En: *Trends in Food Science and Technology*. 2009, 20:289-299.
- RIBÉREAU-GAYON, P.; Glories, Y.; Maujean, A.; Dubourdieu, D. Tratado de enología.2. Química del vino. Estabilización y tratamientos.1a. edición. Buenos Aires: Hemisferio Sur, 2003. ISBN 950-504-573-5.
- RIBÉREAU-GAYON, P.; Dubourdieu, D.; Donèche, B.; Lonvaud, A. Tratado de enología.1. Microbiología del vino. Vinificaciones.1a. edición. Buenos Aires: Hemisferio Sur, 2003. ISBN 950-504-572-7.
- SCHVAB, María del Carmen. *Bebida alcohólica de jugo de naranja: Estudio de los parámetros de calidad, influencia de las variables de proceso y caracterización del producto*. Valencia: Universidad Politécnica de Valencia, 2006. (Tesis Doctoral).
- SENEE, J.; Robillard, B.; Vignes-Adler, M. (1999). Films and foams in champagne wines. *Food Hydrocolloids*, 13 (1): 15-26.
- STEFANI LEAL, A.; Cayetano Arteaga, M.C.; Ferreyra, M.M.; Schwab, M.; Hours, R.A.; Soldá, C.; Tonello, M.J. *Características de "vino joven de naranja" para la elaboración de espumante*. En Libro de Resúmenes del XII Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CYTAL), Facultad de Ciencias de la Alimentación, 2009.
- STEFANI LEAL, A.; Cayetano Arteaga, M.C.; Schwab, M. del C., Ferreyra, M.M. (2011) *Desarrollo de "espumante de naranja" como alternativa biotecnológica en la actividad citrícola regional*. INNOTECH-Revista del Laboratorio Tecnológico del Uruguay, 6:60-64.
- TORRESI, S.; Frangipane, M.T.; Anelli, G. (2011). Biotechnologies in sparkling wine production. Interesting approaches for quality improvement: A review. *Food chemistry*, 129: 1232-1241.

VANRELL, G., Canals, R., Esteruelas, M., Fort, F., Canals, J. M., & Zamora, F. (2007). Influence of the use of bentonite as a riddling agent on foam quality and protein fraction of sparkling wines (Cava). *Food Chemistry*, 104(1), 148–155. doi:10.1016/j.foodchem.2006.11.014

7. TABLAS Y FIGURAS

TABLA 1. Tipos de espumantes desarrollados

Tiempo en contacto con las borras (meses)	6	9	12
Con chips agregados	EC1	EC2	EC3
Sin chips agregados	ES1	ES2	ES3

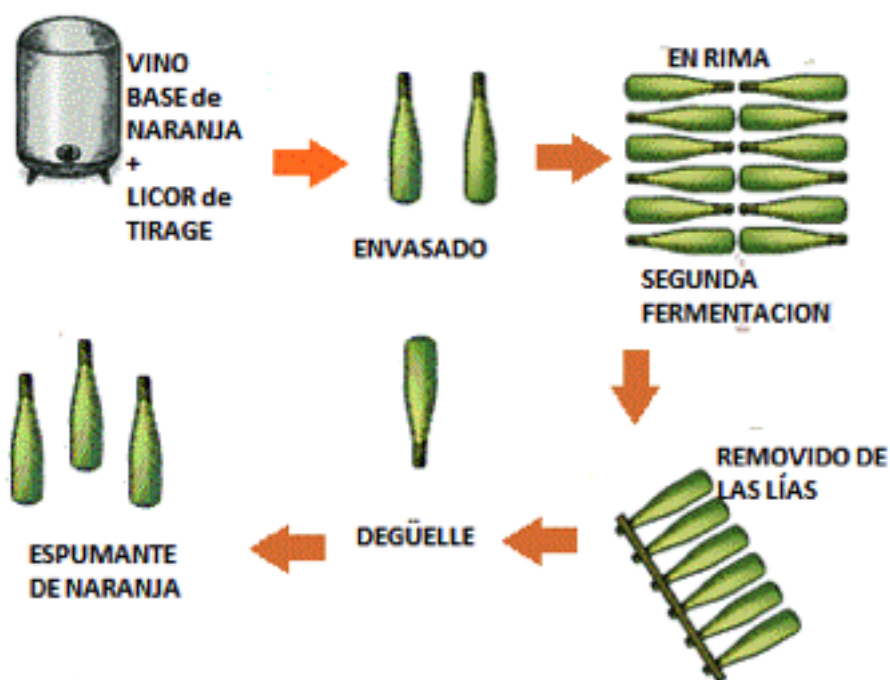


FIGURA 1. Esquema de obtención del espumante de naranja

TABLA 2. Parámetros químicos de los espumantes de naranja (valores medios)

	EC1	EC2	EC3	ES1	ES2	ES3
pH	3,63	3,58	3,61	3,59	3,55	3,55
Graduación alcohólica (°g.L.)	11,8	11,6	12	12	12	11,8
Sólidos solubles (°Brix)	7,8	8	7,7	6,8	6,4	6,4
Azúcares totales (%)	0,52	0,52	0,46	0,58	0,43	0,41
Azúcares reductores (%)	0,475	0,491	0,434	0,579	0,408	0,324
Acidez total (g ác cítrico/100 ml)	1,029	1,1165	1,053	1,095	1	1,021
Acidez volátil (g ac. Acético/100 ml)	0,495	0,627	0,363	0,396	0,396	0,33
Proteínas (ppm)	196,5	186,1	190,2	182,5	179,1	179,5

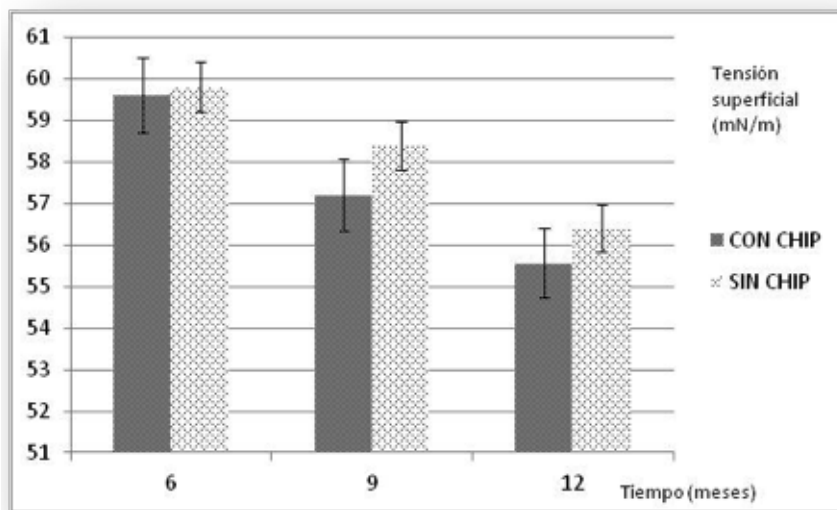


FIGURA 2. Evolución de la tensión superficial de los espumantes con chip y sin chip durante el tiempo en contacto con las lías

PROPIEDADES DE ADSORCIÓN DE AGUA DE BEBIDAS EN POLVO A BASE DE YERBA MATE (*ILEX PARAGUARIENSIS*) Y CASSIS (*RIBES NIGRUM*)

Juliana Marcela Orjuela-Palacio^{1,3}, María Clara Zamora^{2,3}, María Cecilia Lanari^{1,3}

1. RESUMEN

La obtención de bebidas en polvo a partir de cassis e infusiones de yerba mate por liofilización, permite ampliarse su consumo y aplicabilidad. Sin embargo la elevada higroscopicidad de estos productos a altas temperaturas y humedades relativas dificulta su comercialización. Las propiedades de adsorción son de gran importancia para predecir la estabilidad fisicoquímica, estimar la vida útil y la aceptabilidad de productos deshidratados. En este trabajo se compararon las isotermas de adsorción a 10 °C, 20 °C y 40 °C para un rango de actividad acuosa (a_w) entre 0.11 y 0.54 de una bebida en polvo a base de yerba mate y cassis con maltodextrina DE₁₀ como coadyuvante de la liofilización mediante el método gravimétrico estático. Las isotermas obtenidas presentaron una forma sigmoideal característica del tipo II. Se observó un aumento de la humedad de equilibrio (W_c) con el incremento de a_w a temperatura constante, mientras que para una a_w dada el incremento de la temperatura disminuyó W_c , mostrando un descenso en la higroscopicidad del polvo. Los datos experimentales se modelaron usando ecuaciones de 2 (Oswin, Halsey y BET) y 3 parámetros (GAB). El ajuste de cada modelo fue bueno (porcentaje de error medio relativo (%E) <6). El modelo que mejor ajustó fue Halsey (2.30 %E (10 °C), 3.59 % (20 °C) y 2.93 % (40 °C)) seguido de Oswin (2.77, 2.40 y 4.01 %) y GAB (3.91, 4.71 y 2.68 %E), en base a esta ecuación se encon-

CONTACTO: Juliana M. Orjuela-Palacio julianaorjuela1@gmail.com

1. Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA) Fac. de Ciencias Exactas Universidad Nacional de La Plata, La Plata. Argentina.
2. Fac. de Ciencias Agrarias, Pontificia Universidad Católica Argentina, Ciudad de Buenos Aires, Argentina.
3. Consejo Nacional de investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) Ciudad de Buenos Aires, Argentina.

tró que los valores de humedad de la monocapa (W_m) disminuyeron con el aumento de la temperatura (0.063, 0.061 y 0.050 kg de agua/kg m.s para 10, 20 y 40 °C respectivamente). La ecuación de BET presento un ajuste menor con E% mayor para todos los casos. Los polvos almacenados a $a_w < 0.33$ se mantuvieron fluidos a las tres temperaturas mientras que para $a_w = 0.423$ y 40 °C se observó el colapso de la muestra.

2. INTRODUCCIÓN

La yerba mate (YM; *Ilex paraguariensis* St. Hilaire) y el cassis (BC, *Ribes nigrum*) poseen un alto contenido de polifenoles con excelentes propiedades antioxidantes. La obtención de productos en polvo por liofilización permite aumentar la vida útil de los alimentos y conservar mejor las propiedades como el color, sabor, aroma, textura, actividad biológica, además de tener una mayor capacidad de rehidratación (Hammami y Rene, 1997; Mosquera, L.H. y col., 2012). El uso de esta técnica para obtener bebidas en polvo a partir de cassis e infusiones de yerba mate, permitiría llevar sus ventajas nutricionales a un mayor número de consumidores. Sin embargo, la elevada higroscopicidad de estos productos a altas temperaturas y humedades relativas dificulta su comercialización. Para resolver este problema es necesario determinar las propiedades de sorción de los mismos ya que esta información permitiría predecir su estabilidad fisicoquímica así como estimar su vida útil y aceptabilidad. En el presente trabajo se determinaron experimentalmente las isotermas de sorción de humedad de una bebida en polvo a base de yerba mate (*I. paraguariensis*, St. Hil) y cassis (*Ribes nigrum* cv. Silvergieter) para 3 temperaturas (10, 20 y 40 °C) y se modelaron con diferentes ecuaciones de 2 (Oswin, Halsey y BET) y 3 parámetros (Guggenheim, Anderson and Boer; GAB).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación de muestras: La infusión de yerba mate (YM) se preparó por extracción de 60 g de yerba mate comercial (*I. paraguariensis*, St. Hil; La Unión Suave, Argentina) en 1 L de agua (100 °C por 15 min.). El sobrenadante fue decantado durante 15 min a 25 °C, filtrado y almacenado a 4 °C. El Cassis orgánico (BC; *Ribes nigrum* cv. Silvergieter) fue provisto por Chacras Cuyen, (El Bolsón, Chubut, Argentina) cosechado en enero 2012 y almacenado a -20 °C. La fruta fue descongelada y procesada en una

despulpadora industrial (filtro de poro: 2 mm). La combinación de YM y BC (3:1) se mezcló con Maltodextrina DE10 (15 % p/v) y luego se liofilizó a temperatura ambiente en un liofilizador FIC L1-1-E300-CRT (Buenos Aires, Argentina) con placa de congelación a -35 °C y vacío < 100 µm. Al polvo obtenido se adiciono 5 % de azúcar grado alimenticio y 0.05 % de edulcorante comercial (Hileret: Ciclamato 5700mg/100g; Sacarina 2000 mg/100g, Dextrosa) y se homogenizó para obtener la mezcla final.

Actividad acuosa y Humedad: La actividad acuosa (a_w) fue determinada a 25 °C en un equipo AquaLab serie 3 (Decagon Device, Pullman, Washington, USA), previamente calibrado con las soluciones salinas saturadas en el rango de interés. La humedad se determinó por secado en estufa San jor serie SL DB (Buenos Aires, Argentina) a 105 ± 1 °C hasta alcanzar peso constante. Todas las determinaciones se hicieron por triplicado.

Isotermas de sorción: Las isotermas de sorción fueron determinadas por el método gravimétrico estático a 10, 20 y 40 °C (Rahman y Sablani, (2008); Demarchi y col., (2013)). Muestras de la bebida en polvo (1.5 g) se almacenaron en recipientes herméticos conteniendo soluciones saturadas de sales para proporcionar diferentes valores de humedad relativa: $LiCl$ (11.3 %); CH_3COOK (23.4 %); $MgCl_2$ (33 %); K_2CO_3 (43.2 %) y $Mg(NO_3)_2$ (54.4 %). Los pesos de las muestras se midieron cada tres días hasta alcanzar un valor constante ($< \pm 0.003$ g), donde se asume que se ha alcanzado el equilibrio (Lomauro y col., 1985; Demarchi, S.M y col., 2013). Cada punto de la isoterma se hizo por triplicado.

Ajuste de modelos y comparación estadística: Los datos experimentales se modelaron usando ecuaciones de 2 (Oswin, Halsey y BET) y 3 parámetros (GAB), donde W_c es la humedad de equilibrio, W_m la humedad en la monocapa y C, K, A y B son constantes de los distintos modelos (Tabla 1).

El ajuste de las ecuaciones se realizó mediante regresiones no lineales con el software OriginPro v 8.0 (2009). El grado de ajuste de cada modelo se evaluó usando el porcentaje de error medio relativo (%E) el cual expresa la diferencia entre el modelo calculado y los datos experimentales (Ec. 1):

$$\%E = \frac{100}{n} \sum_{i=1}^n \frac{|M_i - M_{pi}|}{M_i} \quad (\text{Ec. 1})$$

Dónde n es el número de datos experimentales, M_i el valor experimental, M_{pi} el valor predicho. Un %E menor al 10 % es considerado como un buen ajuste del modelo (Lomauro y col., 1984).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El porcentaje de humedad inicial de la bebida en polvo liofilizada fue 3.54 % y la $a_w = 0.089$. Los valores experimentales para el contenido de humedad de equilibrio (W_c ; kg agua/kg materia seca (m.s)) para las 3 temperaturas, se presentan en la Tabla 2.

Se observó que a temperatura constante la humedad de equilibrio (W_c) aumentaba con el incremento de a_w (Tabla 2); este comportamiento es similar al informado para polvos de mora (*Rubus* spp.; Ferrari y col., 2012), Açai (*Euterpe oleracea* Mart.; Tonon y col., 2009) y frutilla (*Fragaria ananassa* var. Camarosa; Mosquera y col., 2011). Para una a_w dada, W_c disminuyó con el incremento de la temperatura indicando un descenso en la higroscopicidad del polvo (Tabla 2); Vega Gálvez y col., (2006) detectaron un comportamiento similar en harina de maíz, y lo atribuyeron a una menor disponibilidad de los sitios activos para la unión con el agua.

La Figura 1 muestra los resultados experimentales y predichos de las isotermas de adsorción donde puede observarse su forma sigmoideal característica del tipo II. Los valores de los parámetros obtenidos para los diferentes modelos, incluyendo el valor de r^2 y %E están en la Tabla 3. El modelo de GAB es uno de los más usados en alimentos. La humedad en la monocapa (W_m) representa la cantidad de agua fuertemente absorbida por sitios específicos en la superficie del polvo y puede ser considerada como un parámetro óptimo para asegurar la estabilidad del alimento (Mosquera y col., 2011; Ferrari y col., 2012).

Los valores de W_m obtenidos mediante la ecuación de GAB disminuyeron con el aumento de la temperatura (Tabla 3). Este efecto puede atribuirse a la disminución de la energía cinética de las moléculas de agua que limita la capacidad higroscópica del producto (Vega Gálvez y col., 2006). Los resultados obtenidos son similares a los reportados para polvos de Frutilla a 20 °C (0.075 kg agua/kg m.s; Mosquera y col., 2011), y de Mora a 25 °C (0.071 kg agua/kg m.s; Ferrari y col., 2012) con MD como coadyuvante. Si bien el modelo de BET predijo valores de W_m menores que el de GAB, el comportamiento W_m/T fue similar (Tabla 3).

El análisis matemático de la ecuación de GAB realizado por Lewicki (1997), indica que para que el modelo describa un comportamiento sigmoideal los rangos de validez de las constantes K y C deben ser: $0.24 < K_{GAB} < 1.00$ y $5.6 < C_{GAB} < \infty$, para asegurar que los valores de W_m calculados y reales no difieran más del 15.5 %. A efectos del modelado se fijó $C_{GAB}=100$ (Demarchi y col., 2014) dentro de los rangos sugeridos por Lewicki (1997). El modelo mostró un buen ajuste a los valores experimentales; K_{GAB} fue cercano a 1 como el de otros polvos de frutas que contenían MD demostrando que las propiedades de multicapa son similares a las del agua líquida (Pérez-Alonso y col., 2006; Mosquera y col., 2011; Ferrari y col., 2012).

Si bien, todos los modelos presentaron un buen ajuste ($\%E < 10\%$), el que mejor ajustó para la isoterma de $10\text{ }^\circ\text{C}$ fue Halsey con $\%E = 2.30$; Oswin para $20\text{ }^\circ\text{C}$ con $\%E = 2.40$ y GAB para $40\text{ }^\circ\text{C}$ (2.68%). La ecuación de BET presentó un ajuste más bajo a las 3 temperaturas (Tabla 3). Los polvos almacenados a $a_w \leq 0.33$ se mantuvieron fluidos en las tres temperaturas mientras que para muestras con $a_w > 0.33$ y temperaturas de almacenamiento de 20 y $40\text{ }^\circ\text{C}$ se observó el colapso de los mismos por apelmazamiento, siendo más pronunciado a $40\text{ }^\circ\text{C}$ (Figura 2). Por lo tanto, las condiciones óptimas para prevenir el colapso de la bebida en polvo son: humedad relativa inferior a 43% y temperaturas por debajo de $40\text{ }^\circ\text{C}$, preferiblemente entre 10 y $20\text{ }^\circ\text{C}$.

5. CONCLUSIONES

Los 4 modelos analizados (GAB, BET, Oswin y Halsey) predijeron correctamente el comportamiento sigmoideal de las isotermas de sorción de humedad de la bebida en polvo a base de yerba mate y cassis. Considerando $\%E < 10\%$, Halsey mostró el mejor ajuste para la isoterma de $10\text{ }^\circ\text{C}$, Oswin para $20\text{ }^\circ\text{C}$ y GAB para $40\text{ }^\circ\text{C}$, mientras que BET presentó el más bajo en todos los casos. A temperatura constante, se observó un aumento de la humedad de equilibrio (W_c) con el incremento de a_w mientras que para una actividad acuosa dada, el incremento de la temperatura redujo W_c , indicando un descenso en la higroscopicidad del polvo. Para evitar el colapso del polvo por apelmazamiento las condiciones óptimas de almacenamiento son: $\%HR < 43\%$ en un rango de temperaturas de 10 a $20\text{ }^\circ\text{C}$.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AL-MUHTASEB, A.H., McMinn, W.A.M., y Magee, T.R.A. 2004. Water sorption isotherms of starch powders. Part 1: mathematical description of experimental data. *Journal of Food Engineering*, 61, 297-307.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). (1998). *Official methods of analysis* (16th ed.). Gaithersburg, USA: AOAC International
- DEMARCHI, S.M., Quintero Ruiz, N.A., De Michelis, A. y Giner S.A. 2013. Sorption characteristics of rosehip, Apple and tomato pulp formulations as determined by gravimetric and hygrometric methods. *Lebensmittel–Wissenschaft und Technologie*, 52, 21-26.
- FERRARI, C.C., Pimentel Marconi Germer, S., DutraAlvin, I., ZaratiniVissotto F. y De Aguirre, J.M. 2012. Influence of carrier agents on the physicochemical properties of blackberry powder produced by spray drying. *International Journal of Food Science & Technology*. 47 (6), 1237-1245.
- LEWICKI, P.P. 1997. The applicability of the GAB model to food water sorption isotherms. *International Journal of Food Science and Technology*. 32, 553-557.
- LOMAURO, C.J, Bakshi, A.S. y Labuza, T.P. 1984. Evaluation of food moisture sorption isotherm equations. Part I: Fruit, Vegetable and Meat products. *Lebensmittel–Wissenschaft und Technologie*, 18 (2), 111–117.
- MOSQUERA, L.H., Moraga, G. y Martínez-Navarrete, N. 2012. Critical water activity and critical water content of freeze-dried strawberry powder as affected by maltodextrin and arabic gum. *FoodResearch International*, 47, 201-206.
- TONON, R.V., Baroni, A.F., Brabet, C., Gibert, O., Pallet, D. y Hubinger M.D. 2009. Water sorption and glass transition temperature of spray dried acai (*Euterpeoleracea* Mart.) juice. *Journal of Food Engineering*, 994, 215-221.
- VEGA GÁLVEZ, Antonio; Lara Aravena, Elena y Lemus Moncada, Roberto. 2006. Isotermas de adsorción en harina de maíz (*Zea mays* L.). *Cienc. Tecnol. Aliment.*, 26 (4), 821-827.

7. TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1. Ecuaciones de las isotermas utilizadas para el modelado de los datos experimentales

Modelo	Ecuación
BET	$W_c = \frac{W_m C a_w}{(1 - a_w)[1 + (C - 1)a_w]}$
OSWIN	$W_c = A \left[\frac{a_w}{(1 - a_w)} \right]^B$
HALSEY	$W_c = \left[\frac{A}{\ln(1/a_w)} \right]^{\frac{1}{B}}$
GAB	$W_c = \frac{W_m K C a_w}{(1 - K a_w)[1 - K a_w + C K a_w]}$

Tabla 2. Valores de equilibrio del contenido de agua para la bebida en polvo (YM/BC/15%MD; base seca) a 10, 20 y 40 °C.

a_w	$W_c (10\text{ °C})^*$	$W_c (20\text{ °C})^*$	$W_c (40\text{ °C})^*$
0.113	0.0582±0.0004 ^c	0.052±0.0006 ^b	0.044±0.0005 ^a
0.246	0.071±0.0005 ^b	0.070±0.0010 ^b	0.050±0.0020 ^a
0.33	0.089±0.0007 ^c	0.079±0.0008 ^b	0.059±0.0001 ^a
0.432	0.102±0.0005 ^b	0.097±0.0087 ^b	0.071±0.0016 ^a
0.544	0.119±0.0029 ^c	0.106±0.0003 ^b	0.078±0.0008 ^a

*Expresado como el promedio ± desviación estándar de las determinaciones por triplicado. (a,b,c) diferentes letras significan diferencias significativas (p<0.05) por filas.

Tabla 3. Parámetros calculados para los diferentes modelos de las isotermas de sorción de la bebida en polvo.

C	Constante	10 °C	20 °C	40 °C
GAB	W_m	0.063 (0.0033)	0.061 (0.0059)	0.050 (0.0031)
	K	0.946 (0.0293)	0.914 (0.0526)	0.857 (0.033)
	C	100 (0.000)	100 (0.000)	100 (0.000)
	R²	0.973	0.920	0.964
	E%	3.914	4.711	2.675
BET	W_m	0.057 (0.00101)	0.052 (0.00157)	0.038 (8.089x10 ⁻⁴)
	C	104.52 (72.032)	101.21 (114.593)	2.02x10 ²⁴ (1.904x10 ³⁶)
	R²	0.965	0.900	0.926
	E%	3.461	5.538	4.264
OSWIN	A	0.111	0.102 (0.00162)	0.074 (0.00105)
	B	0.336	0.325 (0.0196)	0.285 (0.01665)
	R²	0.987	0.959	0.959
	E%	2.771	2.396	4.013
HALSEY	A	0.014 (0.0018)	0.010 (0.00321)	0.003(8.978x10 ⁻⁴)
	B	1.778 (0.0565)	1.846 (0.1273)	2.073(0.10164)
	R²	0.987	0.943	0.969
	E%	2.303	3.589	2.929

*Los valores en paréntesis son la desviación estándar correspondiente al parámetro.

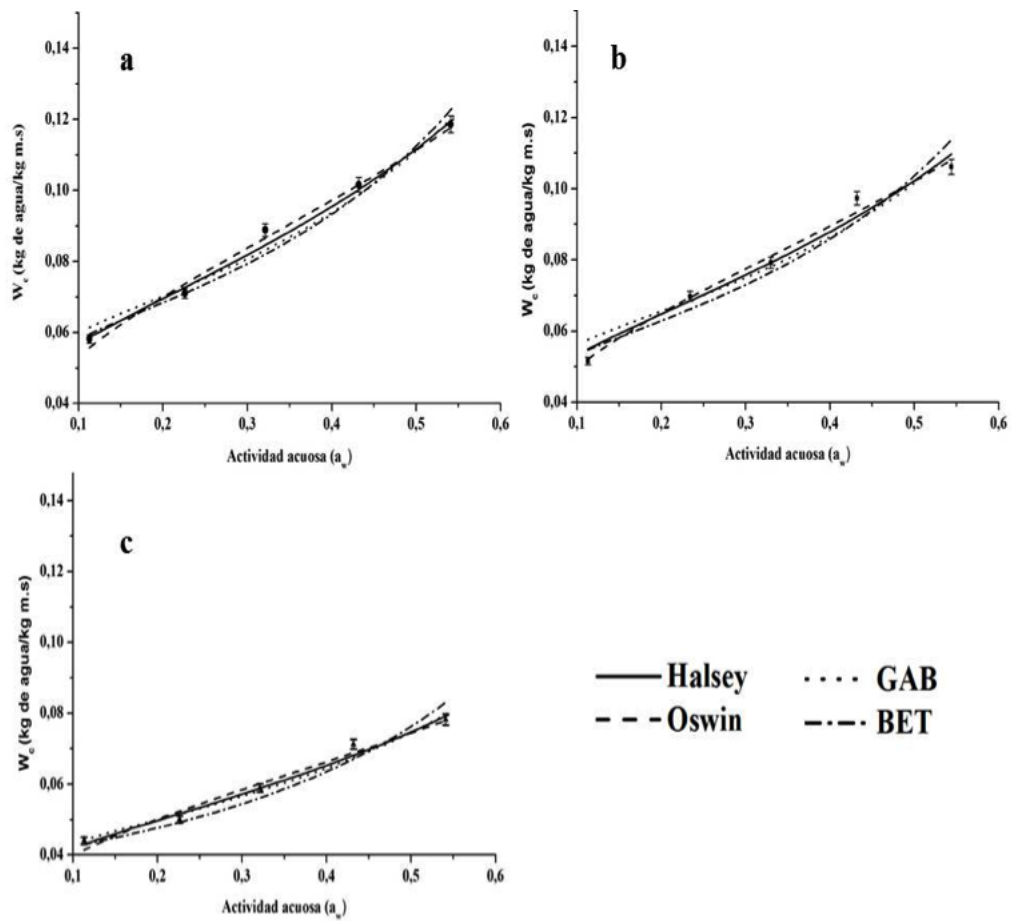


FIGURA 1. Modelos ajustados a la isoterma de sorción de humedad experimental de la bebida en polvo. a. (●) 10 °C; b. (■) 20 °C y c. (▲) 40 °C.

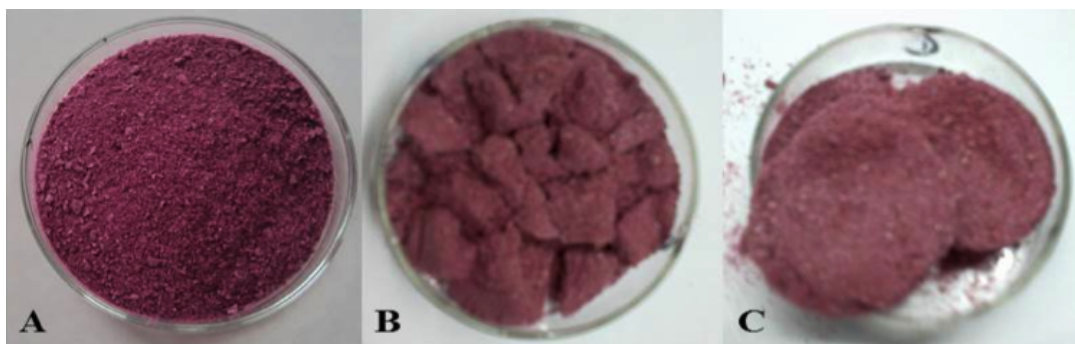


FIGURA 2. Bebida en polvo. A. Inicial; B. 40 °C y $a_w = 0.423$; C. 40 °C y $a_w = 0.54$.

CARACTERÍSTICAS SENSORIALES Y FISICOQUÍMICAS DE UNA BEBIDA SALUDABLE EN POLVO, A BASE DE EXTRACTOS DE YERBA MATE (*ILEX PARAGUARIENSIS*) Y JUGO DE POMELO (*CITRUS PARADISI*)

Juan Palacio-Díaz¹, Juliana Orjuela-Palacio¹, Damián Marino², Clara Zamora^{3,4}, Cecilia Lanari^{1,4}

1. RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue diseñar un producto en polvo a base de extractos de yerba mate y jugo de pomelo con buen nivel de aceptación sensorial por parte de los consumidores y determinar las propiedades fisicoquímicas de los polvos (color, actividad acuosa (aw), humedad, temperatura de transición vítrea (Tg), composición polifenólica, actividad antioxidante) y de la bebida reconstituida (color, pH, sólidos solubles totales). La formulación de la mezcla estuvo basada en el nivel de aceptación de los consumidores, que determinó la cantidad máxima de extracto de yerba y el nivel de aroma a pomelo que podía ser agregado. La composición de la bebida fue (% p/p): Jugo Pomelo (88.87), extracto yerba (1.78), maltodextrina (8.9), aroma (0.45). Un panel de 40 consumidores realizó un perfil descriptivo semicuantitativo, tildando los atributos percibidos a partir de una lista de descriptores (color, acidez, dulzor, amargor, astringencia y aromas a pomelo, frutal, cítrico, yerba). Los atributos que caracterizaron la muestra fueron el color amarillo, el aroma a pomelo, y el buen balance entre dulzor, acidez y astringencia. Los bajos

CONTACTO: Cecilia Lanari clanari@cidca.org.ar

1. Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecología de Alimentos (CIDCA) Fac. de Ciencias Exactas Universidad Nacional de La Plata, La Plata. Argentina.

2. Facultad de Ciencias Exactas Universidad Nacional de La Plata, La Plata. Argentina.

3. Facultad de Ciencias Agrarias, Pontificia Universidad Católica Argentina, Buenos Aires, Argentina.

4. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Buenos Aires, Argentina.

niveles de a_w (0,084) y humedad (4.78 %) permitieron obtener un valor de temperatura de transición vítrea (T_g) de 48,29 °C, que garantizaba un polvo fluido a temperatura ambiente. Los valores de pH y sólidos solubles totales (°Brix) fueron 3.15 y 21 respectivamente mientras que el color de la bebida reconstituida fue $L^* = 30.34$, $a^* = -0.50$ y $b^* = 5.96$. La composición polifenólica se determinó mediante espectrometría de masa detectándose la presencia de ácido mono y di cafeoilquínicos. La capacidad de inhibición del radical DPPH fue 49.41 %.

2. INTRODUCCIÓN

Estudios recientes demostraron que las infusiones de yerba mate (*Ilex paraguariensis*) tienen propiedades antioxidantes beneficiosas para la salud. Los responsables de esas propiedades son principalmente dos tipos de compuestos: los polifenoles (clorogénico y derivados, cafeico, quercitina, rutina y camferol y las xantinas (cafeína y teobromina) (Valerga y col, 2011).

Los extractos de pomelo (*Citrus paradisi*) tienen un alto nivel de ácidos fenólicos, flavonoides (hesperidina, naringina, narirutina y eriocitrina), vitamina C y carotenoides beneficiosos para la salud. (Igual y col. 2010). Tanto los polifenoles del mate como los del pomelo poseen alta capacidad antioxidante pero las diferencias existentes en sus perfiles polifenólicos podrían impartir grandes contrastes en los mecanismo de acción de los extractos.

La estabilidad de los polifenoles depende de por el pH, iones metálicos, exposición a la luz, temperatura, oxígeno y actividad enzimática. La estabilidad de dichos compuestos puede ser mejorada aplicando tecnologías de microencapsulación que usen materiales de barrera para proteger ingredientes sensibles contra reacciones adversas y controlar la liberación de estos, facilitando a su vez la manipulación y almacenamiento. Uno de los coadyudantes utilizados es la Maltodextrina, obtenidos a partir de la hidrólisis ácida de varios tipos de almidones (maíz, papa entre otros); tiene alta solubilidad, baja viscosidad, sabor suave y es incolora (Orjuela-Palacio y col. 2014).

El desarrollo de bebidas a partir de mezclas de extractos antioxidantes de yerba solo o combinado con pomelo sería una forma efectiva de que sus ventajas nutricionales lleguen a un gran número de consumidores.

El objetivo de este trabajo fue:

a- Obtener bebidas saludables en polvo con alto contenido de antioxidantes, a partir de yerba mate y jugo de pomelo, usando maltodextrina como coadyuvante de la liofilización.

b- Determinar la formulación óptima mediante ensayos sensoriales.

c- Caracterización fisicoquímica de los polvos (color, aw, humedad, Tg, composición polifenólica, actividad antioxidante) y de la bebida reconstituida (color, pH, sólidos solubles totales (°Brix)).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

La infusión de yerba mate (*Ilex paraguariensis* St Hill; La Unión Suave, Argentina, 160g/l) se calentó a 100 °C durante 15 min. Luego de un periodo de decantación de 15 min a 25 °C, se filtro y liofilizo en un equipo FIC L1-1-E300-CRT (Buenos Aires, Argentina) con placa congeladora -35 °C y vacío menor a 100 µm. El polvo obtenido (PY) se envasó en una película de poliamida/polietileno (70 µm) y almacenó a -18 °C hasta su uso. El jugo de pomelo rosado se obtuvo a partir de frutos frescos provenientes de un mercado local.

DETERMINACIÓN DE LOS NIVELES ÓPTIMOS DE YERBA

La formulación de la mezcla del extracto de yerba liofilizado (PY) con jugo de pomelo (JP) estuvo basada en la aceptación inicial de la mezcla que fijaba la cantidad máxima del extracto de yerba que podía ser agregada sin producir rechazo.

Para el estudio de la selección de la mezcla se evaluaron las siguientes muestras:

- | | | |
|----------------------|----------------------|-----------------------|
| 1) JP / 0.5 % p/p PY | 2) JP / 1.0 % p/p PY | 3) JP / 1.5 % p/p PY; |
| 4) JP+ 2.0 % p/p PY | 5) JP/ 2.5 % p/p PY | 6) JP/ 3.0 % p/p PY |
| 7) JP/ 3.5 % p/p PY; | 8) JP/ 4.0 % p/p PY | |

Un panel de 41 evaluadores no entrenados formado por alumnos de la facultad de Cs Exactas UNLP (20 - 32 años; 22 mujeres 19 varones) evaluó cada una de las muestras mencionando qué gustó y qué no gustó en cuanto a apariencia, sabor, acidez, amargor, astringencia. Los atributos fueron evaluados por frecuencia de mención y analizados por la técnica estadística de Análisis de Correspondencias.

La formulación con mayor índice de atributos hedónicamente positivos se mezcló con 10 % (p/p) de maltodextrina DE10 (MD), se liofilizó y el polvo obtenido se envasó en una película de poliamida/polietileno (70 μm) y almacenó a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta realizar los ensayos correspondientes.

DETERMINACIÓN DEL TIPO DE AROMATIZANTE

Para compensar la pérdida de aroma durante la liofilización se estudió el efecto del agregado de aromatizantes en polvo que se percibieran en la forma más similar posible a la bebida sin liofilizar. Con este fin se probaron dos productos, G y S, en las concentraciones sugeridas por los fabricantes, utilizando como patrón de comparación la bebida sin liofilizar (control). El producto final (Y/P) se obtuvo incorporando el aromatizante al polvo liofilizado de yerba/pomelo/MD .

El mismo panel de 41 evaluadores realizó un test de agrupamiento (*sorting task*) con descripción (Chollet, Lelièvre, Abdi, & Valentin, 2011), de cuatro muestras por duplicado (control, muestra liofilizada, muestra liofilizada con aromatizante G y muestra liofilizada con aromatizante S). En este test se les pide a los evaluadores que agrupen las muestras que se perciben parecidas y que las describan a través de los atributos que consideran comunes a ese grupo. Los datos se analizaron por las técnicas estadísticas de escalamiento óptimo multidimensional y análisis de correspondencia.

CARACTERIZACIÓN FISICOQUÍMICA DE LOS POLVOS CON FORMULACIÓN SENSORIALMENTE ÓPTIMA

Se determinaron; (a) sólidos solubles totales del jugo reconstituido (TSS; $^{\circ}\text{Brix}$); (b) humedad; (c) actividad de agua (a_w); (d) temperatura de transición vítrea (T_g ; calorimetría diferencial de barrido DSC); (e) composición polifenólica (HPLC/ Esp Masa; Igual y col. 2011); (f) capacidad de inhibición (%) del radical DPPH (AA; Valerga y col. 2011).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

DETERMINACIÓN DEL NIVEL ÓPTIMO DE YERBA Y TIPO DE AROMATIZANTE

En la Figura 1 se muestran cómo se agruparon las muestras en torno a los descriptores mencionados por los evaluadores. Se puede observar que uno de los atributos que fue evaluado como negativo fue el color verde y el color amarronado, como así

también la astringencia. La muestra 244 quedó intermedia entre los que responden más a las características del jugo de pomelo en cuanto a color y astringencia y el grupo donde hay un cambio de color más manifiesto. En base a estos resultados se tomó esta concentración (2 % p/p) del extracto de yerba para seguir estudiando esta mezcla.

Las pruebas de agrupamiento se muestran en la Figura 2 donde se puede observar que en los dos cuadrantes del lado izquierdo se agruparon las muestras liofilizadas sin aroma agregado (983 y 948) y las que tienen el aroma S (45 y 494). En los cuadrantes de la derecha están las muestras del jugo con yerba sin liofilizar (300 y 748) y las muestras liofilizadas con el aroma G (426 y 323). Esta agrupación muestra que el aroma de G se percibe en forma similar al del jugo fresco.

En la Figura 3 se presentan los resultados de la agrupación de las muestras con los diferentes aromatizantes y los atributos mencionados por los evaluadores para describirlas. Acá se corrobora que las muestras con el aroma G se perciben más parecidas al jugo fresco con yerba y los descriptores aromáticos mencionados fueron cítricos y frutado.

La determinación sensorial del efecto de los aromatizantes (G, S) mostro que los mejores resultados se obtuvieron con el 0.5 g/100 g de aromatizante G ya que no se detectaron diferencias significativas entre esta bebida y una preparada con jugo de pomelo fresco.

La formulación óptima es:

100 g de Jugo Pomelo, 2 g de polvo liofilizado del extracto acuoso de yerba mate; 10 g MD; 0.5 g de aromatizante G.

Concentración óptima de polvo (g/100 ml H₂O) = 22,48 g.

Caracterización fisicoquímica de los polvos con formulación optima

La Tabla 1 muestra los valores de T_g, a_w, humedad y capacidad de secuestro del DPPH* (AA, 20μM) de los polvos obtenidos así como el contenido de sólidos solubles, pH y color de la bebida reconstituida. Los bajos niveles de a_w y humedad del polvo Y/M obtenido permitieron obtener un valor de temperatura de transición vítrea (T_g; Figura 4) que garantizaba un polvo fluido a temperatura ambiente y baja humedad.

Composicion polifenolica del polvo

Los resultados obtenidos con el HPLC/MS (Figura 4) indicaron que en modo negativo se detectan 9 picos cromatograficos, con mayoria, en area porcentual, de 5 picos. De los cuales tres de de ellos se corresponden con un ion $m/z=353$ y fragmentos $m/z=191$, correspondientes con isomeros del acido cafeilquinico. Otros dos con iones $m/z=515$ compatibles con iones de la especie dimerica acido dicafeoilquinico, los otros compuestos se encuentran en proceso de estudio para identificación. En modo positivo se confirman las identidades de los compuestos detectados en modo negativo.

5. CONCLUSIONES

Se obtuvieron polvos liofilizados a partir de extractos acuosos de yerba y jugo de pomelo con buena fluidez y solubilidad en agua fría

Los ensayos sensoriales indicaron que la bebida preparada con estos polvos tenia un sabor similar a la obtenida a partir de jugo fresco

Se ha detectado la presencia de acido clorogenico y sus isomeros asi como la de compuestos de tipo dicafeoil quinico. Los otros compuestos detectados por HPLC se encuentran en proceso de análisis

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CHOLLET, S., Lelièvre, M., Abdi, H., & Valentin, D. (2011). Sort and beer: Everything you wanted to know about the sorting task but did not dare to ask. *Food Quality and Preference*, 22, 507–520.
- IGUAL M., Garcia Martinez M.M. y Martinez Navarrete, N. 2011.Changes in flavonoid content of grapefruit juice caused by thermal treatment and storage. *Innov. Food Sci. and Emerging Technol.* 12 153–162
- ORJUELA-PALACIO J., Zamora MC y Lanari MC. 2014. Consumers' acceptance of a high-polyphenol yerba mate/black currant beverage: Effect of repeated tasting. *Food Research International*, 57 26–33
- VALERGA J. Reta M. & Lanari M.C. 2012. Polyphenol input to the antioxidant activity of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) extracts . *LWT - Food Science and Technology* 45 (2012) 28- 35.

7. TABLAS Y FIGURAS

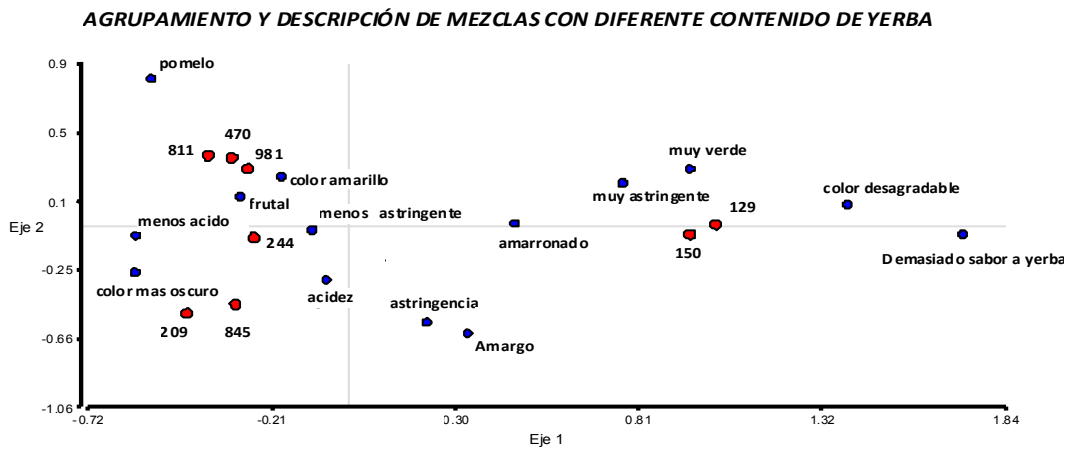


FIGURA 1.

(811) JP / 0.5 % p/p PY; (470) JP / 1.0 % p/p PY; (981) JP / 1.5 % p/p PY; (244) JP / 2.0 % p/p PY
 (209) JP / 2.5 % p/p PY; (845) JP / 3.0 % p/p PY; (129) JP / 3.5 % p/p PY; (150) JP / 4.0 % p/p PY

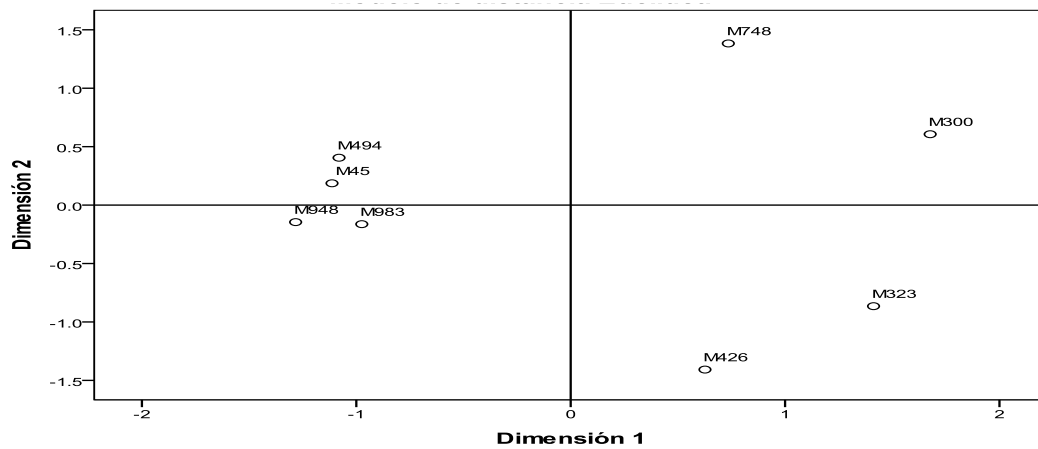


FIGURA 2.

sin liof / sin aroma (300 y 748) ; liof / sin aroma (983 y 948); liof / G (426 y 323); liof / S (45 y 494).

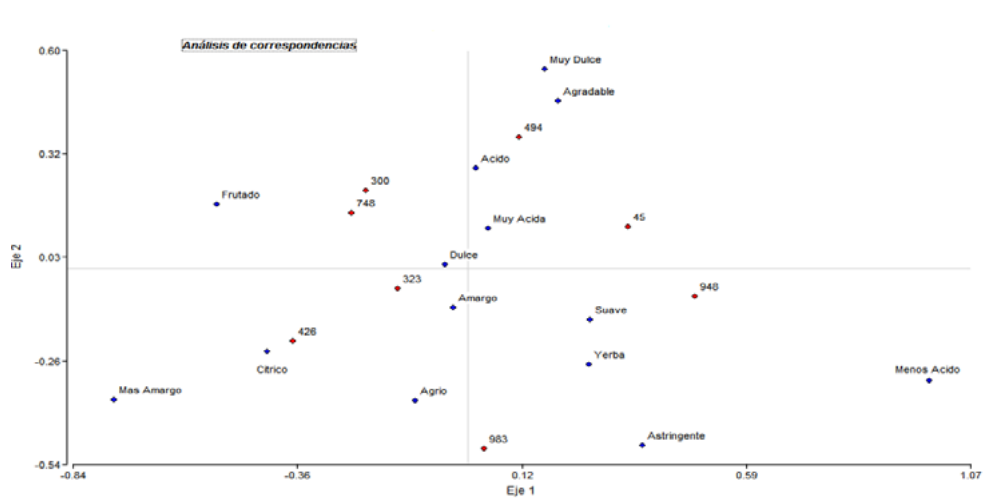


FIGURA 3. Agrupación de las muestras con los aromatizantes y atributos mencionados para describirlas

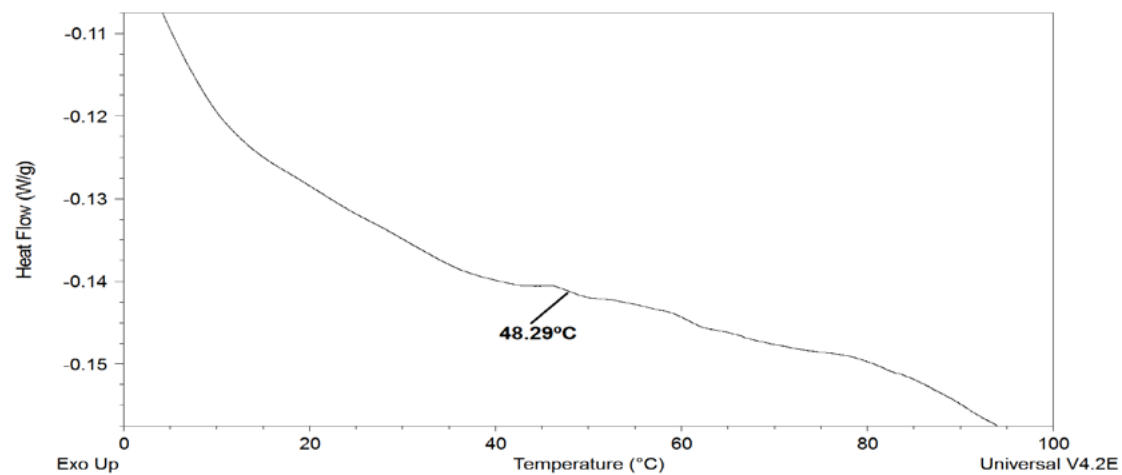


FIGURA 4. Termogramas del polvo liofilizado

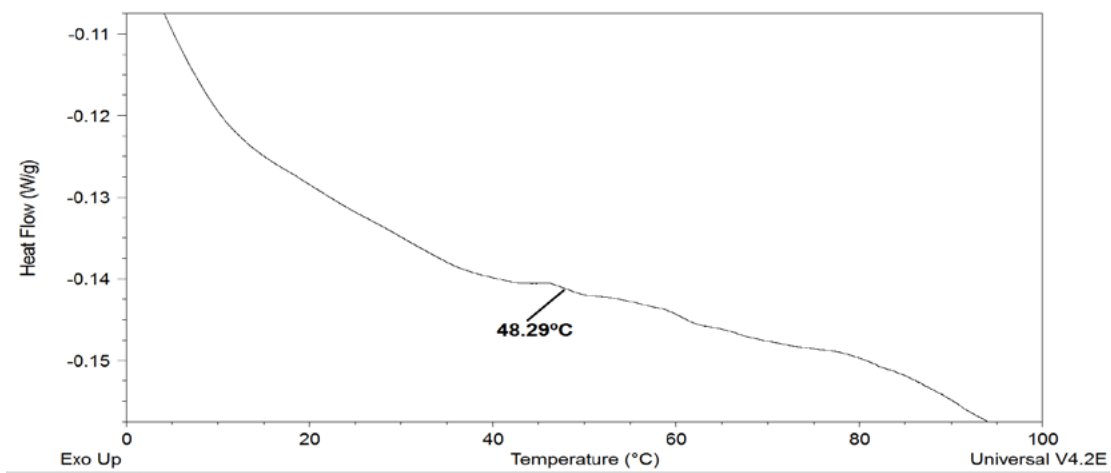
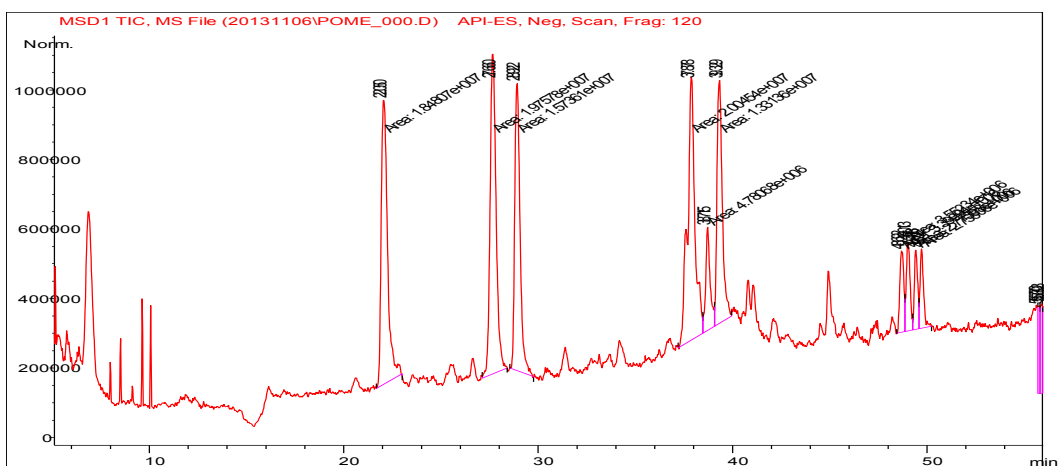
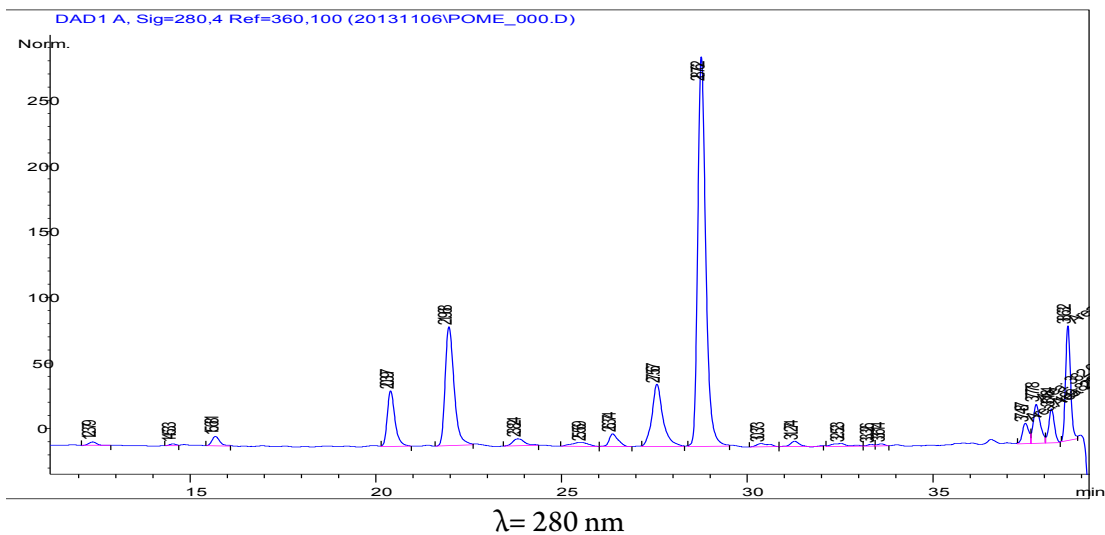
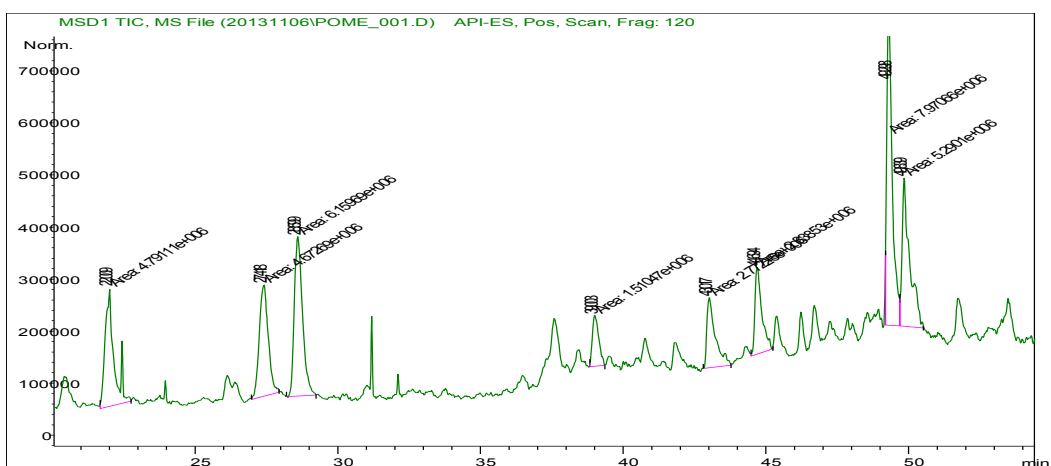


FIGURA 5. Cromatogramas y espectros de masa de los polvos



Espectro de masa de polvos modo negativo, fragmentador 120 eV



Espectro de masa de polvos modo positivo fragm 120 eV

TABLA 1. Caracterización fisicoquímica de los polvos y de la bebida reconstituida

Polvo liofilizado		Bebida reconstituida	
T _g	48.29 °C	°Brix	21
a _w	0.084 (0.001)	pH	3.15
% humedad	4,78 (0.16)	Color	L* = 30.34 (0.58) a* = -0.50 (0.07) b* = 5.96 (0.16)
AA (20 μM)	49.41%.		

DESARROLLO DE BOLSAS PARA COCCIÓN DE CARNES AL HORNO A PARTIR DE PELÍCULAS PROTEICAS DE SOJA Y GELATINA ACTIVADAS CON CURRY

Luciana Di Giorgio, Pablo Rodrigo Salgado, Adriana Noemí Mauri

1. RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue desarrollar películas proteicas de soja y gelatina saborizadas con *curry*, utilizarlas para la formación de bolsas para cocción de carnes al horno, y evaluar su resistencia a distintos tratamientos de cocción. La activación con *curry* se realizó con la intención de que el material pueda además saborizar la carne durante la cocción. Se prepararon películas por *casting* a partir de dispersiones acuosas de aislado proteico de soja (APS) o gelatina bovina (GB), glicerol y distintas cantidades de saborizante. Las películas obtenidas se acondicionaron y luego se caracterizaron. Las películas de APS presentaron similar espesor y opacidad que las de GB; mientras que las primeras presentaron una leve coloración amarillenta las segundas resultaron incoloras. Al aumentar la concentración de *curry* se observó un incremento proporcional en el espesor de las películas y un aumento notorio en la opacidad y en la coloración rojiza de los materiales proteicos resultantes. Las películas de APS presentaron mayor contenido de humedad que las de GB, pero resultaron menos solubles en agua y menos permeables al vapor de agua que éstas; sin embargo estas propiedades no se modificaron significativamente con el agregado del saborizante. Las películas de APS resultaron más resistentes y menos elongables que las formuladas con GB. El agregado de saborizante a ambas formulaciones provocó una disminución en la elongación de las películas, acompañado por un aumento en el módulo de Young, sin modificaciones significativas en la resistencia a rotura; y les otorgó importantes propiedades antioxidantes. Se obtuvieron bolsas

CONTACTO: Pablo Rodrigo Salgado psalgado@cidca.org.ar
Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecología de
Alimentos (CIDCA, CONICET-UNLP), La Plata, Buenos Aires,
Argentina.

proteicas por termosellado a partir de las películas de APS y GB con o sin *curry*, y se utilizaron para cocinar pollo en horno convencional y en microondas. Sólo las bolsas obtenidas por termosellado a partir de las películas proteicas de soja, saborizadas o no con *curry*, resistieron satisfactoriamente ambos tratamientos de cocción.

2. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la mayoría de los envases utilizados en la industria alimentaria son producidos con plásticos sintéticos; sin embargo, estos materiales están siendo muy cuestionados debido a la posible migración de sustancias desde el envase hacia los alimentos, y a los problemas ambientales que ocasiona su acumulación una vez desechados ya que no son fácilmente degradados en el medio ambiente. En respuesta a estas problemáticas ha crecido la demanda de materiales biodegradables a partir de fuentes renovables (biopolímeros) (1); (2).

Las proteínas extraídas de recursos agropecuarios renovables o de subproductos industriales resultan atractivas en el desarrollo de películas o recubrimientos biodegradables y/o comestibles. Las películas proteicas suelen presentar excelentes propiedades barrera al oxígeno, a lípidos y a los aromas; propiedades mecánicas moderadas y una elevada permeabilidad al vapor de agua, en comparación con los materiales sintéticos (3). Para ampliar su funcionalidad se han utilizado distintas estrategias, siendo una de ellas la incorporación de aditivos para conferirle al envase características especiales, por ejemplo el agregado de agentes antioxidantes, antimicrobianos, microorganismos probióticos, *flavors* y pigmentos (4). Los materiales resultantes entran en la categoría de envases activos.

Un envase activo se define como aquel que cambia las condiciones del alimento envasado y/o del entorno para extender su vida útil, aumentar su seguridad microbiológica o mejorar sus propiedades organolépticas, manteniendo su calidad. Generalmente, los envases activos basan su actividad en propiedades intrínsecas del polímero (como el caso del quitosano) o en propiedades de sustancias específicas que son incorporadas dentro de la matriz polimérica (como agentes antioxidantes y antimicrobianos) (5).

Hoy en día existe una preferencia por parte de los consumidores a la utilización de aditivos de origen natural, ya que relacionan su uso con una mejor calidad de vida. Un ejemplo de este tipo de compuestos es la curcumina, ingrediente principal

del condimento *curry*, la cual ha sido ampliamente utilizada como colorante y saborizante en la industria alimentaria. Recientemente se ha descrito que la curcumina además posee importantes propiedades antioxidantes y presenta efecto antimicrobiano contra *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* (6).

El objetivo de este trabajo fue desarrollar películas proteicas de soja y gelatina saborizadas con *curry*, utilizarlas para la formación de bolsas para cocción de carnes al horno, y evaluar su resistencia a distintos tratamientos de cocción.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

MATERIALES

Se trabajó con un aislado proteico de soja (APS, SUPRO 500E, Dupont, Brasil) y gelatina bovina (GB, Rousselot 150H4, Rousselot Argentina S.A., Argentina) como biopolímeros; glicerol como plastificante (Anedra, Argentina); y un condimento comercial “*curry*” (La Parmesana, Argentina) como saborizante. Los ensayos de cocción fueron realizados sobre pechugas de pollo deshuesadas adquiridas en una carnicería local. Todos los reactivos químicos utilizados fueron de pureza analítica.

OBTENCIÓN DE LAS PELÍCULAS

Las películas se obtuvieron por *casting* a partir de dispersiones acuosas de proteínas (APS o GB, al 5 %p/v), glicerol (1,25 %p/v) y distintas concentraciones de saborizante (0, 2 y 4 %p/p respecto de APS o GB) a pH=10. Una vez listas las dispersiones, se dispusieron 25 g de cada una en placas rectangulares de acrílico y se secaron en una estufa con convección forzada (Yamato, DKN600, Estados Unidos) a 40 °C durante 12 horas. Las películas resultantes se acondicionaron 48 h a 20 °C y 59 % de humedad relativa (HR) previo a su caracterización.

CARACTERIZACIÓN DE LAS PELÍCULAS

Las películas obtenidas fueron caracterizadas según su espesor, contenido de agua (ASTM D644-99), color, opacidad, solubilidad en agua, permeabilidad al vapor de agua (ASTM E96-00), temperatura de transición vítrea (por DSC, ASTM D3418-03), propiedades mecánicas en ensayo de tracción (ASTM D882-02) y microestructura (por SEM) (7, 8). También se determinó su actividad antioxidante según su capacidad de capturar al radical catiónico ABTS^{•+}, donde se utilizaron como

muestras alícuotas de los filtrados obtenidos de los ensayos de solubilidad en agua (7) y la resistencia del termosellado con un ensayo en tracción utilizando un texturómetro (9).

Formación de las bolsas proteicas para cocción: Se prepararon bolsas proteicas a partir de las películas de soja y gelatina saborizadas con 2 % de *curry*. Para ello, la película proteica se dobló a la mitad y se selló en uno de los extremos con una termoselladora manual por impulso; luego se colocó cuidadosamente la pieza de carne en su interior y se sellaron los dos extremos restantes.

Ensayos de cocción: se determinó el tiempo óptimo de cocción de la carne de pollo dentro de las bolsas proteicas de soja y gelatina saborizadas con 2 % de *curry*, en horno convencional (a 180 °C) y en microondas (a 500 W), y se evaluó la resistencia de las bolsas proteicas al tratamiento térmico realizado. Los tiempos de cocción ensayados fueron 2, 4, 6, 8 y 10 minutos para horno convencional y 1, 2, 2.5, 3 y 4 minutos para horno microondas. El tiempo óptimo de cocción se seleccionó teniendo en cuenta las características organolépticas de la carne de pollo (aparición, color y textura de la carne).

Análisis estadístico: Se informa valor medio \pm desviación estándar. Se realizó análisis de varianza (ANOVA) y las medias se compararon con el Test de Tukey HSD con $\alpha=0.05$, empleando Statgraphics plus, versión 5.1 (Statgraphics, Estados Unidos).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

PELÍCULAS PROTEICAS DE SOJA Y GELATINA ACTIVADAS CON CURRY

Las proteínas de soja y las de gelatina presentan diferencias en cuanto a su origen (vegetal y animal) y a su estructura y funcionalidad (composición aminoacídica, solubilidad, etc.). Sin embargo, ambas presentan buenas características para la formación de películas comestibles por lo que se decidió utilizarlas como materias primas para evaluar esta aplicación. En la Figura 1 se muestran fotografías de las películas proteicas de soja y gelatina con diferentes concentraciones de saborizante *curry* (0, 2 y 4 %p/p). En ellas es posible observar un incremento de la coloración rojiza (aumento del parámetro a^* y disminución de L^* -datos no mostrados-) y en la opacidad (~ 10 veces -datos no mostrados-) de las películas con el agregado de *curry*. Los espesores de las películas aumentaron significativamente ($p < 0,05$) en forma proporcional a la concentración de saborizante, debido a que el porcentaje de sólidos

se va incrementando, siendo el efecto más marcado en las películas de APS (de ~60 μm a ~140 μm) que en las de GB (de ~60 μm a ~120 μm) ($p < 0,05$). Las películas de APS presentaron mayor contenido de humedad que las de GB (~ 20 % vs. 15 %) ($p < 0,05$), pero resultaron menos solubles en agua (~ 35 % vs. 90 %) y menos permeables al vapor de agua (~ $1 \cdot 10^{-10}$ vs. $1,5 \cdot 10^{-10}$ g/Pa.m.s) que éstas ($p < 0,05$). La susceptibilidad al agua de las películas (solubilidad y WVP) no se vio afectada de forma significativa con el aumento en la cantidad de condimento ($p > 0,05$), pero sí sus propiedades mecánicas (Tabla 1). Las películas proteicas de soja resultaron más resistentes y menos elongables que las formuladas con gelatina ($p < 0,05$). Con el agregado de saborizante, se observó una disminución en la elongación de las películas ($p < 0,05$), acompañado por un aumento en el módulo de Young ($p < 0,05$) sin modificaciones significativas en la resistencia a la rotura ($p > 0,05$). Es evidente que la presencia de las especias rigidizan la película, probablemente por interacciones entre la matriz y las partículas presentes en el condimento. Posiblemente las imperfecciones en la interfase entre las partículas y la matriz proteica, observadas por SEM –imágenes no mostradas–, podrían actuar como concentradores de tensiones que podrían iniciar la ruptura temprana de las películas, provocando una menor elongación. También se observó que al incrementar el contenido de saborizante aumentó la Tg de las películas de soja (de -32 a -23 °C) y gelatina (de -39 a -32 °C) ($p < 0,05$), probablemente porque las partículas de condimento que no se disolvieron durante la formulación y que interactúan con las proteínas, refuerzan la película e imponen rigidez a la matriz proteica.

Considerando que el condimento utilizado en este trabajo posee curcumina como ingrediente principal, y sabiendo que este compuesto posee probadas propiedades antioxidantes y antimicrobianas, entre otras (10, 11, 12), se evaluó la capacidad antioxidante de las películas proteicas desarrolladas. En la Figura 2 se muestra que la actividad antioxidante de las películas se incrementó significativamente al aumentar la concentración de saborizante ($p < 0,05$). Las películas saborizadas de GB presentaron menor actividad antioxidante que las formuladas con proteínas de soja ($p < 0,05$), lo que sugiere que los compuestos de interés probablemente interactúen en mayor medida con la matriz de gelatina impidiendo su solubilización y/o inactivando su acción, o que la presencia del condimento facilite la liberación de los activos propios en soja y se manifieste un efecto sinérgico en estas muestras. Por otro lado es posible observar que las películas proteicas sin saborizante prácti-

camente no presentaron actividad antioxidante, aunque se conoce que los aislados proteicos de soja poseen isoflavonas (13). Sin embargo, en el presente trabajo, dichos compuestos están presentes en concentraciones menores que los límites de detección del método empleado.

En la Figura 3 se muestra para ambos sistemas proteicos, que el agregado de condimento a la formulación disminuyó la resistencia del termosellado ($p < 0,05$), lo que puede atribuirse a la mayor rugosidad superficial e incluso a la inhomogeneidad del material en presencia del saborizante. Las películas proteicas de soja presentaron falla de tipo adhesiva, es decir, las probetas termoselladas se separaron y quedaron enteras; mientras que las películas de gelatina se elongaban significativamente durante el ensayo y luego se generaba la ruptura de la probeta cerca del cierre o de la mordaza, sin producirse la ruptura del termosellado. El termosellado de las películas de APS con 4 % de saborizante se separó inmediatamente luego de comenzar el ensayo de tracción, por lo que no se pudieron recolectar datos para determinar su resistencia. Teniendo en cuenta que la aplicación deseada es la formación de bolsas, se priorizaron las propiedades mecánicas y la capacidad de termosellado para seleccionar la concentración de condimento más adecuada para proseguir con los ensayos, por lo que se siguió trabajando con las películas de soja y gelatina conteniendo 0 y 2 % de saborizante *curry*.

DESARROLLO DE BOLSAS PROTEICAS PARA COCCIÓN DE CARNES

Las bolsas para cocción se prepararon por termosellado de las películas proteicas y la carne se introdujo en la bolsa con la precaución de que no se pegara a la película hasta que no se encontrara en la posición deseada. Se seleccionaron como tiempos óptimos de cocción del pollo 3 y 10 minutos para los procesos realizados en horno microondas (a 500 W) y convencional (a 180 °C) respectivamente (para las muestras utilizadas en este ensayo), ya que en esas condiciones la carne se cocinó completamente quedando “a punto”, como se ilustra en la Figura 4.

Las bolsas realizadas con películas de soja aditivadas con 2 % de *curry*, resistieron satisfactoriamente los tratamientos de cocción en horno convencional y microondas, mientras que las preparadas con películas de gelatina con similar formulación, se desintegraron durante la cocción. Estas diferencias pueden atribuirse a la mayor sensibilidad al agua de las películas de gelatina, que no les permitió mantener su integridad durante los procesos de cocción realizados.

5. CONCLUSIONES

- El agregado del saborizante *curry* a la formulación afectó significativamente la apariencia de las películas, aumentando su espesor, su coloración, su opacidad, y su rugosidad superficial; pero no modificó marcadamente su susceptibilidad al agua. Las partículas insolubles del condimento, actuaron como refuerzos para la matriz proteica, logrando mejorar la resistencia mecánica de las películas en detrimento de su elongación y su capacidad de termosellado.

- La adición de *curry* a la formulación activó a las películas con una importante actividad antioxidante, atribuida principalmente a la curcumina presente en el condimento, siendo esta actividad más importante en los sistemas proteicos de soja.

- Fue posible realizar bolsas proteicas de soja y gelatina saborizadas con 2 % de *curry* a partir de las películas desarrolladas por termosellado.

- Las bolsas obtenidas con películas de soja aditivadas con 2 % de *curry*, resistieron satisfactoriamente los tratamientos de cocción en horno convencional y microondas, mientras que las preparadas con películas de gelatina con similar formulación, se desintegraron durante la cocción debido a su mayor sensibilidad a la humedad.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

SIRACUSA V, Rocculi P, Romani S, Rossa MD. Biodegradable polymers for food packaging: a review. *Trends in Food Science & Technology* 2008; 19:634–43.

ZHAO R, Torley P, Halley PJ. (2008) Emerging biodegradable materials: starch- and protein-based bionanocomposites. *Journal of Materials Science*; 43:3058–71.

GENNADIOS, A. (2002). *Protein-based films and coatings*. CRC Press. USA.

MAURI, A.N.; Añon, M.C. (2012). "Proteínas como envases alimentarios". En "Películas y Recubrimientos Comestibles: Propiedades y aplicaciones en alimentos", editado por Olivas, G.I., Soliva-Fortuní, R., Martín-Belloso, O. y González-Aguilar, G. Editorial Trillas, México. En Prensa.

DAINELLI, D.; Gotard, N.; Spyropoulos, D.; Zondervan-van den Beuken, E.; Tobback, P. 2008. *Trends in Food Science & Technology*. 19, S103-S112.

AGGARWAL, B.B., Kumar, A., Aggarwal, M.S. and Shishodia, S. (2005). Curcumin derived from turmeric (*Curcuma longa*): a spice for all seasons. In: *Phytopharmaceuticals in Cancer Chemoprevention* (edited by H. Press). Pp. 349-387. Boca Raton: CRC Press.

- SALGADO, P. R. (2009). Proteínas de Girasol: aislamiento, caracterización y aplicación en la industria alimentaria. Tesis Doctoral (UNLP, Argentina).
- ASTM. (2004). Annual book of ASTM standards; ASTM International: Philadelphia, PA, USA.
- LÓPEZ, O. V.; García, M. A.; Zaritzky, N. E. (2011). Desarrollo, caracterización y aplicación de envases biodegradables a partir de almidón.
- TÖNNESEN HH, de Vries H, Karlsen J, van Henegouwen GB. (1987). Studies on curcumin and curcuminoids IX: investigation of the photobiological activity of curcumin using bacterial indicator systems. *J Pharmaceu Sci*, 76: 371-373.
- Benerjee A, Nigam SS. (1978). Antimicrobial efficacy of the essential oil of *Curcuma longa*. *Ind J Med Res*, 68: 864-866.
- TODA S. (1985). Natural antioxidants IR. Antioxidative components isolated from rhizome of *Curcuma longa* L. *Chem Pharm Bull*, 33: 1725-1728.
- SPERONI F, Milesi V, Añón MC. (2010). Interactions between isoflavones and soybean proteins: Applications in soybean protein isolate production. *LWT*, 43: 1265-1270.

7. TABLAS Y FIGURAS

TABLA 1. Tensión a la rotura (σ_r), elongación a la rotura (e) y Módulo de Young (E) de las películas proteicas de soja y gelatina con distintas concentraciones de saborizante *curry* (0, 2 y 4 g/100 g de fuente proteica).

Muestra	Curry (%)	σ_r (MPa)	e (%)	E (MPa)
APS	0	5,24 ± 0,59 ^a	57,31 ± 18,26 ^c	1,95 ± 0,35 ^a
APS	2	5,93 ± 1,29 ^a	11,28 ± 3,44 ^b	2,78 ± 0,56 ^b
APS	4	5,66 ± 1,19 ^a	2,84 ± 0,7 ^a	3,54 ± 0,58 ^c
GB	0	1,91 ± 0,64 ^A	229,32 ± 68,97 ^C	0,02 ± 0,01 ^A
GB	2	1,61 ± 0,45 ^A	114,12 ± 14,47 ^B	0,03 ± 0,01 ^A
GB	4	1,54 ± 0,2 ^A	29,66 ± 22,38 ^A	0,14 ± 0,03 ^B

En columnas, los valores con distintas letras son significativamente diferentes ($p < 0,05$) según el test de Tukey. Letras minúsculas informan diferencias entre películas de soja, y mayúsculas entre películas de gelatina.

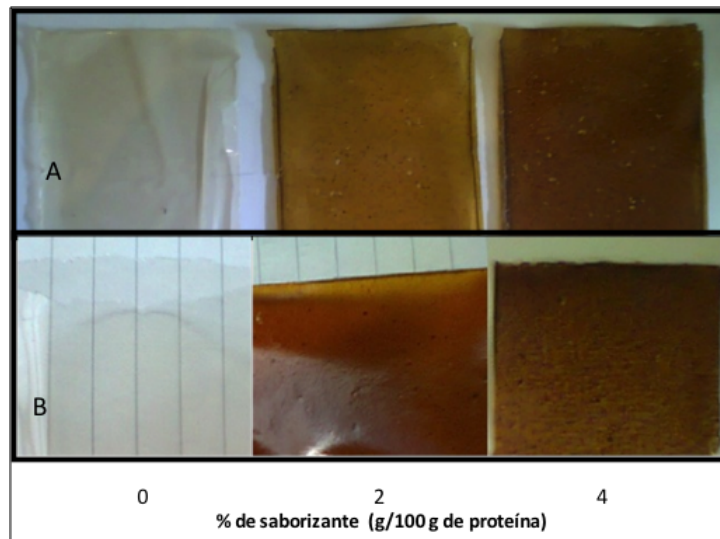


FIGURA 1. Películas de proteínas de soja (**A**) y de gelatina (**B**) con distintas concentraciones de saborizante *curry* (0, 2 y 4 g/100 g de fuente proteica).

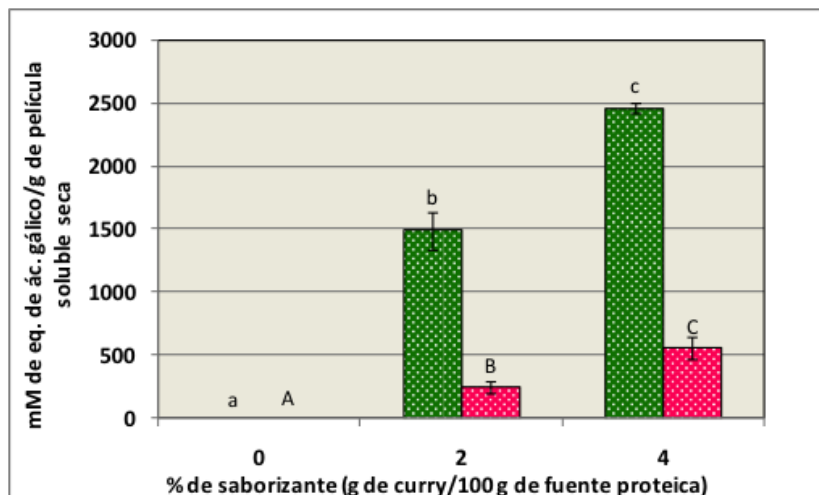


FIGURA 2. Actividad antioxidante de las películas proteicas de soja (■) y gelatina (■) con distintas concentraciones de saborizante *curry* (0, 2 y 4 g/100 g de fuente proteica). Los valores con distintas letras son significativamente diferentes ($p < 0,05$) según el test de Tukey. Letras minúsculas informan diferencias entre películas de soja, y mayúsculas entre películas de gelatina.

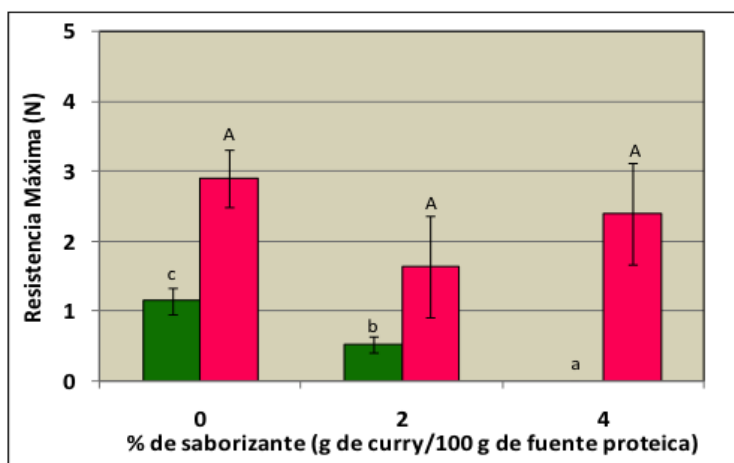


FIGURA 3. Resistencia máxima del termosellado de las películas proteicas de soja (■) y gelatina (■) con distintas concentraciones de saborizante *curry* (0, 2 y 4 g/100 g de fuente proteica).

Los valores con distintas letras son significativamente diferentes ($p < 0,05$) según el test de Tukey. Letras minúsculas informan diferencias entre películas de soja, y mayúsculas entre películas de gelatina.

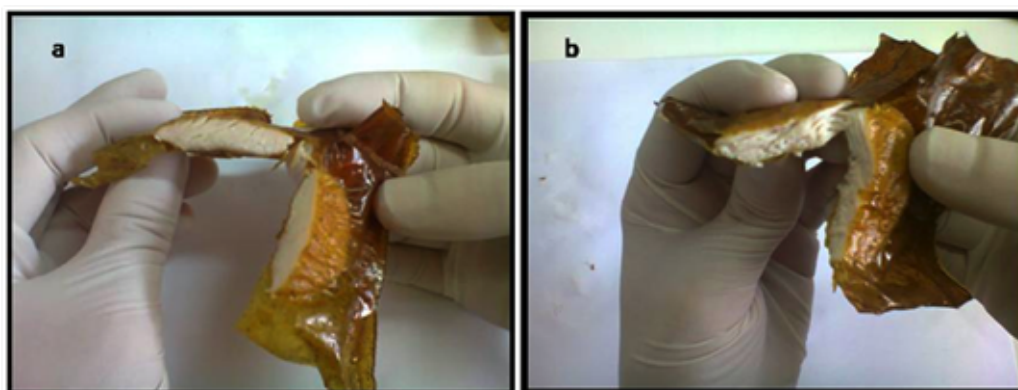


FIGURA 4. Condiciones seleccionadas para la cocción del pollo en las bolsas proteicas de soja aditivadas con 2 % de *curry* **a)** 3 minutos en horno microondas (500 W) y **b)** 10 minutos en horno convencional (180 °C).

OBTENCIÓN DE VINAGRE A PARTIR DE HIGOS PRODUCIDOS EN LA ZONA CENTRAL DE SANTA FE

Daniel Alberto Alsina¹, Isabel Nescier¹, Zulma Santini¹, Norberto Gariglio¹, Lisandro Lozano¹, Hugo Cives²

1. RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue elaborar y caracterizar mínimamente vinagre obtenido a partir de higos cultivados en la zona central de Santa Fe. De un total de 50 árboles se tomaron por triplicado higos en forma aleatorizada durante el período enero-febrero. Las frutas se recolectaron en forma manual, se lavaron dos veces con agua potable, se transportaron y mantuvieron refrigeradas a (4 °C) hasta su procesamiento.

El vinagre se obtuvo por fermentación alcohólica y acética. En el mismo se analizaron por triplicado en el Laboratorio, pH por potenciometría y acidez por titulación con NaOH 0,1 N valorado. El rendimiento porcentual se determinó como el cociente entre el volumen de vinagre obtenido y el volumen de mosto inicial por cien. Luego se sometió a una prueba de degustación con un panel de 50 degustadores constituido por profesores y estudiantes. A cada uno se le entregó una muestra de 5.0 mL de vinagre de higo y una planilla elaborada al efecto. Se utilizó una escala hedónica de nueve puntos (1 = extremadamente desagradable; 9 = extremadamente agradable) para examinar los atributos color, aroma, sabor y una pregunta sobre la aceptación final del producto. La acidez medida resultó $5,80 \pm 0,04$ g de ácido acético en 100 mL de solución; el pH = $3,30 \pm 0,02$ y se obtuvo un rendimiento del $60,00 \pm 0,18$ %.

En cuanto a la degustación, el panel ponderó en forma positiva al color (7.1), el sabor (7.0) y aroma (7.0). Es de destacar que el 95.0 % de los degustadores lo evaluaron como agradable, hecho que lo transforma en un producto de alto valor agregado, considerándolo como “delicatessen”.

CONTACTO: Daniel Alsina dalsina@fca.unl.edu.ar

1. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe. Argentina.

2. Facultad de Ciencias de la Alimentación. Universidad Nacional de Entre Ríos. Entre Ríos. Argentina.

2. INTRODUCCIÓN

El higo (*Ficus carica* L.) árbol caducifolio de la familia Moracea, fue uno de los primeros árboles que se cultivó en el mundo y su fruto es importante tanto para consumo en fresco como seco. Contiene compuestos antioxidantes como fenoles, antocianinas, ácidos orgánicos, vitamina E y carotenoides los que inhiben los mecanismos oxidativos que pueden llevar a enfermedades degenerativas. Los compuestos fenólicos son importantes por el color, flavor, aroma de las frutas frescas y pueden además de su rol antioxidante, tener actividad anticarcinogénica, antiinflamatoria o antimicrobiana (Dueñas, 2008; Veberic, 2008; Oguzhan, 2011; Vallejo, 2012; Ubeda, 2013).

El 70 % de la producción mundial lo aportan los países mediterráneos.

Actualmente el mercado de bebidas está girando hacia la diversificación de los productos tradicionales, con propiedades sensoriales diferentes, mejoradas y si además presentan propiedades funcionales, resultan un incentivo para aumentar su consumo por parte de los consumidores. Algunos productos provienen de frutas que contienen sustancias saludables (Cejudo-Bastante, 2013).

El vinagre se ha usado ampliamente en la industria de los alimentos y su demanda global se ha incrementado significativamente en los últimos 10 años (Zhengliang, 2014).

Zou, (2012) destaca que China tiene la historia de más de 5000 años de producirlo y lo define como un líquido para el consumo humano que contiene una cantidad específica de ácido acético.

El vinagre se obtiene por dos procedimientos bioquímicos y ambos son el resultado de la acción de microorganismos. Durante el primer proceso se produce la fermentación alcohólica, los fermentos transforman el azúcar en alcohol en condiciones anaerobias con cultivos de levaduras para obtener (una solución alcohólica), vino y dióxido de carbono gaseoso. En el segundo proceso, se produce la conversión estequiométrica de etanol con oxígeno a ácido acético y agua mediante bacterias ácido acéticas en condiciones aerobias (Zhengliang, 2014).

El objetivo de este trabajo fue elaborar y caracterizar mínimamente vinagre obtenido a partir de higos cultivados en la zona central de Santa Fe, con el propósito de brindar otras alternativas productivas a los pequeños productores frutihortícolas de la zona de Santa Fe.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

MATERIA PRIMA

De un total de 50 árboles se tomaron por triplicado higos en forma aleatorizada durante el período enero-febrero. Las frutas se recolectaron en forma manual, se lavaron dos veces con agua potable, se transportaron y mantuvieron refrigeradas a (4 °C) hasta su procesamiento.

Los frutos provenían de la Finca Cecilia, de la localidad Arroyo Aguiar, Departamento La Capital de la Provincia de Santa Fe.

PROCESO DE FERMENTACIÓN

Se procedió de la siguiente manera; se trituraron con una procesadora hasta una consistencia de pasta de higo espesa, de color marrón. Se le añadió un 10 % de agua mineral y un 5 % de azúcar de maíz, cerelose. Para preparar el mosto, se añadió 1,0 g de metabisulfito de potasio para eliminar los microorganismos de los frutos y se lo dejó actuar durante 24 h. Se procedió a sembrar las levaduras para generar el vino de higo. Para activarlas se tomó una alícuota de mosto, agua mineral a 30 °C y cerelose y se dejó reposar durante veinte minutos para posteriormente añadirlo al mosto restante para que comience su fermentación. Ésta se desarrolló durante siete días, a una temperatura de 30 °C, hasta la inactivación de las levaduras. Se dejó reposar hasta que el líquido se clarificó. Se filtró a través de una malla filtrante con gasa y se obtuvo el vino.

Posteriormente se procedió al sembrado de bacterias en condiciones de producir la fermentación ácido acética, la misma se realizó a una temperatura de 35 °C.

Se filtró nuevamente, se dejó reposar, envasó en los recipientes y se los pasteurizó a baño maría a 100 °C durante 1 minuto. Luego se dejó enfriar y se llevó al Laboratorio de Química Agrícola de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional del Litoral para su posterior análisis.

ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS

El pH se determinó por potenciometría con peachímetro ORION modelo (420A) y la acidez por titulometría ácido base utilizando como titulante NaOH 0,1N valorado con fenolfataleína como indicador visual.

Mientras que el rendimiento porcentual se estimó como el cociente entre el volumen de vinagre obtenido y el volumen de mosto inicial por cien. Todas las determinaciones se hicieron por triplicado.

ANÁLISIS SENSORIAL

El vinagre obtenido se sometió a una prueba de degustación con un grupo de 50 degustadores constituido por profesores y estudiantes, en su mayoría consumidores habituales de vinagre. A cada uno se le entregó una muestra de 5,0 mL de vinagre de higo y una planilla con preguntas introductorias sobre los hábitos de consumo del producto y una final sobre si lo consideraban “Delicatessen”: Si= 1, No= 0.

Para su evaluación se utilizó una escala estructurada hedónica de nueve puntos (1 = extremadamente desagradable y 9 = extremadamente agradable) (Sancho, 2002); los atributos estudiados fueron color, aroma, sabor y aceptación final del producto. La prueba se realizó a 20 °C.

Los resultados fueron analizados utilizando Statgraphics Centurion XVI.I Shareware.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores de acidez y pH quedan expresados en la Tabla 1. El Código Alimentario Argentino establece en su Artículo 1334 que la acidez del vinagre no debe ser inferior al 5,0 % m/V (g ác. acético/ 100 mL solución), los valores obtenidos responden a dicha norma. Además se obtuvo un rendimiento del $60,00 \pm 0,18$ %. En la degustación, del panel de degustadores el 64 % tenía entre 18 y 30 años, el resto estaba comprendido entre 31 y 69 años. En cuanto a la frecuencia de consumo, la mayoría (69,6 %) consumía vinagre diariamente, el 25 % lo hacía una vez por semana y sólo el 5,4 % no lo consumía.

Los resultados de los parámetros estadísticos de los atributos evaluados del vinagre se presentan en la Tabla 2.

En la Figura 1 se pueden observar los resultados del análisis sensorial. Además es de destacar que el 95,0 % de los degustadores lo evaluó como “delicatessen”.

5. CONCLUSIONES

Teniendo en cuenta que los resultados de los parámetros fisicoquímicos se encontraron dentro de las normas que establece el Código Alimentario Argentino y las ponderaciones positivas del panel de degustadores sobre los atributos y la aceptación global, se concluye que el vinagre elaborado es un producto de alto valor agregado, considerado como “delicatessen”.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CEJUDO-BASTANTE, M.J.; Durán, E.; Castro, R.; Rodríguez-Dodero, M.C. 2013. *LWT - Food Science and Technology* 50: 469-479.
- DE LA CANAL Y ASOCIADOS SRL. 2013. Código Alimentario Argentino Actualizado (CAA), Buenos Aires Argentina.
- DUEÑAS, M.; Pérez-Alonso, J.J.; Santos-Buelga, C.; Escribano-Bailón, T. 2008. Anthocyanin composition in fig (*Ficus carica* L.). *Journal of Food Composition and Analysis* 21: 107–115.
- OGUZHAN, C.; Polat A.A.; 2011. Phytochemical and antioxidant properties of selected fig (*Ficus carica* L.) accessions from the eastern Mediterranean region of Turkey. *Scientia Horticulturae* 128: 473–478.
- SANCHO, J.; Bota, E.; de Castro, J.J. 2002. Introducción al análisis sensorial de los alimentos. Alfaomega. México. 129 pp.
- UBEDA, C.; Callejón, R.M.; Hidalgo, C.; Torija, M.J.; Troncoso, A.M.; Morales, M.L. 2013. *LWT - Food Science and Technology* 52: 139-145.
- VALLEJO F.; Marín, J.G.; Tomás-Barberán F.A. 2012. Phenolic compound content of fresh and dried figs (*Ficus carica* L.). *Food Chemistry*. 130: 485–492.
- VEBERIC, R.; Colaric, M.; Stampar, F. 2008. Phenolic acids and flavonoids of fig fruit (*Ficus carica* L.) in the northern Mediterranean region. *Food Chemistry*. 106: 153–157.
- ZHENGLIANG, Qi.; Hailin, Y.; Xiaole, X.; Wu ,Q.; Wu, W.; Xiaobin, Y. 2014. Achieving high strength vinegar fermentation via regulating celular growth status and aeration strategy. *Process Biochemistry*. 49:7, 1063-1070.
- ZOU, X.B.; Li, Y.X.; Shi, J.Y.; Huang, X.; Zhao, J. W. 2012. Traditional Vinegars Identification by Colorimetric Sensor. 2nd International Conference on Bio-Sensing Technology. *Procedia Chemistry* 6: 20 – 26.

7. TABLAS Y FIGURAS

TABLA 1. Parámetros fisicoquímicos de vinagre de higo.

MUESTRAS VINAGRE	pH	Acidez (*)
	3,30 ± 0,02	5,80 ± 0,04

(*) g de ácido acético en 100 mL de solución.

TABLA 2. Parámetros estadísticos de los atributos del vinagre de higo.

Parámetro	X	DS	CV%	Min	Max
Color	7,18	1,11	15,51	3	9
Aroma	7,04	1,33	18,97	4	9
Sabor	7,02	1,65	23,45	2	9
Aceptación global	7,36	0,83	11,28	3	9
Delicatessen	0,95	0,23	24,00	0	1

X: media; DS: desviación estándar; CV%: coeficiente de variación porcentual; Min: mínimo;

Max: máximo.

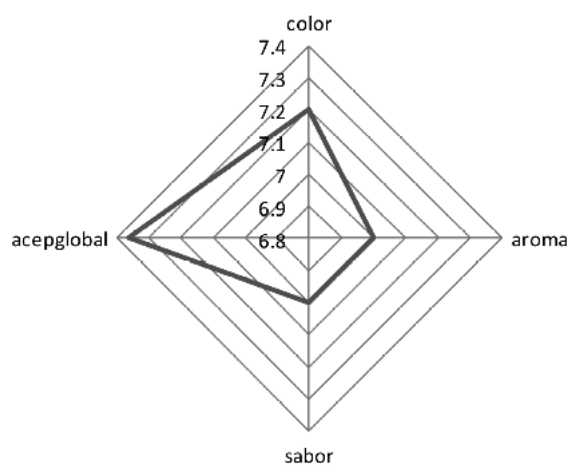


FIGURA 1. Valores medios de los atributos evaluados.

DESARROLLO DE UN QUESO UNTABLE FUNCIONAL CON AGREGADO DE CHÍA

Ma. Florencia Galván¹, Sandra M. S. Lazzaroni², Yanina L. Pavón², Natalia Bortolotto³,
Silvia C. Costa⁴, Víctor Rozycki⁴, Sergio D. Rozycki⁴

1. RESUMEN

El objetivo fue desarrollar un Queso Untable Funcional (QUF), probiótico (*L. casei* = MOP), con colesterol reducido (> 90 %), reducido en grasas, fortificado con calcio y adicionado con harina de semillas de chía (HSC), que posee la cuarta parte en peso de ácidos grasos esenciales, $\omega 3$ y $\omega 6$. Se utilizó un diseño experimental factorial, con variables % de materia grasa (MG) del QUF (6, 8 y 10 %) y concentración de HSC agregada (1, 3 y 5 %). Se evaluaron sus principales características: fisicoquímicas, microbiológicas, sensoriales, reológicas/texturales y estabilidad (sinéresis) durante su vida útil (1 mes), y su aceptabilidad general con más de cien evaluadores no entrenados. El producto se comparó sensorialmente con un Queso similar del mercado Argentino, de primera marca.

A una Base Inicial concentrada en grasa se le extrajo el colesterol en condiciones tecnológicas optimizadas, y se agregó leche en polvo descremada (LPD), proteínas de suero (WPC 35), hidrocoloides (gelatina, espina corona y/o almidón modificado) y aditivos (sorbato de potasio, estabilizante, etc.), hasta concentración inicial de sólidos constante. Se agregó cuajo, fermento acidificante y el MOP, en concentraciones óptimas para producir una fermentación ácido-enzimática equilibrada

CONTACTO: Sergio D. Rozycki sdrozycki@hotmail.com

1. Tesinista Lic. Biotecnología, Fac. Bioqca y Cs. Biológicas (FBCB), Univ. Nac. Litoral (UNL), Sta Fe, Argentina.

2. CONICET - Área Lácteos, Inst. Tec. Alimentos (ITA), Fac. Ing. Química (FIQ-UNL), Santa Fe, Argentina.

3. Tesista Magister en Alimentos, Inst. Tec. Alimentos (ITA), FIQ-UNL, Santa Fe, Argentina.

4. Área Lácteos, Inst. Tec. Alimentos (ITA), Fac. Ing. Química (FIQ-UNL), Santa Fe, Argentina.

pero más rápida (6-8 hs) que la tradicional (14-16 hs) sin corte de la cuajada. La elevada a_w y mayor pH, permitió muy buena viabilidad del MOP, cuya concentración siempre fue superior a 10^7 UFC/g. Se obtuvo un producto no-newtoniano, de buena consistencia y viscosidad. Se observó una interacción sinérgica MG y HSC; la MG gobierna la consistencia, viscosidad, firmeza y tixotropía. La estabilidad fue excelente (sinéresis siempre $< 1\%$). El queso comercial tuvo mayor aceptación (80 %) que el QUF, resultando también adecuada para este último (cercana al 70 %), similar al queso control (sin HSC). Se obtuvieron modelos matemáticos descriptivos y predictivos del sistema en estudio.

Se logró desarrollar un alimento nutritivo, funcional y de buena aceptación, con un rendimiento cuatro veces mayor ya que la fermentación se logró en la mitad de tiempo utilizado industrialmente y se aprovechó el 100 % de la leche, evitándose el tratamiento de un efluente difícil y costoso (suero).

2. INTRODUCCIÓN

En los últimos años, han sido notorias las tendencias hacia los alimentos funcionales (AF). En ellos, algunos de sus componentes promueven un efecto fisiológico o psicológico más allá de su valor nutritivo tradicional, puede ser por contribución a la mantención de la salud y bienestar, o a la disminución del riesgo de enfermedad (Roberfroid, 2002).

Los alimentos con probióticos se caracterizan por contener microorganismos vivos que mejoran la salud y/o previenen enfermedades, para lo cual deben sobrevivir en el producto en cantidad suficiente durante su almacenamiento, sin afectar adversamente el sabor o aroma del producto. Los productos lácteos, son naturalmente alimentos con funcionalidad fisiológica. Los quesos, debido a la baja proporción de oxígeno disuelto en la matriz, el pH más elevado y el mayor porcentaje de materia grasa, respecto a una leche fermentada y, en el caso de los untables una mayor actividad acuosa, resultan un vehículo ideal para asegurar la viabilidad de los microorganismos probióticos durante su vida útil (Reinheimer y Zalazar, 2006).

El colesterol plasmático puede ser aumentado hasta un 20 % por la ingesta elevada de colesterol y de grasa saturada (Lee y col., 1999), produciéndose una mayor demanda de productos sin y/o con colesterol reducido, lo cual se ha logrado disminuyendo o extrayendo completamente la grasa láctea.

La disminución del tenor graso ocasiona problemas sensoriales y texturales que limitan la aceptación; en un queso conduce a una textura excesivamente firme (compacta y gomosa) y sabor no típico, ya que la grasa láctea está asociada con la firmeza, adhesividad, poder lubricante y opacidad (Reihnheimer y Zalazar, 2006). Además, existe evidencia acerca de que los AG saturados de cadena larga de la grasa láctea (C:12, C:18) serían no aterogénicos ni promotores de enfermedades cardiovasculares y coronarias, aportando determinados componentes que resultan beneficiosos, como el ácido butírico, el ácido linoléico conjugado (CLA), los lípidos polares y las vitaminas liposolubles (principalmente D) (Parodi, 2009). Por esto conviene remover el colesterol sin eliminar la grasa, siendo la extracción mediante acomplejamiento con β -ciclodextrina uno de los métodos más efectivos. El complejo formado es de estructura estable e insoluble, pudiendo removerse por centrifugación sin arrastrar compuestos liposolubles como la vitamina D (Lee y col., 1999).

Numerosos trabajos científicos informan sobre las ventajas nutricionales de las semillas de chía (*Salvia hispánica* L.) como fuente de ω -3 y antioxidantes, y la comercialización de productos que la incluyen, como yogures y quesos, está creciendo notablemente. La ingesta óptima de ω -3 (AG esencial, no sintetizado por el organismo) trae múltiples beneficios, que incluyen la reducción del riesgo cardiovascular, prevención de enfermedades del sistema nervioso y disminución de sintomatología de enfermedades inflamatorias. Se ha visto que las dietas con una relación alta P:S (AG poliinsaturados:saturados) reducen las concentraciones séricas de colesterol y se consideran benéficas en términos del riesgo de padecer enfermedad coronaria (Galván, 2014).

El objetivo fue desarrollar un Queso Untable (QU) funcional muy completo nutricionalmente, con colesterol reducido significativamente, enriquecido con harina de chía, excelente estabilidad y textura.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

DISEÑO ESTADÍSTICO EXPERIMENTAL

Se utilizó un diseño factorial $3^2 + 2$, estudiando las concentraciones porcentuales (% m/m) de Materia Grasa (MG: 6, 8 y 10 %), y de Harina de Semillas de Chía (HSC: 1 %, 3 % y 5 %). Se mantuvo un 20 % de sólidos lácteos constantes (con

leche entera) y, mediante el agregado de concentrado de proteínas de suero (35 % proteínas, WPC 35) y de leche en polvo descremada (LPD), se agregó harina de chíá según el diseño, manteniendo un 30 % de sólidos totales (%ST) finales constante (Tabla 1).

ELABORACIÓN EXPERIMENTAL DE QUESO UNTABLE

A partir de leche en polvo entera y crema se obtuvo una Base Inicial (BI) al 20 % de ST, que se pasteurizó (75 °C-15 seg) y se homogeneizó (Simes SA). Se agregó β -CD bajo agitación, y luego de la formación del complejo de inclusión, éste se eliminó por centrifugación. Sobre la BI con colesterol reducido se agregaron las otras materias primas exentas del mismo: WPC 35, LPD y HSC (según diseño), gelatina, espina corona y sorbato de potasio. Se trató a 75 °C-5 min., para hidratar y disolver los productos en polvo, se enfrió (50 °C) para agregar el calcio, y luego a 40 °C se agregó cuajo, cultivo iniciador y probiótico (*L. rhamnosus* SP1, MOP), realizando la fermentación controlada hasta pH = 5,2 ; luego se homogeneizó a baja presión, se enfrió rápidamente, envasó y almacenó a < 6 °C.

EVALUACIONES FISICOQUÍMICAS

Se cuantificó el colesterol mediante un método enzimático-colorimétrico sobre la BI antes y después del tratamiento con β CD, calculando el porcentaje de extracción (Colombatti, 2009).

La composición centesimal de los QU se determinó por metodología oficial AOAC (1995). La actividad acuosa (a_w) se cuantificó mediante el empleo del equipo Aqualab RS, a 25 °C.

Durante la vida útil (30 días), se determinaron periódicamente el pH y la acidez (método Dornic) (AOAC, 1995) y los índices de retención de agua (IRA) (sinéresis) por gravedad (IRAg) (condiciones similares a góndola) y por centrifugación (IRAc) en condiciones aceleradas sometiendo una muestra de 50 g. a 700 ges durante 20 min (Lazzaroni, 2014).

EVALUACIONES MICROBIOLÓGICAS

La determinación de viabilidad del microorganismo probiótico (*L. rhamnosus*) se realizó mediante un recuento en placa, selectivo y diferencial, mediante el empleo

del medio Bilis-MRS, por la técnica de Dilución Decimal Seriada (Vinderola y Reinheimer, 2000).

Evaluaciones de reometría destructiva (RD) y Análisis de Perfil de Textura (TPA)

Mediante reometría destructiva empleando un viscosímetro de cilindros concéntricos (RV2, HaakeMess - Technik, Alemania), las muestras termostatzadas (10 °C) se evaluaron periódicamente para determinar las variaciones en sus parámetros reológicos durante el almacenamiento.

RD en función del gradiente de deformación

Se obtuvieron los reogramas de esfuerzo de corte (τ) en función del gradiente de deformación ($D\dot{}$), ascendente primero (0 hasta 200 s^{-1}) y descendente después (200 a 0 s^{-1}). Se aplicó un modelo reológico y se estimaron los índices de consistencia superior (K^s) e inferior (K^i), de velocidad de decrecimiento de la viscosidad con el gradiente de deformación (m^s) y de comportamiento (n). El índice de tixotropía (IT) se evaluó a partir del área encerrada entre las curvas del reograma τ vs. $D\dot{}$. Se calculó el valor de viscosidad aparente ($\mu^a = \tau / D\dot{}$) a $D\dot{} = 50 s^{-1}$, similar al de una masticación normal, conocida como viscosidad de Kokini (Rozycki y Seguro, 1995; Lazzaroni, 2014).

RD en función del tiempo cizallamiento t (trabajo mecánico)

Se obtuvieron los reogramas de τ en función de t , a $D\dot{} = 50 s^{-1}$, y aplicando el Modelo de Weltmann, se determinó la resistencia máxima inicial del QU (A) y la velocidad de ruptura estructural (B) (Rozycki y Seguro, 1995).

Análisis del Perfil de Textura (TPA): Se realizó un análisis de doble penetración (profundidad de 30 mm, velocidad de 1 mm/s) a 10 °C (Instron Bluehill). Se determinaron los parámetros texturales: Dureza (Du), Cohesividad (Co); Adhesividad (Ad) y Gomosidad (Go) (Santini, 2007).

ENSAYOS DE ACEPTABILIDAD SENSORIAL

Se realizó a mediados de vida útil, con más de 100 evaluadores no entrenados, con edades entre 18 y 70 años. Las muestras a 10 °C fueron codificadas con números aleatorios de tres cifras. Se evaluó el grado de gusto general en una escala de 9 niveles, desde “me disgusta muchísimo” a “me gusta muchísimo” (Hough, 2009). El

QU adicionado con harina de chía (1 %), se comparó con un queso experimental sin chía (ambos fortificado en calcio) y un QU comercial de primera marca.

ANÁLISIS DE RESULTADOS

Se correlacionaron las respuestas medidas, fisicoquímicas y reométricas, con las variables de diseño, codificadas (X) (Tabla 2), a través de regresión múltiple con un polinomio de segundo grado, para describir y predecir el comportamiento del sistema. Se analizaron las superficies de respuestas y sus líneas de contorno (Design-Expert 7.0, 2005; Statistica 10; Myers y Montgomery, 1995).

$$R = \beta_0 + \beta^1 \cdot X^1 + \beta^2 \cdot X^2 + \beta^{11} \cdot X^{12} + \beta^{22} \cdot X^{22} + \beta^{12} \cdot X^1 \cdot X^2 \quad (\text{Ec. 1})$$

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CARACTERIZACIÓN FISICOQUÍMICA

El contenido de colesterol remanente de las BI, luego del tratamiento con β CD, fue $2,15 \pm 0,60$ mg% y el porcentaje de extracción superior al 93 %, independientemente del nivel de MG de la BI (Tabla 3). Los QU variaron su contenido proteico total (% PT) entre 5,86 % y 8,10 %; la grasa total (% G) entre 6,30 y 10,95 % y los minerales (% Ce) entre 1,27 y 1,74 % (Tabla 4). Los QU con 6 % G se clasifican como quesos blancos *magros* (CAA) por presentar, además de un contenido de humedad (% Hum) máximo del 77 %, un % G entre 10 y 19,9 % (en base seca). Además, todos pueden clasificarse como *reducidos en grasa*, por tener menos de la mitad del % de grasa normal del producto en el mercado.

La aw fue similar para todas las muestras, $0,969 \pm 0,006$, muy elevada, promoviendo una buena viabilidad de las bacterias lácticas iniciadoras, del MOP pero también de otros posibles organismos presentes (levaduras y hongos), debiéndose tener cuidado con la asepsia y conservación del producto.

El pH mostró una disminución estadísticamente significativa ($p < 0,05$) durante la vida útil, alcanzando valores finales de $4,44 \pm 0,05$, debido a la pos-acidificación y formación de ácido láctico (HLa) por el metabolismo de las bacterias ácido lácticas (BAL) del cultivo iniciador, viables aún en refrigeración (Rojas Castro y Col., 2007). Consecuentemente la concentración de HLa aumentó progresivamente,

desde $0,1156 \pm 0,0160$ mol/l (día 1) hasta $0,1585 \pm 0,0155$ mol/l (día 30). En ambos parámetros, variaciones de hasta un 10 % son aceptables en la medida en que no influyan negativamente sobre la calidad y aceptabilidad de los productos, pudiéndose usar reguladores de acidez para minimizarla.

El IRAg % tomó valores superiores a 99,84 % en todas las formulaciones y durante toda la vida útil del producto, mientras el IRAc % generalmente fue superior a 98,42 %. Considerando que el IRAc % en productos comerciales similares varía entre 85 y 100 % (Lazzaroni, 2014), la estabilidad del coágulo logrado fue muy buena, tanto en condiciones reales (góndola, IRAg), como aceleradas (IRAc).

Las variables de diseño no tuvieron influencia estadísticamente significativa sobre ningún parámetro.

RECUESTO DEL MICROORGANISMO PROBIÓTICO

El recuento de *L. rhamnosus* SP1 resultó siempre superior a 10^8 UFC/g durante la vida útil, garantizando la dosis mínima (10^6 - 10^7 UFC/g) de MOP requerida antes de ser consumido el alimento (Ashwell, 2004). La materia grasa y la harina de chíá no interfieren en la viabilidad del mismo.

CARACTERIZACIÓN REOLÓGICA

Todos los QU elaborados se comportaron como fluidos No Newtonianos con índices de comportamiento diferentes de 1 ($n \neq 1$), y tixotrópicos, ya que en todos los casos $n < 1$, observándose histéresis o área encerrada entre las curvas superior e inferior, la cual se relaciona directa y principalmente con los enlaces no covalentes presentes en la matriz alimenticia (puentes de hidrógeno, electrostáticos, hidrofóbicos, entre otros); por ende la viscosidad depende del D' (Figura 1). Por ser tixotrópicos su viscosidad disminuye al aumentar el gradiente de deformación y el tiempo de cizallamiento (acción mecánica). Se obtuvieron modelos predictivos y descriptivos que ajustaron adecuadamente los valores experimentales (Tabla 5).

Los valores de K_s y K_i se incrementaron a mayores contenidos de grasa láctea y chíá (Figura 2), al igual que la viscosidad aparente (μ_0) a $D' = 50 \text{ s}^{-1}$ (cP), resultando un producto con mayor consistencia y viscosidad, y con una estructura más firme. Sobre m_s , se observó que a mayor contenido graso mayor es la velocidad con que disminuye la viscosidad, ante un tratamiento mecánico, mientras que sobre IT se observó influencia directa de HSC, indicando su contribución a la tixotropía del producto.

Tanto A como B dependen directamente de la concentración de MG y HSC (Figura 2); a mayores concentraciones de c/variable se necesita un mayor esfuerzo de corte para comenzar a deformar la muestra y la velocidad de ruptura de su estructura es también mayor. Los productos lácteos fermentados con mayor consistencia, viscosidad y resistencia, son los que más rápido se destruye su estructura, debido a la presencia de hidrocoloides, que generan una estructura interna aparentemente fuerte, pero que se destruye más rápidamente ante una acción mecánica intensa (Lazzaroni, 2014).

Tanto sobre D_u como sobre A_d , se observó influencia directa de la MG y la HSC.

En el caso de A_d , al aumentar mayor es la fuerza necesaria para romper las fuerzas atractivas, es decir, para remover el material adherido a la boca durante el consumo de aquellos QU producidos con mayor contenido de MG y HSC. Por otro lado, C_o está influenciada inversamente por las variables de estudio, principalmente por HSC. En resumen, a mayores niveles de MG y HSC, más duro y adhesivo, y menos cohesivo, resultaron los QU. La G_o fue gobernada por la dureza.

En general se observó una influencia directa de MG y de HSC, siendo la de MG levemente superior en la mayoría de los casos. Cuando la interacción entre variables fue significativa, la misma resultó directa, observándose un efecto sinérgico entre la MG y HSC sobre algunos parámetros.

Estos parámetros reológicos y texturales son relevantes para el diseño y cálculo de bombas, sistemas de agitación y transporte, selección del proceso y las características sensoriales del producto final.

ENSAYO DE ACEPTABILIDAD SENSORIAL

Se observó que los QU experimentales mostraron una aceptabilidad positiva (70 %), algo inferior al comercial, QUC (90 %) (Figura 3). El nivel de aceptabilidad global medio resultó de 6,02 para QU1 y 6,06 para QU2 y 7,25 para QUC.

5. CONCLUSIONES

Se obtuvo un Queso Untable Funcional con colesterol reducido en más del 90 %, reducido en grasas y de muy alta actividad acuosa. El producto se elaboró sin desuero, aumentando el rendimiento al doble y evitando el manejo del efluente, com-

plicado y costoso. La producción se duplicó debido al logro de una fermentación aproximadamente en la mitad de tiempo que el proceso normal.

Se observó una muy alta estabilidad del gel, con sinéresis casi nula durante el almacenamiento.

Los parámetros de flujo y tixotropía mostraron un producto de comportamiento no-newtoniano, dependiente de la acción mecánica (velocidad y tiempo). Los parámetros reológicos y texturales resultaron influenciados en forma directa por el contenido de MG, HSC y su interacción, logrando un producto con muy buena puntuación de los mismos.

El ensayo de aceptabilidad permitió determinar la puntuación positiva de los quesos experimentales con contenido de colesterol reducido, adicionados con probióticos y con HSC, y fortificados con calcio, mostrando que la adición de harina de semillas de chía en éste tipo de productos es factible. Se logró un alimento nutritivo, funcionalidad y saludable, y de buena aceptación sensorial y textural.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASHWELL, M. 2004. Conceptos sobre los alimentos funcionales. ILSI Europe concise monograph series. Int. Life Sciences Institute. Bélgica. ISBN 1-57881-157-0.
- COLOMBATTI, Francisco. 2009. Optimización de las condiciones de extracción de colesterol de la leche mediante el uso de β -ciclodextrina. Tesis de Grado. FBCB, UNL.
- GALVÁN, Ma. Florencia. 2014. Tesina de grado: Obtención de un Queso Untable Funcional adicionado con Chía (*Salvia hispánica* L.). FBCB, UNL. Argentina.
- HOUGH, Guillermo. 2009. Curso Taller de Evaluación Sensorial de Alimentos. ISETA. Argentina.
- LAZZARONI, Sandra. 2014. Tesis Doctoral: Desarrollo de Quesos Probióticos de Alta actividad de agua, reducidos en grasas y Colesterol. FIQ, UNL. Argentina.
- LEE, D.K.; Ahn, J. and Kwak, H.S. 1999. Cholesterol oval from Homogenized Milk with beta-cyclodextrin. J. Dairy Sci., 82 (11), 2327-2330.
- MYERS, R. H. and Montgomery, D. C. 1995. Response Surface Methodology. Process and Product optimization using designed experiments. J. John Wiley & Sons, Inc. (Ed.). New York, EEUU.
- OFFICIAL methods of analysis of AOAC International. 1995.16ta. Ed. Vol. II. Virginia, EEUU.
- PARODI PW. 2009. Has the association between saturated fatty acids, serum cholesterol and coronary heart disease been over emphasized? (Review article) International Dairy Journal. Elsevier Ltd.

- REINHEIMER, J. y Zalazar, C. 2006. Avances en Microbiología, Bioquímica y Tecnología de los quesos. Ediciones UNL. Secretaria de Extensión, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina.
- ROBERFROID. B. 2002. Functional foods: concepts and application to inulin and oligofructose. *British Journal of Nutrition*, 87, Suppl. 2, S139–S143.
- ROJAS Castro, W. N., Chacón Villalobos, A. y Pineda Castro, M. L. 2007. Características del yogurt batido de fresa derivadas de diferentes proporciones de leche de vaca y cabra. *Agro-nomía Mesoamericana*, 18(2), 221-237.
- ROZYCKI, S. y Seguro, E. 1995. Yogur: Cuantificación e influencia de los parámetros reológicos. *Revista argentina de Lactología* 11, 39-57.
- SANTINI, Z.G; Alsina, D. A; Athaus, R.; Meinardi, C.; Freyre, M.; Díaz, J. R. y González, C. 2007. Evaluación de la Textura en Quesos de Oveja. Aplicaciones del Análisis Factorial Discriminante. *Rev FAVE- Ciencias Agrarias* 5/6 (1-2):7-14.
- VINDEROLA, C. G. y Reinheimer, J. A. 2000. Enumeration of *Lactobacillus casei* in the presence of *L. acidophilus*, bifidobacteria and lactic starter in fermented dairy products. *International Dairy Journal*. Vol. 10(4), pp. 271-275.

7. TABLAS Y FIGURAS

TABLA 1. Formulaciones de las experiencias de diseño.

% LPE + Crema	% HSC	%WPC 35	%LPD	%ST
20	1	4,5	4,5	30
20	3	3,5	3,5	30
20	5	2,5	2,5	30

TABLA 2. Niveles de MG y CH (% m/m), reales y codificados.

Experiencia	MG	HSC	X1(MG cod.)	X2 (HSC cod.)
1	6	1	-1	-1
2	6	3	-1	0
3	6	5	-1	+1
4	8	1	0	-1
5 ^c	8	3	0	0
6	8	5	0	+1
7	10	1	+1	-1
8	10	3	+1	0
9	10	5	+1	+1

^cExperiencia central

TABLA 3. Contenidos y porcentaje de extracción de colesterol (% EC)

% MG	% mg Col. Inicial	% mg Col. Final	% EC
6	25,66±0,06	1,66±0,04	93,53±0,13
10	40,37±3,83	2,66±0,20	93,38±0,13

TABLA 4. Composición química media (% m/m) para los diferentes puntos del diseño.

Muestra N°	%Ce	%G	%P	%HC	%ST	%Hum.
1	1,74	6,30	8,10	13,72	29,86	70,14
2	1,79	6,67	7,82	12,56	28,84	71,16
3	1,69	6,82	6,85	14,02	29,37	70,63
4	1,64	8,40	7,24	11,28	28,56	71,44
5	1,55	8,69	7,02	11,53	28,80	71,20
6	1,54	8,89	6,75	11,68	28,85	71,15
7	1,42	10,11	6,53	10,80	28,86	71,14
8	1,33	10,69	6,22	11,22	29,46	70,54
9	1,27	10,95	5,86	11,11	29,19	70,81

TABLA 5. Modelos matemáticos para los indicadores reométricos y texturales, y sus parámetros estadísticos.

Respuesta	β_0	B^{MG}	B^{HSC}	B^{MG*MG}	$B^{HSC*HSC}$	B^{MG*HSC}	R^2	p	F
$K^{s 15}$	116,66	47,16	36,69			28,65	0,9072	0,0017	19,55
$m^{s 15}$	1,03	0,064		0,041			0,8335	0,0019	17,51
$\mu^a 15$	1806,17	366,61	494,11				0,8391	0,0017	18,25
$K^i 15$	30,09	16,16	9,30		-18,83	11,69	0,8501	0,0272	7,70
IT^{15}	2981,99		654,76		3600,44		0,7193	0,0117	8,97
A^{15}	1,60	0,52	0,19		0,53		0,7270	0,0397	5,33
B^{15}	0,19	0,047	0,025				0,9417	<0,0001	57,57
Du^{15}	0,34	0,11	0,029		0,042	0,018	0,9845	0,0001	79,63
Ad^{15}	4,65	2,24	1,18			1,07	0,9747	<0,0001	77,08
Co^{15}	0,63	-0,015	-0,020	0,060	-0,065		0,8164	0,0439	5,56

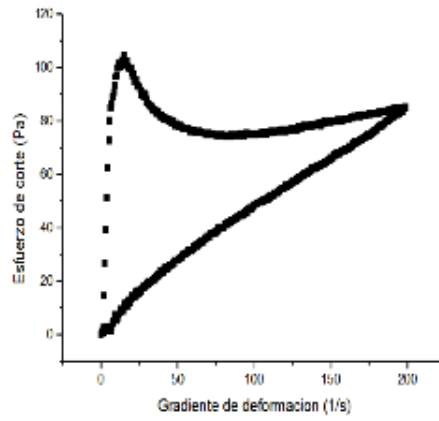


FIGURA 1. Reograma τ vs δ , Exp. 9.

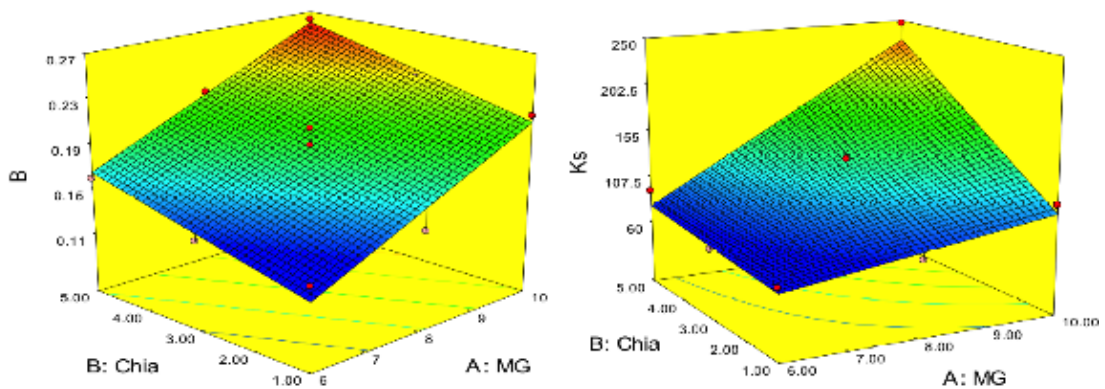


FIGURA 2. Índice de Consistencia (K_s) y Coeficiente de Ruptura Estructural (B), en función de % MG y HSC.

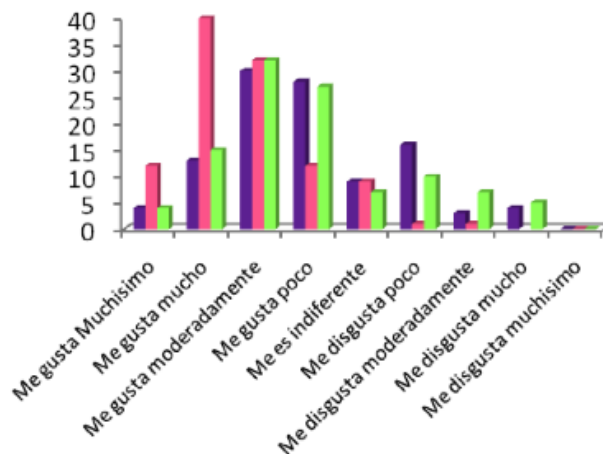


FIGURA 3. Aceptabilidad (%) por grado de gusto.

Queso comercial (rosa); Queso experimental fortificado con calcio (violeta) y Queso adicionado con chía (verde).

BEET ROOT AS POTENTIAL INGREDIENT FOR FUNCTIONAL FOODS DEVELOPMENT

Sonia Paula Fuertes¹, Alba Sofía Navarro^{1,2}

1. ABSTRACT

The objective of this work was to develop cereal bars with beetroot (*Beta vulgaris* L var. *conditiva*) as a functional ingredient. Beet bars were obtained mixing dried ingredients (whole oat, corn crips and grated beet) and sugar matrix (glucose and honey), then the mix was spread in an aluminum plate, moulded and baked. Control bars (without beet) were obtained with the same procedure. Water activity, moisture content, color and texture of the formulated snack bars were analyzed. Active compounds of beetroot and bars samples, betalains and polyphenols, were also determined. Beet bars showed lower values of water activity (0.35) than those obtained for the control bars (0.41), indicating good microbiological stability of the formulated product. Moisture content values of 9.2 % for beet bars were obtained, similar to those found in control samples (7.7 %). Beet bars showed lower L and higher a* values compared to control bars, due to the redness of beetroot. Similar b* values were obtained for both, control and beet bars, denoting yellowness in the color of samples. Texture profile analysis and a three-point bending test were applied to the snack bars. Fracture stress, elastic modulus and fracture energy values were higher for the beet bars compared to the control, showing that beet incorporation modified the texture of the bars. With regard to the active compounds, high contents of betalains (> 95 %) were retained in the beet bars after baking. Beetroot addition increased the polyphenol content of the final product compared to the control, improving its nutritional profile. Beet bars had a good acceptance level

CONTACTO: Alba Sofía Navarro albanavarro@yahoo.com.ar

1. Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecología de Alimentos (CIDCA), CONICET, Fac. Cs. Exactas (UNLP), La Plata, Argentina.

2. Facultad Ingeniería (UNLP), La Plata, Argentina.

(68 %) when were evaluated by an unentrained sensorial panel, showing that this product could be consumed as a healthy snack.

2. INTRODUCTION

Consumer's trend for natural and healthy foods demands for new products or existing ones with improved nutritional characteristics. Snack products, like cereal bars, are popular foods that could be modified in their composition to enhance their nutritional profile. An alternative could be the incorporation of vegetables in the formulation due to their health-promoting properties. The presence of vitamins, minerals, dietary fiber and polyphenols in the vegetables composition contributes to a healthy diet and may reduce the risk of chronic diseases.

Bar formulations often includes fruits in several formats (pieces, puree or powder) and their color and taste are preferred by consumers, especially children (Orrego *et al.*, 2014). However, consumption of vegetables is not as popular as fruits especially in snack products. In the present work, beetroot (*Beta vulgaris L var. conditiva*) is proposed as a functional ingredient for cereal bars due to its nutritional properties and attractive color.

Beetroot is a rich source of polyphenolic compounds and contains pigments called betalains, which are composed of red-violet betacyanins and yellow betaxanthins (Kujala *et al.*, 2002). The antioxidant properties of these compounds could be altered during beetroot processing (Ravichandran *et al.*, 2013), leading to loses in color and nutritional components. The objective of this work was to develop cereal bars with beetroot, to characterize their physico-chemical and texture properties and to evaluate their sensorial characteristics.

3. MATERIALS AND METHODS

Fresh beetroots were purchased in a local market and then were washed, peeled and grated. Samples were then vacuum dried in an oven (Arcano, China) connected to a vacuum pump PC 511 NT (Vacuubrand, Germany). Operation conditions for drying were 70 °C and 50 mBar (AOAC 934.01 method, AOAC, 2000).

Beet bars were obtained mixing cereals (whole oat, corn crips, 50:50), dried beet (4 % w/w) and sugar matrix (glucose:honey 70:30 w/w, respectively, previously

heated at 85-90 °C). The mix was homogenized during 5-10 min, then it was spread in an aluminum plate and oven at 130 °C for 30 min in a convection oven (Hitachi HTO-23, Argentina). The batch was allowed to cool at room temperature and cut with a stainless matrix to obtain the cereal bars (3cm ×10cm × 1cm). Control bars (without beet) were obtained with the same procedure. All bars were stored at room temperature in hermetic plastic bags until analysis.

WATER ACTIVITY AND MOISTURE CONTENT

The water activity (a_w) of the bars was measured in triplicate in an Aqualab equipment (Series 3TE, USA) according to AOAC 978.18 method (AOAC, 2000). Bars samples ($2 \pm 0,1$ g) were put in aluminum trays and dried in a convection oven (H701P, San Jor, Argentina) at 105 °C (± 1 °C) until constant weight (AOAC 984.25 method, AOAC, 2000). Measurements were made by triplicate.

SUPERFICIAL COLOR MEASUREMENT

Superficial color of bar samples was determined in a tristimuli colorimeter (Chroma meter CR-300, Minolta, Japan). Hunter $L^*a^*b^*$ (L: luminosity; a^* : red-green and b^* : yellow-blue), Chroma and Hue from CIE scale were acquired by triplicate.

ACTIVE COMPOUNDS DETERMINATION

The pigments of beetroot and bars samples were extracted with water and water:ethanol (50:50), at 25 °C during 30 min with agitation. *Betalains* (*betacyanins* and *betaxanthins*) content was determined in the aqueous extract using a spectrophotometer (Shimadzu, UV-mini 1240, Japan) at 538 nm and 480 nm, according to Ravichandran *et al.* (2013). The absorbance reading obtained was used to calculate the betalain concentration for each sample. The betalain content (BC) was calculated as $BC (mg/L) = [(A \times DF \times MW \times 1000) / (e \times l)]$, where A is the absorption, DF the dilution factor and l the pathlength (1 cm) of the cuvette. For quantification of *betacyanins* and *betaxanthins*, the molecular weights (MW) and molar extinction coefficients (e) ($MW=550$ g/mol; $e=60,000$ L/mol cm in H_2O) and ($MW=308$ g/mol; $e=48,000$ L/mol cm in H_2O) were applied.

Total polyphenols content (TPC) in the ethanolic extract was determined by the Folin–Ciocalteu method (Singleton *et al.*, 1999). Briefly, 50 mL of the sample were mixed with 2.3 mL of distilled water and 50 mL of Folin–Ciocalteu reagent

(Anedra, Argentina, 1:1 diluted). Then 100 mL of Na₂CO₃ (20 g/100 mL) (Anedra, Argentina) was added. After 30 min, sample absorbance was measured at 725 nm in the spectrophotometer. Gallic acid (Sigma-Aldrich, USA) was used as standard. Results were expressed as mg gallic acid equivalents (GAE)/g bar.

TEXTURE ANALYSIS

Texture profile analysis (TPA) and a three-point bending test were applied to the snack bars. Both determinations, in at least five replications, were performed in a Texture Analyser T2i TA.XT2i-Stable Micro Systems (United Kingdom). Data were registered through Texture Expert Exceed software.

TPA was determined using a HDP/VB probe to penetrate the sample to a depth of 5 mm in the first bite simulation and 8 mm in the second one, at a constant speed of 5.0 mm/s.

Three-point bending test was performed using a HDP/3PB probe. The sample was held on two stationary bending supports 40 mm apart, while being displaced at a central axis by the bending probe attached to the moving crosshead. Force was applied to the center of the bar until fracture occurred. Texture parameters were determined from the force-deformation curve and calculated according ASTM Standard D790-90 (Kim *et al.*, 2009).

SENSORY ANALYSIS

A consumer acceptability test of the beet bars was performed at Facultad de Ingeniería (Universidad Nacional de La Plata, Argentina). Fifty students and teachers (29 female and 21 male), aged between 18 and 49, were recruited and participated. Samples were presented in a plastic tray and labeled with a 3-digit random number. Purified water was available to rinse the mouth between samples. Sensory attributes (appearance, color, taste, texture, overall liking) were evaluated in a 9-point hedonic scale, where 9=like extremely and 1=dislike extremely. At the end of testing, panelists were also asked about purchase interest of the bars.

STATISTICAL ANALYSIS

Data analysis was performed using the software SYSTAT INC. (Evanston, USA). Analysis of variance (ANOVA) and mean comparisons were carried out. Unless indicated, a level of 95 % of confidence ($\alpha=0.05$) was used.

4. RESULTS AND DISCUSSION

Figure 1 shows the aspect of the formulated cereal bars with and without beetroot. It can be seen that the pieces of beet are homogeneously distributed in the whole bar. The amount of dried beet used in the formulation, 4 %, was enough to show the color of this ingredient in the final product. The beet percentage could be increased to make the bar more attractive in color; however, sensorial properties should be taken into account due to the characteristic taste of beetroot.

Preliminary studies using fresh beet gave bars with high values of a_w and water content, thus, dried beet was selected for the formulation. Vacuum drying was applied to the beetroots since this method has shown to preserve natural color and nutrients (Dueik & Bouchon, 2013).

Lower values of water activity were obtained for the beet bars compared to those for the control ones (Table 1), indicating good microbiological stability of the formulated product. The incorporation of dried beetroot slightly increased the moisture content of the bars, respect to the control samples. The values of both parameters, a_w and moisture content, were agreed with those found in commercial cereal bars (Fuertes and Navarro, 2011).

An important attribute of snack bars to consumers is the surface color (Figure 1 and Table 1). The formulated beet bars can be described by their lightness (L), redness (a^*) and yellowness (b^*). Bars with beetroot in their formulation showed lower L and higher a^* values compared to control bars, due to the redness of beetroot. Similar b^* values were obtained for both, control and beet bars, denoting yellowness in the color of samples (Table 1). The use of the reducing sugars in the formulation and the elevated baking temperature could explain the light brown color detected in the bars, as a result of the non-enzymatic Maillard browning reaction and the caramelization process (Sun-Waterhouse *et al.* 2010).

ANTIOXIDANT COMPOUNDS IN BEET BARS

With regard to the total polyphenols content, beetroot addition improved the nutritional profile of the bars since higher amounts of polyphenols were found in beet bars compared to the control (Figure 2A). The antioxidant activity of beetroot is partly due to their phenolic acids content; however, different processing methods like vacuum or roasting modify the phenolic acid concentration (Ravichandran *et al.*, 2012).

Betalain stability is influenced by different internal factors such as pigment content, pH, moisture content and external factors such as temperature, light and oxygen, among others (Wootton-Beard and Ryan, 2011). Bars processing could have changed the content of betalains and, consequently, the food color as well as the antioxidant activity. However, in this work, high contents of betalains (> 95 %) were retained in the beet bars after baking. A relation approximately 1:1 was found for both pigments betacyanins and betaxanthins (Figure 2B). Therefore, the formulated beet bars constitute a rich source of antioxidants due to the contribution of polyphenols and betalains.

TEXTURE ANALYSIS

The three-point bending test was used to determine the fracture properties of the cereal bars (Table 2). It is considered the most reliable method since it is the least dependent on particular equipment design, geometry and sample dimensions (Kim *et al.*, 2009). Table 2 shows that fracture stress, elastic modulus and fracture energy values were higher for the beet bars compared to the control, indicating that beet incorporation modified the texture of the bars.

The fracture stress is proportional to the maximum breaking force which can be related to the crispness, an attribute which denotes freshness and high quality of snack cereal products. Higher values of fracture stress were found for the formulated bars, showing that crispness increased after the incorporation of beetroot in the cereal bars.

SENSORIAL ANALYSIS

Students of university level were selected as the test group for the sensorial analysis of the beet bars. All of them claimed to be snack consumers, especially cereal bars. An overall liking of 68 % was found in the test, showing a good acceptance level of the beet bars.

Panelists were also asked about the purchase interest and 58 % of the students answered that they would probably buy the beet bars if these products were in the market. Moreover, 15 % claimed that they definitely would buy the formulated product (Figure 3).

Both process and ingredient variables influence the physical properties and sensory attributes of final food products. In this case, beetroot demonstrated to be a

suitable ingredient which did not alter the overall appearance and taste searched for the bars consumers.

5. CONCLUSIONS

Beet bars could be a promising healthy snack since, as shown in this work, they had high antioxidant properties and good sensory attributes. The incorporation of vacuum dried beet allowed obtaining microbiologically stable products, due to their low values of a_w and moisture content.

Beetroot addition improved the texture and nutritional values of cereal bars. Increased phenolic content and significantly high amounts of betalains were found in the formulated products. Beet bars had a good acceptance level among students showing that this product could be consumed as a healthy snack.

6. REFERENCES

- AOAC (2000). Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C.
- DUEIK, V., Marzullo, C. & Bouchon, P. (2013). Effect of vacuum inclusion on the quality and the sensory attributes of carrot snacks. *LWT - Food Science and Technology* 50 (2013) 361-365.
- FUERTES, S.P. & Navarro, A.S. (2011). Caracterización de barras de cereal fortificadas con calcio y vitamina C protegidos en una matriz de hidrocoloides. Actas del XIII Congreso de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CYTAL), Buenos Aires, 19-21/10/2011.
- KIM, E.H., Corrigan, V.K., Hedderley, D.I., Motoi, L., Wilson, A.J. & Morgenstern, M.P. (2009). Predicting the sensory texture of cereal snack bars using instrumental measurements. *Journal of Texture Studies*, 40, 457-481.
- KUJALA, T.S., Vienola, M.S., Klika, K.D., Loponen, J.M. & Pihlaja, K. (2002). Betalain and phenolic compositions of four beetroot (*Beta vulgaris*) cultivars. *European Food Research and Technology*, 214, 505-510.
- ORREGO, C.E., Salgado, N. & Botero, C.A. (2014). Developments and trends in fruit bar production and characterization. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* Vol. 54, 1, 84-97.

- RAVICHANDRAN, K., Ahmed, A.R., Knorr, D. & Smetanska, I. (2012). The effect of different processing methods on phenolic acid content and antioxidant activity of red beet. *Food Research International* 48 16–20.
- RAVICHANDRAN, K., Thaw Saw N. M., Mohdaly, A., Gabr, A., Kastell, A., Riedel, H., Cai, Z., Knorr, D. & Smetanska, I. (2013). Impact of processing of red beet on betalain content and antioxidant activity. *Journal of Food Research International*, 50, 670–675.
- SINGLETON, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventós, R.M., (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Cocalteu reagent, in: Lester, P. (Ed.), *Methods in Enzymology*. Academic Press, pp. 152-178.
- SUN-WATERHOUSE, D., Teoh, A., Massarotto, C., Wibisono, R. & Wadhwa, S. (2010). Comparative analysis of fruit-based functional snack bars. *Journal of Food Chemistry*, 119, 1369–1379.
- WOOTTON-BEARD, P.C. & Ryan, L. (2011). A beetroot juice shot is a significant and convenience source of bioaccessible antioxidants. *Journal of Functional Foods*, 3, 329-334.

7. TABLES AND FIGURES

FIGURES

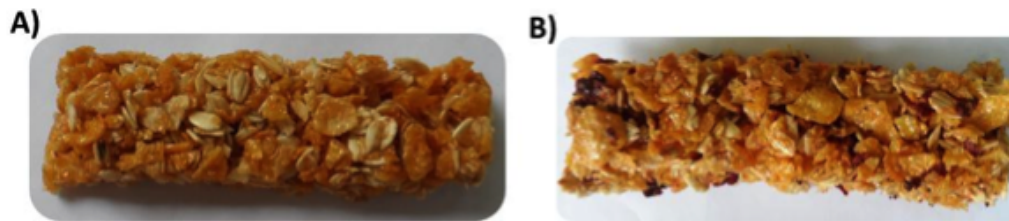


FIGURE 1. Images of formulated snack bars: (A) Control, (B) Beet bar.

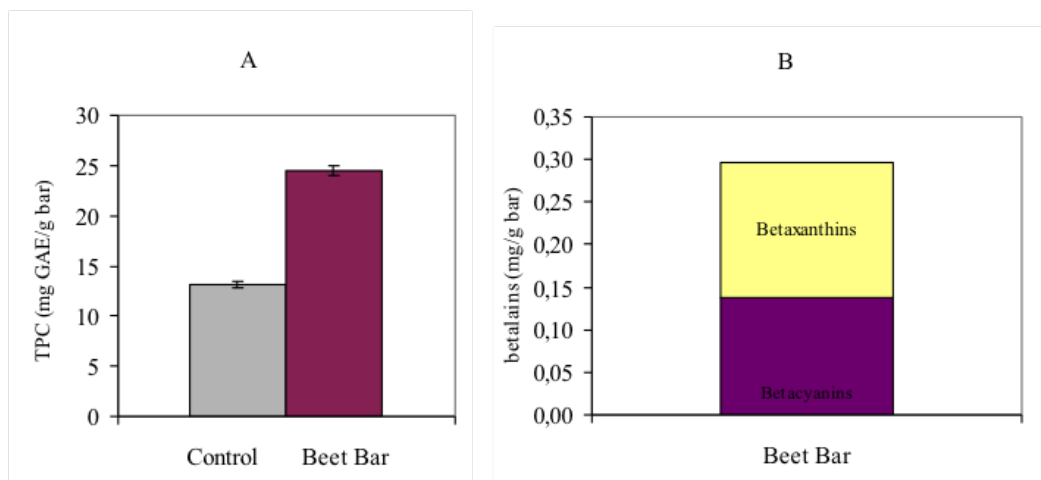


FIGURE 2. A) Total polyphenols content for control and beet bars, B) Total betalains content of beet bars, showing the contribution of pigments.

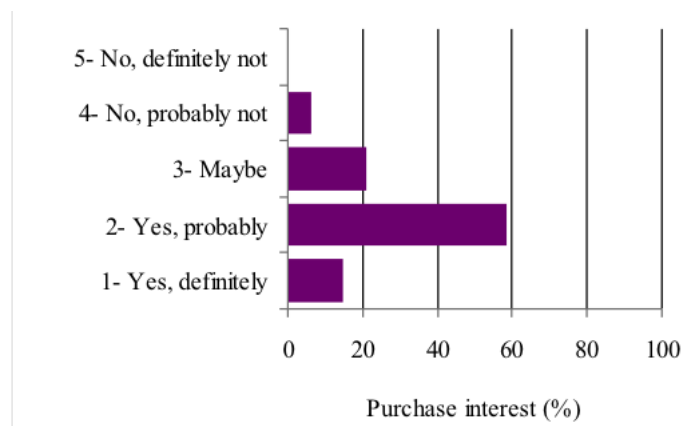


FIGURE 3. Purchase interest of beet bars as a result of the sensorial evaluation by an untrained panel.

TABLES

TABLE 1. Physicochemical parameters of snack bars

Snack bar	a _w	Moisture content (%)	Hunter Lab values		
			L	a*	b*
Control	0.41	7.7 ± 0.3	47.35 ± 4.37	3.29 ± 1.35	34.61 ± 2.87
Beet bar	0.35	9.2 ± 0.2	42.89 ± 5.87	7.23 ± 0.84	28.26 ± 4.78

Note: values are expressed as mean ± standard deviation.

TABLE 2. Mean values of instrumental parameters determined by the three-point bending test

Snack bar	Fracture Stress (KPa)	Fracture Strain (-)	Elastic Modulus (KPa)	Fracture Energy (N.mm)
Control	273.25 ± 8.23	0.18 ± 0.03	1.36 ± 0.25	47.74 ± 15.64
Beet bar	541.46 ± 0.37	0.23 ± 0.01	2.34 ± 0.08	90.21 ± 9.74

Note: values are expressed as mean ± standard deviation.

ELABORACIÓN DE GALLETITAS DULCES LIBRES DE GLUTEN CON HARINA DE *PACHYRHIZUS AHIPA*

Fernanda Sacco¹, María Cecilia Doporto¹, Cecilia Dini¹, Sonia Z. Viña^{1,2},
María Alejandra García¹

1. RESUMEN

El desarrollo de productos libres de gluten requiere la utilización de harinas no tradicionales como la de ahipa (*Pachyrhizus ahipa*), una Leguminosa de origen andino, productora de raíces tuberosas. El objetivo del presente trabajo fue formular y elaborar galletitas conteniendo harina de ahipa y estudiar aquellas propiedades físico-químicas relacionadas con su calidad y aptitud para la conservación. Se ensayaron cinco formulaciones de galletitas: una control (100 % almidón de maíz) y cuatro con diferentes porcentajes de sustitución con harina de ahipa (12,5; 18; 25 y 35 %). Los restantes ingredientes fueron huevos, yemas, azúcar, manteca y leudante. Las condiciones de horneado fueron: 180 °C-10 min, 200 °C-7,5 min y 200 °C-10 min. Se caracterizaron las masas y productos horneados mediante ensayos de textura (análisis de perfil de textura TPA y medida de la fuerza máxima en compresión empleando la sonda Volodkevich), medidas de color superficial (con un colorímetro Konica Minolta CR 400 Series), actividad acuosa y contenido de humedad. Además se realizó una evaluación sensorial (aceptabilidad por atributos) de las galletitas elaboradas con 25 % de harina de ahipa horneadas a 200 °C-7,5 min y 200 °C-10 min. El panel sensorial (60 consumidores no entrenados) evaluó los atributos color, sabor, textura y aceptabilidad general. El TPA de las masas ensaya-

CONTACTO: Ma. Alejandra García magarcia@quimica.unlp.edu.ar

1. CIDCA (Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos), Facultad Ciencias Exactas Universidad Nacional de La Plata (UNLP) – CONICET La Plata, 47 y 116 S/N°, La Plata (B1900AJJ), Buenos Aires, Argentina.

2. Curso Bioquímica y Fitoquímica, Laboratorio de Investigación en Productos Agroindustriales (LIPA), Facultad Ciencias Agrarias y Forestales (UNLP).

das mostró diferencias respecto del porcentaje de sustitución de almidón de maíz por harina de ahípa. En cuanto a las diferencias de color (DE con respecto al control), las condiciones de horneado 180 °C-10 min y 200 °C-7,5 min no presentaron diferencias significativas ($p>0,05$) entre sí, siendo los valores obtenidos más bajos que los correspondientes a la condición 200 °C-10 min. El índice de pardeamiento de los productos horneados estudiados se incrementó, en general, a medida que aumentó el porcentaje de sustitución. La condición de horneado seleccionada en el ensayo sensorial fue 200 °C-7,5 min. La galletita evaluada obtuvo el mayor puntaje en cuanto a aceptabilidad general, sabor y color. Se concluye que la harina de ahípa podría sustituir al almidón de maíz en futuras formulaciones para la preparación de productos libres de gluten, ya que contribuiría a obtener un producto nutricionalmente balanceado y con buena aceptación por parte de los consumidores.

2. INTRODUCCIÓN

Considerando que los cambios en la alimentación requeridos por los pacientes celíacos para ajustarse y mantener una dieta libre de gluten estricta son considerables y tienen un impacto significativo en sus vidas diarias, se ha incrementado la preocupación sobre los hábitos alimenticios a largo plazo y las elecciones alimentarias de dichos pacientes. Los resultados de diversos estudios indican un consumo desequilibrado de glúcidos, proteínas y lípidos, como así también una ingesta limitada de ciertos nutrientes esenciales en los sujetos celíacos (Álvarez-Jubete y col., 2010). El desarrollo de productos libres de gluten requiere la utilización de harinas no tradicionales, que contribuyan a solucionar estos desequilibrios.

El contenido de proteína de la harina de trigo puede variar entre 9-15 % (USDA, 2014), mientras que ciertas harinas alternativas como las de legumbres pueden ofrecer un contenido superior, aunque imparten por lo común sabores menos aceptados, que afectan la palatabilidad del alimento. La harina de soja resulta apropiada para una dieta libre de gluten, es rica en proteínas (34-35 %) pero es necesario remover parte de los lípidos que favorecen un rápido deterioro, además de un tratamiento que inactive a los inhibidores de tripsina que pudieran estar presentes.

Los motivos mencionados posicionarían a la harina de ahípa (*Pachyrhizus ahípa*) como materia prima promisoría para la elaboración de productos libres de gluten. Se trata de una Leguminosa de origen andino, productora de raíces tuberosas

que acumulan almidón como compuesto de reserva. Esta especie reúne las ventajas de un mayor contenido de proteína (7,9-11,5 %) que la mayoría de las raíces y tubérculos (Dini y col., 2013), con una mayor palatabilidad o aceptación que las harinas de legumbres (obtenidas de las semillas).

El objetivo del presente trabajo fue formular y elaborar galletitas conteniendo harina de ahípa y estudiar aquellas propiedades físico-químicas relacionadas con su calidad y aptitud para la conservación.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Se ensayaron cinco formulaciones de galletitas: una control (100 % almidón de maíz) y cuatro con diferentes porcentajes de sustitución con harina de ahípa (12,5; 18; 25 y 35 %). Además del almidón de maíz, los restantes ingredientes empleados en la elaboración fueron huevos, yemas, azúcar, manteca y leudante. Las condiciones de horneado fueron: 180 °C-10 min, 200 °C-7,5 min y 200 °C-10 min, y se empleó un horno eléctrico estático (Ariston FM87-FC, Italia) bajo convección natural.

Se caracterizó la textura de las masas y productos horneados empleando un analizador de textura TAXT2i Texture Analyzer (Stable Micro Systems Ltd, Gran Bretaña), a través del análisis del perfil de textura (TPA) para las masas crudas y la medida de la fuerza máxima en compresión empleando la sonda Volodkevich, para los productos horneados. Las condiciones del TPA fueron las siguientes: se utilizó una celda de carga de 25 kg, con la sonda SMSP/75 (plato de aluminio de 7,5 cm de diámetro) operado en el modo compresión, a una velocidad constante de 0,5 mm s⁻¹. Se midió la firmeza (N), adhesividad y cohesividad de discos de masa de 3 cm de diámetro y 8 mm de altura, luego de dos ciclos de compresión (20 %). Para las galletitas horneadas se empleó la sonda Volodkevich Bite Jaws y se midió la fuerza máxima en compresión (N) y el área bajo la curva, que se considera directamente asociada a la energía necesaria para cortar la muestra (Olivera y Salvadori, 2012).

Se analizó el color superficial (con un colorímetro Konica Minolta CR 400 Series, Japón); los resultados fueron expresados en términos de luminosidad (L*), coordenada rojo-verde (a*), azul-amarillo (b*), ángulo hue (h°) y Chroma (C*), siendo $h^\circ = \tan^{-1}(b^*/a^*)$ y $C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$. En el caso de las galletitas horneadas se calcularon también la diferencia de color ΔE con respecto a la formulación control y el índice de pardeamiento (IP), de acuerdo a las siguientes expresiones:

$$\Delta E = \sqrt{\left((a^* - a_0^*)^2 + (b^* - b_0^*)^2 + (L^* - L_0^*)^2 \right)} \quad (1)$$

$$x = \frac{a^* + 1,75L^*}{5,645L^* + a^* - 3,012b^*} \quad (2)$$

$$IP = \frac{100(x - 0,31)}{0,172} \quad (3)$$

Se midió la actividad acuosa (Water Activity Meter Aqualab series 3, Decagon Devices Inc., USA) y el contenido de humedad, mediante deshidratación de las muestras en estufa a 105 °C hasta peso constante.

Una vez seleccionada una de las formulaciones ensayadas, se determinó la composición química de las galletitas correspondientes (cenizas totales, fracción liposoluble, proteínas calculadas en base al contenido de nitrógeno total determinado por el método Kjeldahl) mediante las técnicas de referencia (AOAC, 1990). Se determinó el contenido de fibra dietaria total mediante el kit K-TDFR 05/12 Megazyme© (Irlanda) a partir de 1,0000 g de galletitas molidas, previamente desengrasadas mediante el método de Soxhlet. Los resultados se expresaron en porcentaje (%).

Asimismo se realizó un ensayo de evaluación sensorial (aceptabilidad por atributos) de las galletitas elaboradas en base a la formulación seleccionada horneadas a 200 °C-7,5 min y 200 °C-10 min. El panel sensorial (60 consumidores no entrenados) evaluó mediante una escala hedónica semi-estructurada los atributos color, sabor, textura y aceptabilidad general de las muestras presentadas al azar y codificadas mediante números aleatorios de tres dígitos.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CARACTERIZACIÓN DE LAS MASAS

A partir de las curvas obtenidas en el ensayo de perfil de textura se evaluaron los diferentes parámetros que caracterizan a las masas crudas estudiadas (Tabla 1).

La cohesividad es un parámetro relacionado con las fuerzas que vinculan a los diferentes componentes de la matriz; por lo tanto valores bajos de este parámetro se asocian a una menor integración de los componentes en la masa (Roopa y Bhattacharya, 2008). La cohesividad más alta la presentó la masa con 18 % harina de ahípa, y la más baja la que contenía 12,5 % de esta harina. No se observaron diferencias significativas ($p > 0,05$) en los valores de las masas con 25 % y 35 % de sustitución.

La masa con 35 % de harina de ahípa fue la que presentó los valores mayores de dureza, gomosidad, masticabilidad y consistencia, mientras que los menores valores en dichos parámetros correspondieron a la masa con 18 % harina de ahípa. Las masas preparadas con 100 % de almidón de maíz y la que contenía 25 % de harina de ahípa fueron las más adhesivas.

Los parámetros luminosidad (L^*), hue (h°) y Chroma (C^*) de las masas estudiadas se presentan en la Tabla 2. La masa con 100 % almidón de maíz presentó el valor de luminosidad más alto mientras que éste disminuyó a medida que aumentó el porcentaje de harina de ahípa en la formulación. El valor del ángulo hue (h°) de la masa control indicó la tonalidad amarilla de las muestras, mientras que las masas restantes presentaron tonalidades más pardas. Los mayores valores de Chroma (C^*) los presentaron las masas control y con 35 % de harina de ahípa, indicando una mayor saturación del color.

CARACTERIZACIÓN DE LAS GALLETITAS FORMULADAS

Con fines comparativos, se evaluaron las diferencias de color ΔE de las galletitas horneadas respecto a la formulación con 100 % de almidón de maíz (Tabla 3).

Las condiciones de horneado 180 °C-10 min y 200 °C-7,5 min no presentaron diferencias significativas ($p>0,05$) entre sí, siendo los valores obtenidos más bajos que los correspondientes a la condición 200 °C-10 min. El índice de pardeamiento de los productos horneados estudiados se incrementó, en general, a medida que aumentó el porcentaje de sustitución. Esto puede deberse a los productos de pardeamiento originados en la reacción de Maillard entre proteínas y azúcares reductores durante la cocción.

Los resultados del análisis de compresión realizado con la sonda Volodkevich Bite Jaws sobre las galletitas formuladas sometidas a diferentes condiciones de cocción se muestran en la Tabla 4. Los parámetros analizados fueron la fuerza máxima, asociada a la firmeza de la muestra, y el área bajo la curva que representa el trabajo realizado en la ruptura. En todas las condiciones de horneado las galletitas con 35 % harina de ahípa presentaron los valores más altos de ambos parámetros.

Las galletitas con 25 % de harina de ahípa mostraron valores similares en las condiciones 180 °C-10 minutos y 200 °C-7,5 minutos para los parámetros analizados, o muy cercanos en la condición 200 °C-10 minutos. El área generada fue mayor para las dos primeras condiciones mencionadas, mientras que los valores más altos

de fuerza máxima se obtienen en las condiciones con mayor tiempo de cocción (180 °C-10 minutos y 200 °C-10 minutos).

En todas las formulaciones se observó que los valores de actividad acuosa y contenido de humedad fueron inferiores en la condición de máxima temperatura y tiempo (200 °C, 10 minutos); los mismos variaron entre 0,304-0,400 y 6,22-9,53 % respectivamente. En cuanto al contenido de humedad, las galletitas de formulaciones con mayor porcentaje de sustitución de la harina de ahípa presentaron menores valores en la condición 180 °C-10 minutos (9,04 %) que en la 200 °C-7,5 minutos (10,94 %).

De los resultados obtenidos, y en especial considerando los obtenidos en el desarrollo de color superficial de las galletitas elaboradas con harina de ahípa, se descartó la formulación con 35 % de esta harina. Teniendo en cuenta que la inclusión de esta harina no tradicional permite mejorar el perfil nutricional del producto sobre la base de un mayor contenido de proteínas, se seleccionó la formulación conteniendo 25 % de harina de ahípa y se evaluó su composición química.

El contenido de cenizas totales fue mayor en las galletitas elaboradas con 25 % de harina (0,84±0,02 %) respecto de la galletita control (0,67±0,04 %). El mayor contenido de proteínas que posee la galletita elaborada con harina de ahípa (2,6±0,1 %) se corresponde con la composición química de esta harina, mientras que la galletita con almidón de maíz (1,3±0,1 %) realiza un menor aporte de proteínas. No se observaron diferencias significativas ($p>0,05$) en el contenido de lípidos (17 %). El contenido de fibra dietaria total en la galletita con harina de ahípa fue más alto (5,0±1,4 %) que en las control (1,9±0,8 %), ya que la harina de ahípa puede considerarse como fuente de fibra. El contenido de carbohidratos totales, obtenido por diferencia porcentual, no mostró diferencias significativas ($p>0,05$) entre las galletitas analizadas. No se observaron diferencias significativas ($p>0,05$) en la composición química de las galletitas según la condición de cocción empleada.

EVALUACIÓN SENSORIAL DEL PRODUCTO HORNEADO

La condición de horneado se seleccionó a partir de un ensayo sensorial, donde se evaluaron las combinaciones tiempo-temperatura 200 °C-10 min y 200 °C-7,5 min de las galletitas con 25 % de harina de ahípa, ya que éstas permitieron una mayor reducción del contenido de humedad y a_w de las muestras.

Se observó que para la condición de horneado a 200 °C durante 7,5 minutos, el puntaje 8 de aceptabilidad general fue elegido con mayor frecuencia (Figura 1A),

mientras que para la condición 200 °C-10 minutos el puntaje 7 fue el que presentó la mayor frecuencia de elección (Figura 1B). En base a estos resultados se eligió la galletita formulada con 25 % de harina de ahipa y horneada a 200 °C durante 7,5 minutos, como la de mayor aceptación por parte del panel evaluador.

El 75 % de los panelistas calificó con puntajes mayores a 7 a las galletitas elaboradas con 25 % de harina de ahipa, prefiriéndolas a los controles. En cuanto al sabor, la más aceptada fue la galletita elaborada con 100 % de almidón de maíz (galletita control) (Figura 2). Con respecto al atributo textura, la galletita que presentó mayor aceptación fue la formulada con harina de ahipa; los consumidores asociaron las características texturales de las galletitas control a las de un “producto arenoso”. La aceptabilidad general de las galletitas evaluadas en el panel sensorial fue buena, siendo 7 el puntaje predominante (Figura 2). Este hecho es favorable para un posible lanzamiento al mercado, puesto que la aceptación general podría ser similar a la de galletitas elaboradas exclusivamente con almidón de maíz, que habitualmente se ofrecen en los comercios y góndolas de productos aptos para celíacos.

5. CONCLUSIONES

Fue factible obtener galletitas formuladas a partir de almidón de maíz parcialmente sustituidas con harina de ahipa. Las galletitas que incluyeron harina de ahipa en su formulación se caracterizaron por poseer un mayor aporte de fibra dietaria total y de proteína que las galletitas elaboradas exclusivamente a base de almidón de maíz.

Las galletitas formuladas con 35 % de harina de ahipa fueron descartadas debido a los elevados valores de las diferencias de color (ΔE) con respecto a la formulación control, una vez horneadas. Las elaboradas con 25 % de harina de ahipa y horneadas a 200 °C durante 7,5 minutos obtuvieron el mayor puntaje en cuanto a aceptabilidad general, sabor y color, siendo ésta la condición seleccionada por el panel sensorial.

Los ensayos de textura, mostraron valores de fuerza máxima y área bajo la curva muy similares para las galletitas formuladas con 25 % harina de ahipa en todas las condiciones de cocción. Sin embargo, las masas mostraron perfiles de textura algo diferentes: la mayor firmeza y consistencia la presentó la masa con 35 % de harina de ahipa; la mayor adhesividad a la sonda la presentó la masa con 25 % de esta harina como así también la masa control.

Los ensayos sensoriales indicaron que las galletitas obtenidas tuvieron buena aceptabilidad por parte de los evaluadores, incluso mayor que las formuladas sólo con almidón de maíz.

Se concluye que la harina de ahipa podría sustituir al almidón de maíz en futuras formulaciones para la preparación de productos libres de gluten, ya que contribuiría a obtener un producto nutricionalmente balanceado y con buena aceptación por parte de los consumidores.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ÁLVAREZ-JUBETE, L., Arendt, E. K., Gallagher, E. (2010). Nutritive value of pseudocereals and their increasing use as functional gluten free ingredients. *Trends Food Sci. Technol.* 21, 106–113.
- AOAC. (1990). *Official methods of analysis* (15th ed.). Arlington, Virginia, USA: Association of Official Analytical Chemists (AOAC), Inc.
- OLIVERA, D. F., Salvadori, V. O. (2012). Kinetic modeling of quality changes of chilled ready to serve lasagna. *Journal of Food Engineering*, 110, 487-492.
- ROOPA, B. S., Bhattacharya, S. (2008). Alginate gels: I. Characterization of textural attributes. *Journal of Food Engineering* 85 (1), 123-131.
- USDA (United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service). 2013. USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 26. Nutrient Data Laboratory Home Page, <http://www.ars.usda.gov/ba/bhnrc/ndl>

7. TABLAS Y FIGURAS

TABLA 1. Parámetros del análisis de perfil de textura de las masas crudas

% Harina de ahipa	Firmeza (N)	Cohesividad	Gomosidad (N)	Adhesividad (N mm)	Mastica-bilidad	Consistencia (N mm)
0	31,6±1,9 ^b	0,23±0,02 ^b	7,3±0,7 ^c	4,1±0,6 ^c	7,3±0,6 ^c	64,6±4,3 ^b
12,5	29,7±1,8 ^b	0,19±0,03 ^a	5,7±0,9 ^b	3,6±0,9 ^b	5,7±0,8 ^b	59,2±7,6 ^b
18	13,9±2,0 ^a	0,29±0,03 ^c	4,1±0,5 ^a	3,3±0,9 ^{a,b}	4,1±0,5 ^a	25,5±4,6 ^a
25	38,5±1,3 ^c	0,24±0,01 ^b	9,2±0,3 ^d	4,1±1,3 ^c	9,2±0,1 ^d	76,1±9,0 ^c
35	80,4±0,5 ^d	0,22±0,02 ^b	17,9±1,3 ^e	2,6±0,8 ^a	17,9±1,3 ^e	164,2±5,6 ^d

NOTA: datos acompañados por la misma letra en una misma columna, no difieren significativamente ($p > 0,05$).

TABLA 2. Parámetros colorimétricos L*, h° y Chroma (C*) para las masas crudas ensayas

% Harina de ahipa	L*	h°	C*
0	88,7±1,3 ^d	98,4±0,3 ^d	31,4±1,0 ^c
12,5	80,7±2,0 ^c	90,2±0,5 ^c	24,1±1,6 ^a
18	80,4±0,9 ^c	89,2±0,4 ^b	24,7±1,3 ^a
25	77,5±0,7 ^b	87,7±0,3 ^a	25,4±1,0 ^a
35	74,1±1,2 ^a	87,4±0,4 ^a	29,6±1,8 ^b

Nota: datos acompañados por la misma letra en una misma columna, no difieren significativamente ($p>0,05$).

TABLA 3. Diferencias de color de las galletitas formuladas con harina de ahipa, respecto de las galletitas controles (0% de harina de ahipa), horneadas en diferentes condiciones.

% Harina de ahipa	180 °C - 10 min	200 °C - 10 min	200 °C - 7,5 min
0	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a
12,5	13,1±0,6 ^b	21,8±1,6 ^b	14,8±0,9 ^c
18	13,4±0,6 ^b	23,9±1,7 ^c	13,1±0,5 ^b
25	13,4±0,7 ^b	21,9±1,6 ^b	14,8±0,9 ^c
35	17,8±1,0 ^c	27,4±1,1 ^d	15,4±1,1 ^c

Nota: datos acompañados por la misma letra en una misma columna, no difieren significativamente ($p>0,05$).

TABLA 4. Parámetros texturales (fuerza máxima, N y área bajo la curva, N mm) de galletitas formuladas con harina de ahipa horneadas en diferentes condiciones.

% Harina de ahipa	180 °C-10 min		200 °C-10 min		200 °C-7,5 min	
	F máx	Área	F máx	Área	F máx	Área
0	6,8±0,5 ^c	15,6±1,1 ^a	7,0±1,4 ^a	7,5±2,8 ^a	3,5±0,7 ^a	8,8±1,3 ^a
12,5	4,7±0,5 ^b	18,9±1,2 ^b	21,9±1,6 ^c	31,0±2,7 ^c	3,8±0,9 ^a	15,7±0,9 ^b
18	3,6±0,4 ^a	15,4±1,5 ^a	12,3±1,6 ^b	42,7±3,7 ^d	3,9±0,5 ^a	14,4±1,6 ^b
25	9,4±1,8 ^d	30,6±2,5 ^c	11,6±1,6 ^b	19,9±1,8 ^b	7,1±0,6 ^b	28,3±2,9 ^c
35	21,4±1,8 ^e	54,2±2,9 ^d	22,2±1,3 ^c	40,0±3,6 ^d	15,0±1,0 ^c	58,7±2,6 ^d

Nota: datos acompañados por la misma letra en una misma columna, no difieren significativamente ($p>0,05$).

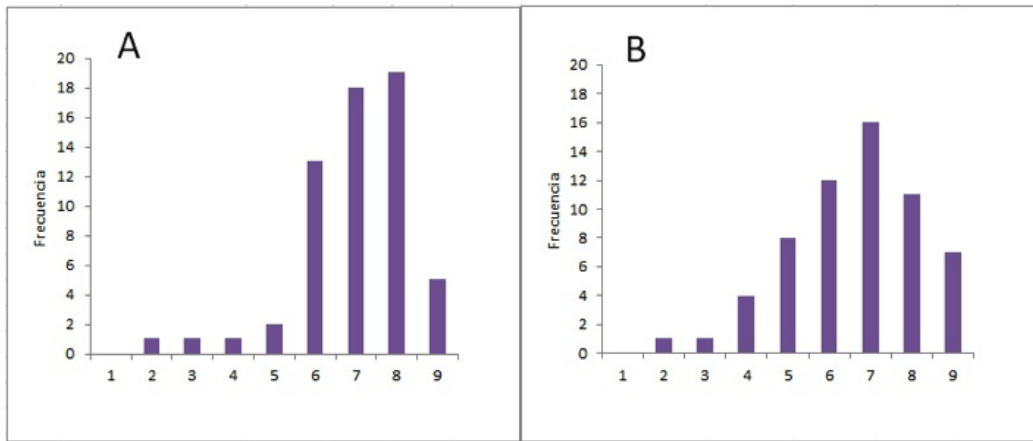


FIGURA 1. Histogramas de aceptabilidad general de las galletitas elaboradas con 25 % harina de ahípa horneadas a: A) 200 °C-7,5 minutos y B) 200 °C-10 minutos.

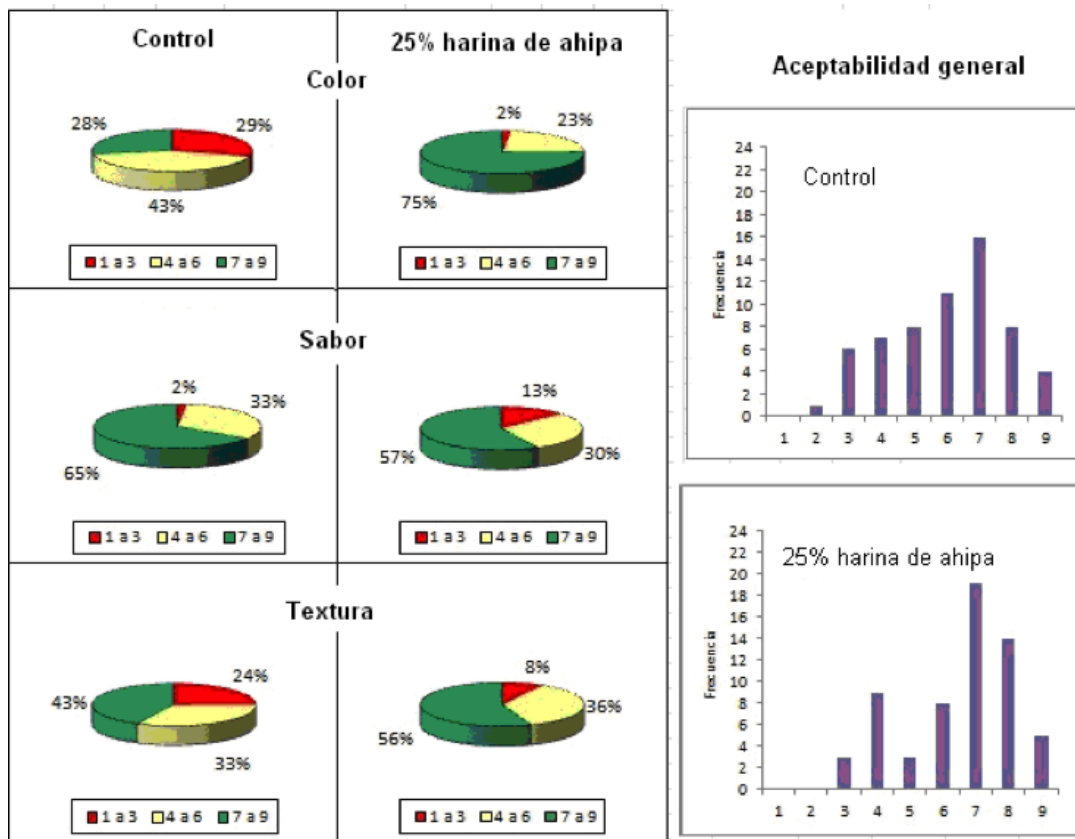


FIGURA 2. Atributos evaluados (color, sabor y textura) y aceptabilidad general de las galletitas control (100% almidón de maíz) y con 25% harina de ahípa.

OBTENCIÓN DE UN ALIMENTO POTENCIALMENTE PROBIÓTICO MEDIANTE FERMENTACIÓN LÁCTICA DE UN TUBÉRCULO ANDINO

Ana Laura Mosso, Norma Sammán, Eugenia Jiménez, Manuel Lobo

1. RESUMEN

La fermentación láctica es un método biotecnológico tradicional que mejora las características sensoriales, reológicas, nutricionales y funcionales de diversas materias primas y permite extender su vida útil por la producción de ácidos y otros compuestos antimicrobianos que inhiben o retrasan el desarrollo de microorganismos de deterioro. Además de sustratos tradicionales (leche y carne) se pueden utilizar algunos vegetales ya que presentan altos contenidos de azúcares. El objetivo del trabajo fue desarrollar un alimento fermentado potencialmente probiótico utilizando un tubérculo andino. Para su elaboración se utilizó papa andina var. Churqueña (*Solanum tuberosum* ssp andigena) de la provincia de Jujuy y una cepa de *Lactobacillus brevis* aislada de un producto regional a base de maíz, se condimentó con orégano (0,8 %) y sal (1,5 %). La fermentación se realizó en condiciones óptimas de crecimiento de la cepa (32 °C, microaerobiosis) con un inóculo de 10⁶ UFC/g. Se estudió la fermentación durante 72 h mediante la determinación de azúcares reductores, pH, acidez titulable y recuento de bacterias acidolácticas en agar MRS. Sobre el producto fermentado se realizó un estudio de resistencia a condiciones gastrointestinales simuladas (incubación durante 3 h a 32 °C en buffer fosfato salino a pH 2,5 y posteriormente a pH 8 + 0,3 % de sales biliares) y de viabilidad celular (recuento en MRS) durante un mes de almacenamiento refrigerado (4 °C). La papa Churqueña resultó un excelente sustrato para la fermentación ya que aportó todos los nutrientes necesarios para que *L. brevis* se desarrolle hasta 10¹⁰ UFC/g y se produzcan importantes cantidades de ácidos (0,6 mg de ácido láctico/100g) lo que redujo el pH a 3,8. De acuerdo a los resultados la papa cocinada y triturada

CONTACTO: Ana L. Mosso anamossorubin@hotmail.com

Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Jujuy, Jujuy,
Argentina.

con cáscara se fermentó durante 6 h hasta pH 5. Formó un gel muy estable, lo que permitió obtener un producto sólido compacto, de buen aspecto, textura adecuada y con una carga microbiana superior a 10^8 UFC/g. La adición de orégano y sal permitió resaltar el sabor del producto al mismo tiempo que favoreció el desarrollo microbiano con menor generación de ácidos orgánicos, mejorando sus características organolépticas. Durante el almacenamiento refrigerado se evidenció un metabolismo bacteriano activo, superando siempre el recuento inicial. La cepa de *L. brevis* contenida en el producto fermentado resultó resistente a las condiciones gastrointestinales simuladas. Esto, sumado a que es productora de bacteriocinas, convierte al producto en un alimento funcional potencialmente probiótico desarrollado en base a un vegetal, por lo que puede ser consumido por personas con intolerancia a la lactosa y/o vegetarianos o incluirse en dietas restringidas en colesterol.

2. INTRODUCCIÓN

Los alimentos funcionales son aquellos que más allá de sus características nutricionales básicas tienen componentes que contribuyen a mantener la salud y el bienestar general (Saad y col., 2013). Entre ellos se destacan los alimentos que contienen probióticos -microorganismos vivos que cuando son administrados en cantidades adecuadas le confieren un efecto benéfico al huésped (FAO/WHO, 2002). Estos tienen la capacidad de atravesar las barreras gastrointestinales y alcanzar el tramo final del intestino grueso donde ejercen una gran acción metabólica. La mayoría de los probióticos que se conocen en la actualidad son bifidobacterias o bacterias ácido lácticas (BAL), que además son ampliamente utilizadas como cultivos starter en la fermentación de alimentos ya que permiten el desarrollo de características organolépticas y reológicas particulares (Lacerda Ramos y col., 2013). El aumento en el número de individuos con intolerancia a la lactosa, con dietas restringidas en colesterol y/o vegetarianos refuerza la importancia del desarrollo de alimentos no-lácteos como potenciales vectores para el transporte de BAL, en este sentido las frutas y verduras representan excelentes materias primas para la fermentación (Di Cagno y col., 2013). No se encontraron antecedentes de la obtención de alimentos probióticos formulados con purés de vegetales, por lo que el desarrollo de un alimento sólido fermentado -potencialmente probiótico- a partir de un tubérculo andino representaría un proceso innovador. En la provincia de Jujuy (Argentina)

se cultivan más de 40 variedades de papa andina (*Solanum tuberosum* ssp. andigena), estas representan una buena fuente de carbohidratos, tienen bajo contenido de grasas y son ricas en varios micronutrientes, como la vitamina C y algunas del grupo B, contienen minerales como potasio, fósforo, magnesio y hierro y también son fuentes polifenoles y carotenoides con actividad antioxidante (Kim y col., 2012). La búsqueda de nuevos productos derivados de los cultivos andinos, además de revalorizarlos, ayuda a la conservación de la biodiversidad y representa una gran oportunidad de crecimiento para las economías regionales (Goldner, 2012). El objetivo del presente trabajo fue obtener un alimento desarrollado a partir de una variedad de papa andina mediante fermentación láctica por *L. brevis*, BAL posiblemente probiótica, para aumentar valor a la cadena productiva y diversificar la oferta de alimentos funcionales.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

La papa andina var. Churqueña fue provista por la Cooperativa Agrícola Unión Quebrada y Valles (C.A.U.Que.Va.) del departamento Maimará (Jujuy). La determinación de la composición proximal se llevó a cabo por triplicado sobre muestras frescas enteras (pulpa y cáscara) siguiendo técnicas AOAC (1995): Humedad por desecación hasta peso constante (964.22), proteínas por método Kjeldahl (984.13), lípidos por método Soxhlet (920.39) y cenizas por método de calcinación (923.03). Se utilizó como microorganismo fermentador una BAL aislada por el grupo de investigación de un producto fermentado de maíz. La cepa fue caracterizada por la técnica de ARN 16S como *Lactobacillus brevis*, además se conoce que la misma es productora de bacteriocinas. Se utilizó sal fina y orégano deshidratado procesado como aditivos. Fermentación láctica: Las papas con cáscara fueron lavadas, cocinadas en agua hirviendo durante 20 minutos y trituradas con una procesadora hasta obtener un puré homogéneo. El mismo fue inoculado con 10^6 UFC/g de *L. brevis* y colocado en bolsas de polietileno selladas al 90 % de vacío. La fermentación se llevó a cabo a 32 °C en estufa de cultivo y se siguió a través de la evolución en el tiempo del recuento de células viables de BAL, pH, acidez total determinada por titulación con NaOH 0,1 N (AOAC 981.12), concentración de azúcares reductores totales por método de Fehling-Cause-Bonnans (AOAC 923.09). Formulación del alimento: Se preparó un puré, se inoculó con 10^6 UFC/g, se le agregó 1,5 % de sal y

0,8 % de orégano para mejorar las características organolépticas y se le dio forma de esfera. Se colocó en bolsas de polietileno selladas al 90 % de vacío y se fermentó a 32 °C durante 6 h. Se determinó la composición proximal. Se estudió el efecto de la sal y el orégano en la viabilidad celular y la producción de ácido láctico. El producto terminado fue conservado en heladera a 4 °C durante 4 semanas. Se tomaron muestras semanalmente y se realizaron recuentos de células viables y mediciones de pH para estudiar el efecto de la conservación refrigerada en la viabilidad celular, además se determinó la presencia de contaminantes como coliformes totales, hongos y levaduras (ICMSF, 1983). Se realizó un análisis sensorial en el cual 20 consumidores degustaron las muestras con el objetivo de definir el tiempo de conservación refrigerada durante el cual el producto mantenía características aceptables. Se les proporcionó 5 muestras en porciones de 5 g cada una, identificadas con números aleatorios de 3 dígitos. Una de las muestras fue preparada el día del estudio y las otras 4 se prepararon con anticipación (28, 21, 14 y 7 días antes del ensayo) y se conservaron refrigeradas hasta ese momento. Se utilizó una escala hedónica de 5 puntos, evaluando como atributo el sabor. La muestra que alcanzó el 30 % de rechazo (opciones “me disgusta moderadamente” + “me disgusta mucho”) determinó el tiempo de vida útil del producto. El análisis estadístico se realizó utilizando el complemento de Excel PHStat (Prentice Hall, 2013).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La papa Churqueña se caracteriza por ser de tamaño pequeño con un peso promedio de $36,15 \pm 8,33$ g y la pérdida de materia comestible resulta muy grande al retirarle la cáscara, además ésta representa una importante fuente de compuestos antioxidantes, por lo que se trabajó con los tubérculos enteros. Los datos de composición proximal se encuentran en la Tabla 1, expresados en g/100g, en base seca en el caso de carbohidratos, proteínas, lípidos y cenizas. Los resultados de los parámetros de fermentación estudiados se resumen en la Figura 1. El máximo recuento microbiano se registró después de las 8 h de fermentación, alcanzando valores superiores a 10^{10} UFC/g. Los ácidos orgánicos producidos alcanzaron una concentración de 0,6 ml de ácido láctico/100 g de producto al cabo de 24 h y permitieron que el pH descendiera hasta 3,8, esto puede deberse a la presencia de azúcares de bajo peso molecular que son sustratos fácilmente asimilables por las bacterias (Espín y

col., 2003). Uno de los objetivos de la fermentación láctica es la conservación del alimento por reducción de pH, sin embargo, se debe tener en cuenta que valores muy bajos pueden afectar la viabilidad de las propias BAL y afectar las propiedades sensoriales del alimento (Coda y col., 2012). El contenido de azúcares reductores totales (expresado como g de glucosa/100 g de producto) disminuye hasta las 48 h y luego aumenta, esto se debería a que las bacterias consumen los azúcares simples antes de comenzar la hidrólisis enzimática del almidón que libera como productos monosacáridos y oligosacáridos. Analizando la curva de crecimiento de *L. brevis* se determinó que la fermentación a 32 °C se extendería por 6 h para alcanzar una carga microbiana de aproximadamente 10^8 UFC/g, superando la concentración mínima establecida por el CAA para que un alimento sea considerado probiótico (10^6 UFC/g). Para resaltar el sabor del producto se decidió agregarle 1,5 % de sal fina y 0,8 % de orégano deshidratado y procesado. El producto fermentado obtenido se denominó “Queso de papa” (Figura 2) debido a su consistencia de gel firme. La Tabla 1 muestra la composición proximal y características fisicoquímicas del producto listo para su consumo. Se trata de un alimento perecedero con gran contenido de humedad y a_w de 0,979, que debe conservarse refrigerado para evitar la contaminación con microorganismos patógenos y/o alterantes. Resultó interesante comparar el desarrollo de *L. brevis* en purés fermentados de papa Churqueña con y sin aditivos (orégano y sal) para estudiar el efecto de estas sustancias en la viabilidad celular. La sal es utilizada en la industria alimenticia como conservante debido a su acción antimicrobiana, lo que en este caso también podría comprometer la viabilidad de las BAL (Samapundo y col., 2010). De la misma manera estudios reportan que ciertas especias y sus aceites esenciales tienen actividad antimicrobiana frente a microorganismos patógenos y de putrefacción (Farkas y Mohácsi, 2014), pero existen algunos trabajos enfocados en los efectos positivos de estos aditivos en el desarrollo de bacterias lácticas (Janssen y col., 1987; Coventry y Hickey, 1993). Los resultados obtenidos en el presente trabajo (Figura 3) muestran que las concentraciones microbianas alcanzadas en el puré con aditivos superan en todo momento a las del puré sin aditivos, llegando inclusive a una concentración de 10^{11} UFC/g a las 8 h, valor superior al obtenido en la fermentación del puré sin aditivos, a cualquier tiempo estudiado. Probablemente la gran cantidad de ácido láctico producida inicialmente afecte la viabilidad celular en el caso del puré sin aditivos. Por otro lado, Janssen y col. (1987) sugieren que las BAL son relativamente resistentes a los efectos tóxicos de las especias y sus aceites esenciales.

Se estudió la viabilidad celular en el producto refrigerado a 4 °C durante cuatro semanas. Los resultados indican que la cepa mantuvo un metabolismo activo, evidenciado por el descenso de pH y recuentos mayores a 10⁸ UFC/g (Figura 4), características deseadas para un alimento probiótico. Se puede observar en la Tabla 3 que no se registró presencia de bacterias coliformes durante todo el tiempo de estudio, lo que indica que el procesamiento tiene buen manejo higiénico-sanitario. Si bien se encontraron hongos a partir de la segunda semana y levaduras a partir de la tercera y en ambos casos los recuentos aumentaron en el tiempo, estos no superaron el límite establecido por el CAA para un alimento lácteo fermentado (utilizado como referencia, ya que no se describen probióticos en el mismo). Se estudió la tolerancia de la cepa de *Lactobacillus brevis* a condiciones gastrointestinales simuladas. Se encontró que el recuento de células viables disminuyó en 2 unidades logarítmicas al cabo de 3 h de exposición a pH 2,5 (Tabla 2). Si bien *L. brevis* no es completamente resistente a la acidez, el nivel de supervivencia es apreciable. La bacteria resiste las condiciones intestinales simuladas ya que no se observa una pérdida en la viabilidad celular debida al efecto de pH ligeramente básico combinado con sales biliares. Luego de realizar ambos tratamientos combinados (simulación gástrica y luego intestinal) se deduce que la pérdida de viabilidad se debe exclusivamente al primero. En la determinación sensorial del tiempo de vida útil (Tabla 4), los resultados indican que el producto es de amplia aceptación. Los porcentajes de respuestas positivas (“me gusta mucho” y “me gusta moderadamente”) alcanzaron más del 90 % en el producto recién hecho, 75 % a la semana y 70 % a los 14 días. El 40 % de las personas consultadas coincidió en las opciones “me disgusta moderadamente” y “me disgusta mucho” al probar el producto con 21 días de conservación refrigerada. Por consiguiente se determinó que la vida útil del producto es de 3 semanas, periodo de tiempo en el cual el producto conserva sus características organolépticas aceptables.

5. CONCLUSIONES

La papa andina Churqueña es buena fuente de carbohidratos, minerales y compuestos antioxidantes. Al ser cocinada forma un gel estable y de buena textura lo que la convierte en una excelente materia prima para la elaboración de alimentos procesados sólidos y constituye una oportunidad para el agregado de valor de la ca-

dena productiva. Además la composición de este tubérculo lo posiciona como buen sustrato para la fermentación con *L. brevis*, microorganismo con requerimientos nutricionales complejos. El agregado de sal y orégano resaltó el sabor a la vez que favoreció el crecimiento de la bacteria. La fermentación permitió el desarrollo de sabores particulares debido a la producción de ácido láctico y otros metabolitos que además inhibieron el crecimiento de microorganismos no deseados, de esta forma se extendió la vida útil del alimento, que resultó similar a la de otros productos fermentados como el yogurt que tienen aditivos y conservantes químicos. El Queso de papa se caracteriza por tener un contenido de *L. brevis* de 10^8 UFC/g que se mantiene estable durante todo el periodo de vida útil, esto sumado a que el microorganismo tolera condiciones gastrointestinales in vitro, y es productor de bacteriocinas, permiten definirlo como un posible alimento probiótico. Este alimento puede ser consumido por vegetarianos, celíacos, personas con intolerancia a la lactosa y/o con dietas restringidas en colesterol. El proceso de obtención es sencillo, económico y puede ser utilizado por productores rurales o cooperativas, representando una alternativa para comercializar productos regionales con mayor valor agregado.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOAC (1995). Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis. (16th ed.). Arlington, Va, USA.
- CODA, R.; Lanera, A.; Trani, A.; Gobbetti, M. y Dicagno, R. (2012). Yogurt-like beverages made of a mixture of cereals, soy and grape must: Microbiology, texture, nutritional and sensory properties. *International Journal of Food Microbiology*, 155, 120–127.
- COVENTRY, M. J. y Hickey, M. W. (1993). The effect of spices and manganese on meat starter culture activity. *Meat Science*, 33, 391-399.
- DI CAGNO, R.; Coda, R.; De Angelis, M. y Gobbetti, M. (2013). Exploitation of vegetables and fruits through lactic acid fermentation. *Food Microbiology*, 33, 1-10.
- ESPÍN, S.; Villacrés, E. y Brito, B. (2003). Caracterización Físico-Química, Nutricional y Funcional de Raíces y Tubérculos Andinos. Capítulo 4. En: Barrera, V.; Tapia, C. y Monteros, A. (eds.). Raíces y Tubérculos Andinos: Una década de investigación para el desarrollo (1993-2003). N° 4. Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias. CIP. Quito, Ecuador – Lima, Perú. pp 93-108.

- FAO/WHO. (2002). Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization. London, Ontario, Canada.
- FARKAS, J. y Mohacsi, C. (2014). Safety of food and beverages: spices and seasonings. Encyclopedia of Food Safety, 3, 324-330.
- GOLDNER, M.; Pérez, O.; Pilosof, A. y Armada, M. (2012). Comparative study of sensory and instrumental characteristics of texture and color of boiled under-exploited Andean tubers. Food Science and Technology, 47: 83-90.
- ICMSF. (1983). Microorganismos de los alimentos. Técnicas de análisis microbiológicos. 2da edición. Editorial Acribia. Zaragoza. Vol I, pp 113-115.
- JANSSEN, A. M.; Scheffer, J. C. y Baerheim S. A. (1987). Antimicrobial activities of essential oils. A 19761986 literature review on possible application. Pharm. Weekbl. 9, 193-197.
- KIM, N.; Jang, H. y Yoon, K. (2012). Potato juice fermented with *Lactobacillus casei* as a probiotic functional beverage. Food Science and Biotechnology, 21, 1301-1307.
- LACERDA RAMOS, V.; Thorsen, L.; Freitas Schwan, R. y Jespersen, L. (2013). Strain-specific probiotics properties of *L. fermentum*, *L. plantarum* and *L. brevis* isolates from Brazilian food products. Food Microbiology, 36, 22-29.
- SAAD, C.; Delattre, M.; Urdaci, J. M.; Schmitter, P. y Bressollier, A. (2013). An overview of the last advances in probiotic and prebiotic field. Food Science and Technology, 50, 1-16.
- SAMAPUNDO, S.; Ampofo-Asiama, J.; Anthierens, T. y Xhaferi, R. (2010). Influence of NaCl reduction and replacement on the growth of *L. sakei* in broth, cooked ham and white sauce. International Journal of Food Microbiology, 143, 9-16.

7. TABLAS Y FIGURAS

TABLA 1. Composición proximal de la papa andina Churqueña y características del Queso de papa

Muestra	Humedad	Energía Kcal/100g	H C ^{tot}	Proteínas	Lípidos	Cenizas	pH	aw	Concentración de <i>L.brevis</i> (UFC/g)
Papa Churqueña	73,58±2,75	104	85,93	8,44±2,76	1,77±1,52	3,86±0,11	-	-	-
Queso de papa	66,31±1,86	120	86,73	8,99±1,82	0,21±0,12	4,07±0,65	5,10	0,979	3,0 × 10 ⁸

TABLA 2. Recuento de células viables bajo condiciones gastrointestinales simuladas

Tratamiento	Condición	Recuento (UFC/ml)
Control	pH 6,4	$2,01 \times 10^8$
Ambiente estomacal simulado	pH 2,5	$1,60 \times 10^6$
Ambiente intestinal simulado	pH 8/sales biliares	$1,04 \times 10^8$
Tratamiento combinado	pH 2,5 + pH 8/sales biliares	$1,20 \times 10^6$

TABLA 3. Recuento de microorganismos indicadores de contaminación. *

Tiempo (Días)	Recuento semanal (UFC/g)					CAA*
	0	7	14	21	28	
Microorganismos						
Coliformes	0	0	0	0	0	100
Hongos	0	0	10	40	160	200
Levaduras	0	0	0	20	40	

* Límites máximos establecidos por el CAA para leches fermentadas

TABLA 4. Evaluación sensorial del producto refrigerado durante distintos periodos de tiempo

Tiempo (Días)	% de Respuestas (20 consumidores)				
	0	7	14	21	28
Respuesta					
Me gusta mucho	15	15	10	5	0
Me gusta moderadamente	75	60	60	35	20
No me gusta ni me disgusta	5	20	15	20	30
Me disgusta moderadamente	5	5	15	35	45
Me disgusta mucho	0	0	0	5	5

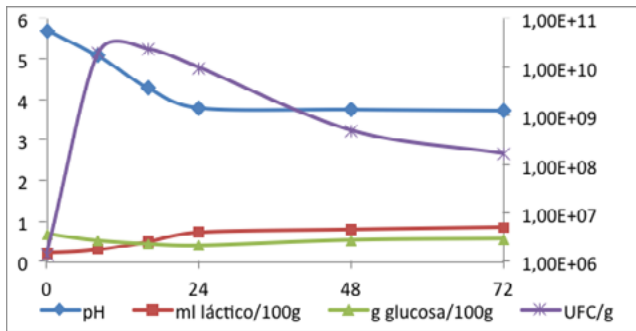


FIGURA 1. Evolución de los parámetros de fermentación

FIGURA 2. Queso de papa

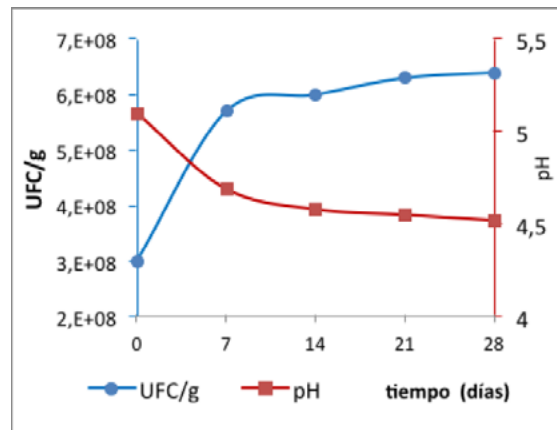
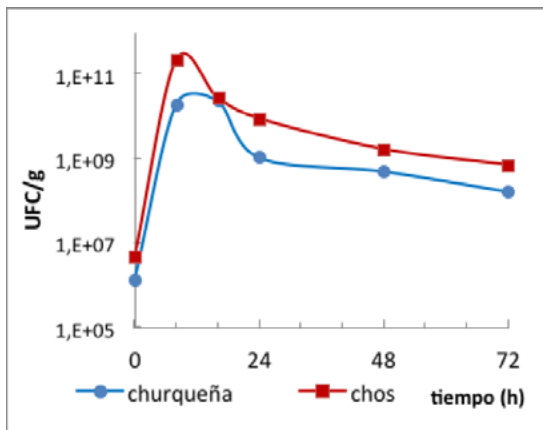


FIGURA 3. Izquierda: viabilidad celular en el puré de Churqueña y en el Queso de papa (chos:Churqueña+orégano+sal). Derecha: cambios en la concentración microbiana y el pH durante la conservación refrigerada a 4 °C del Queso de papa.

PROPIEDADES FÍSICAS DE PELÍCULAS BIODEGRADABLES DE ALMIDÓN DE YUCA Y QUITOSANO OBTENIDAS POR MOLDEADO POR COMPRESIÓN

Cristina Valencia-Sullca, Lorena Atarés, María Vargas, Amparo Chiralt

1. RESUMEN

La incorporación de quitosano en matrices de almidón se mostró eficaz en la mejora de las propiedades mecánicas de películas obtenidas por técnicas en húmedo. Sin embargo, no se dispone de información sobre las propiedades físicas de películas de almidón y quitosano obtenidas por técnicas en seco. En este trabajo, se obtuvieron películas de almidón de yuca, quitosano y plastificantes mediante moldeado por compresión. Se varió la proporción polímero-plastificante (70:30 o 60:40) y almidón-quitosano (100:0, 90:10, 80:20, 70:30) con el fin de observar el efecto de ambas sobre la humedad, permeabilidad al vapor de agua, propiedades mecánicas y ópticas. El aumento de la proporción de plastificante dio lugar a una mayor humedad de equilibrio y permeabilidad al vapor de agua, así como a un descenso significativo de la rigidez y de la resistencia a la fractura. La incorporación de quitosano en las películas promovió una mejora de las propiedades mecánicas, sin efecto en las propiedades de barrera al vapor de agua. Además, la adición de cantidades crecientes de quitosano dio lugar a un aumento significativo del brillo y del croma y a un descenso del índice de blancura. La incorporación de quitosano disminuyó la transmitancia interna de las películas, sobre todo al nivel más bajo de plastificante.

CONTACTO: Amparo Chiralt dchiralt@tal.upv.es

Departamento de Tecnología de Alimentos, Instituto de Ingeniería de Alimentos para el desarrollo, Universitat Politècnica de València.
Camino de Vera s/n 46022 Valencia, España.

2. INTRODUCCIÓN

Numerosos estudios se han enfocado en el desarrollo de películas biodegradables porque constituyen una alternativa atractiva y sostenible a los materiales plásticos convencionales. Por un lado, el empleo de materias primas de origen natural permite reducir la dependencia de materiales de origen petroquímico; por otro lado, pueden ayudar significativamente en la reducción de las consecuencias ambientales de los embalajes.

Diversas investigaciones se han centrado en la utilización de almidón de diferentes orígenes (maíz, yuca, trigo, arroz entre otros) para el desarrollo de materiales plásticos biodegradables. Este polímero es barato, abundante, biodegradable y fácilmente accesible (Mali *et al.*, 2006). Para convertir un almidón nativo en material bioplástico es necesario romper y fundir la estructura granular semicristalina del mismo. En este sentido, el almidón sin los aditivos adecuados (plastificantes) no tiene las propiedades necesarias para trabajar como un termoplástico, caracterizándose por ser susceptible al envejecimiento y la recristalización, además de presentar alta absorción de agua. Los plastificantes incrementan la flexibilidad del almidón debido a su habilidad para reducir la interacción de los enlaces de hidrógeno internos en la cadena del polímero, además de aumentar el espacio molecular (Thire *et al.*, 2003).

El quitosano es un polisacárido catiónico en medio ácido, derivado de la desacetilación de la quitina, un componente de las conchas de los crustáceos. Bonilla *et al.* (2013) caracterizaron películas con proporciones variables de almidón y quitosano obtenidas por técnicas en húmedo (*casting*), y observaron que aquellas con una proporción de quitosano de 20 % (wt) presentaban propiedades mecánicas mejoradas en comparación con las películas de almidón puro. Sin embargo, no se han encontrado estudios previos con películas de almidón y quitosano obtenidas por moldeo por compresión. El objetivo del presente trabajo fue analizar la permeabilidad al vapor de agua, comportamiento mecánico y propiedades ópticas de películas de almidón y quitosano en proporciones variables, obtenidas por moldeo por compresión. Adicionalmente se estudió el efecto de la proporción de plastificante sobre dichas propiedades.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

MATERIALES

El almidón de yuca (A) fue suministrado por Quimidroga S.A. (Barcelona, España), el quitosano (Q) de alto peso molecular, el polietilenglicol (PEG) por Sigma-Aldrich (Madrid, España) y el glicerol por Panreac Química S.A. (Barcelona, España).

PREPARACIÓN DE LAS FORMULACIONES Y OBTENCIÓN DE LAS PELÍCULAS

Se prepararon ocho formulaciones, cuatro de ellas con una proporción másica polímero: plastificante 70:30 (películas 70:30), y otras cuatro con una proporción 60:40 (películas 60:40). El plastificante fue siempre una mezcla de glicerol y PEG 75:25. Para cada una de estas dos series, se prepararon cuatro formulaciones con distinta proporción másica almidón: quitosano (100:0, 90:10, 80:20 y 70:30). Las formulaciones se obtuvieron mezclando la cantidad necesaria de cada uno de los componentes para obtener 40 g de mezcla.

Para la obtención de las películas, se utilizó una mezcladora μ -Scientific de dos rodillos (LABTECH Engineering, Tailandia). Las temperaturas de procesado fueron 160 °C para el rodillo delantero y 155 °C para el trasero. La velocidad de los rodillos fue 8 rpm. Se mezcló durante 30 minutos con cizalla para garantizar la mezcla de los componentes. Posteriormente, se almacenaron las masas durante 72 horas a 25 °C, en un desecador a 53 % de humedad relativa (HR), utilizando una disolución saturada de nitrato de magnesio 6-hidrato (Panreac Química, S.A. Castellar del Vallés, Barcelona, España). Se realizó el prensado de la masa en una prensa hidráulica μ -Scientific (LABTECH Engineering, Tailandia) a 160 °C. Para la obtención de cada película, se pesaron 4g de mezcla. Se precalentó ésta durante 5 minutos, se prensó durante 2 minutos a presiones bajas (30 bar) y durante 6 minutos a presiones altas (130 bar). Finalizado este tiempo, se enfrió la película hasta temperatura ambiente. Las películas obtenidas, con un espesor aproximado de 200 μ m, fueron almacenadas a 25 °C y 53 %HR durante una semana previamente a la realización de los análisis.

CARACTERIZACIÓN DE LAS PELÍCULAS

Contenido de humedad (X_w)

El contenido en humedad se determinó gravimétricamente en dos etapas: se secaron las muestras en una estufa de vacío (0.8 bar) a 60 °C durante 24 h (J.P. Selecta,

S.A. Barcelona, España), y posteriormente, se almacenaron en un desecador hermético con pentóxido de fósforo (Panreac Química, S.A. Castellar de Vallés, Barcelona) a 25 °C hasta masa constante. Se realizaron un mínimo de seis repeticiones por formulación.

Permeabilidad al vapor de agua (PVA)

La permeabilidad al vapor de agua de las películas se evaluó mediante una modificación del método gravimétrico ASTM E96-95 (Mc Hugh *et al.*, 1993) a 25 °C y un gradiente de HR 53 -100 %.

Propiedades mecánicas

Las propiedades mecánicas de las películas se determinaron con una prensa universal de ensayos mecánicos (Stable Micro Systems, TA.XT plus, Haslemere, England) de acuerdo al método estándar D882 (ASTM, 2002). Para cada formulación, se cortaron 10 muestras rectangulares (25 mm por 100 mm) con el fin de determinar su módulo de elasticidad (ME), tensión de fractura (TS) y porcentaje de extensibilidad (%E).

Propiedades ópticas

Los parámetros ópticos de las películas se obtuvieron 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). El brillo se midió usando un brillómetro de superficie (Multi.Gloss 268, Minolta, Alemania), de acuerdo al método estándar D523 (ASTM, 1999), variando el ángulo de incidencia de la luz.

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

PERMEABILIDAD AL VAPOR DE AGUA

En la Tabla 1 se muestran los resultados de la permeabilidad al vapor de agua (PVA) y la humedad en base seca (X_w) tras una semana de almacenamiento al 53 %HR y 25 °C.

Para todas las proporciones almidón-quitosano, la presencia de plastificante en mayor proporción (60:40) promovió una humedad significativamente superior, lo que está probablemente ligado a la naturaleza hidrofílica de los plastificantes adicionados. La proporción almidón-quitosano no afectó significativamente a los resultados de humedad.

La mayor proporción de plastificante favoreció a su vez la transferencia de vapor de agua a través de las películas. La incorporación de plastificante modifica la organización molecular, haciendo la estructura menos compacta y como consecuencia más permeable.

PROPIEDADES MECÁNICAS

La Tabla 2 muestra los valores de los parámetros mecánicos obtenidos para cada una de las formulaciones tras una semana de almacenamiento al 53 %HR y 25 °C.

Las películas con mayor proporción de plastificante (60:40) fueron menos rígidas y menos resistentes que las películas 70:30, coherentemente con su mayor nivel de plasticidad y de humedad. Por otro lado, y como tendencia general, a medida que aumentó la proporción de quitosano las películas adquirieron una mayor resistencia y rigidez, así como una menor extensibilidad. Estos resultados son coherentes con los obtenidos por Chio *et al.* (2008) en películas de almidón de yuca y quitosano obtenidas por *casting*.

PROPIEDADES ÓPTICAS

La Tabla 3 recoge los resultados de luminosidad, croma, tono, índice de blancura y brillo (a 60° y 80°) de las películas tras una semana de almacenamiento a 53 %HR y 25 °C. La Figura 1 muestra la transmitancia interna de las películas entre 400 y 700nm. La adición de quitosano supuso un descenso de la transmitancia interna de las películas, tanto más cuanto mayor fue su proporción para las películas 70:30. En general, a mayor contenido en plastificante valores más altos de transmitancia interna para una misma proporción A-Q.

Independientemente de la proporción de plastificante, a medida que se añadió una mayor proporción de quitosano se observó un descenso de la luminosidad, un aumento del croma y un descenso del tono, coherentemente con la adquisición de una coloración amarillenta más saturada. El índice de blancura fue menor en las películas con quitosano. Por otro lado, la proporción de quitosano provocó un ligero aumento del brillo, posiblemente ligado a una morfología superficial más lisa (Sánchez-González *et al.*, 2010).

5. CONCLUSIONES

El aumento de la proporción de plastificante en películas de almidón de yuca y quitosano, obtenidas por moldeo por compresión, dio lugar a una mayor humedad de equilibrio, peores propiedades barrera al vapor de agua y un descenso acusado de la rigidez y la resistencia a la fractura de las mismas. La incorporación de quitosano en las películas promovió una mejora de las propiedades mecánicas, sin efecto en las propiedades de barrera al vapor de agua. Además, la adición de cantidades crecientes de quitosano dio lugar a un aumento significativo del brillo y del croma, un descenso del índice de blancura y de la transmitancia interna de las películas.

AGRADECIMIENTOS

Las autoras desean expresar su agradecimiento por el apoyo financiero recibido de la Universitat Politècnica de València (PAID-06-11-2013) y el Ministerio de educación y Ciencia (AGL2010-20694). Valencia-Sullca agradece a PRONABEC la beca recibida para la realización de su tesis doctoral.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASTM (1995). Standard test methods for water vapor transmission of material. Standard Designation: E 96-95 Annual book of American society for testing materials. West Conshohocken, PA, USA.

ASTM. (1995). Standard test method for specular gloss. Standard Designation: D523-89 Annual book of American society for testing materials, West Conshohocken, PA, USA.

ASTM. (2002). Designation D882-46T. Standard method tensile properties of thin plastic sheeting EN: Annual book of American Standard Testing Methods.

- BONILLA, J.; Atarés, L.; Vargas, M.; Chiralt, A. (2013). Properties of wheat starch film-forming dispersions and films as affected by chitosan. *Journal of Food Engineering* 114 (3), 303-212.
- CHIO, S.; Flores, S.; Mastromatteo, M.; Conte, A.; Gershenson, L.; Del Nobile, M. (2008). Influence of glycerol and chitosan on tapioca starch base edible film properties. *J. Food Eng.* 88, 159-168.
- MALI, S., Grossmann, M. V. E., García, M. A., Martino, M. N., & Zaritzky, N. E. (2006). Effects of controlled storage on thermal, mechanical and barrier properties of plasticized films from different starch sources. *Journal of Food Engineering*, 75(4), 453-460.
- MC HUGH, T. H., Avena-Bustillos, R., & Krochta, J. M. (1993). Hydrophobic edible films: modified procedure for water vapour permeability and explanation of thickness effects. *Journal of Food Science*, 58(4), 899-903.
- SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L.; Cháfer, M.; Chiralt, A.; González-Martínez, C. (2010). Physical properties of edible chitosan films containing bergamot essential oil and their inhibitory action on *Penicillium italicum*. *Carbohydrate Polymers* 82; 277-283.
- THIRE, R., Simao, R. and Andrade, C. Investigation of the Surface Morphology of Plasticized Corn starch Films, *Act Microscopic*, 12 (1), 2003, p. 175-179.

7. TABLAS Y FIGURAS

TABLA 1. Permeabilidad al vapor de agua (PVA) y humedad en base seca (X_w) de películas de almidón de yuca con quitosano a 1 semana de almacenamiento. Valores medios y desviación estándar. A: Almidón de yuca; Q: Quitosano; P: Plastificante. La proporción de cada componente aparece como subíndice

Películas	X_w (g H ₂ O/g película seca)	PVA (g mm kPa ⁻¹ h ⁻¹ m ⁻²)
(A ₁₀₀ -Q ₀) ₇₀ -P ₃₀	10.4 (0.4) ^{(a)(x)}	16.4 (2.6) ^{(ace)(x)}
(A ₁₀₀ -Q ₀) ₆₀ -P ₄₀	12.4 (0.5) ^{(b)(y)}	21.3 (2.8) ^{(b)(y)}
(A ₉₀ -Q ₁₀) ₇₀ -P ₃₀	9.8 (0.5) ^{(a)(x)}	15.3 (0.) ^{(ac)(x)}
(A ₉₀ -Q ₁₀) ₆₀ -P ₄₀	12.8 (0.4) ^{(b)(y)}	18.6 (2.2) ^{(bde)(y)}
(A ₈₀ -Q ₂₀) ₇₀ -P ₃₀	9.7 (1) ^{(a)(x)}	14.1 (0.1) ^{(ab)(x)}
(A ₈₀ -Q ₂₀) ₆₀ -P ₄₀	12.2 (0.4) ^{(b)(y)}	19.5 (2) ^{(bde)(x)}
(A ₇₀ -Q ₃₀) ₇₀ -P ₃₀	9.9 (0.8) ^{(a)(x)}	14.7 (1.5) ^{(ac)(x)}
(A ₇₀ -Q ₃₀) ₆₀ -P ₄₀	12.4 (0.5) ^{(b)(y)}	17.5 (2.1) ^{(cd)(x)}

a, b, c, d, e. Diferentes superíndices dentro de una columna indican diferencias significativas entre formulaciones diferentes para un mismo tiempo de almacenamiento. ($p < 0.05$).

x, y. Diferentes superíndices indican diferencias significativas en función de la proporción polímero:plastificante para una misma proporción A-Q.

TABLA 2. Módulo de elasticidad (ME), tensión de fractura (TS) y porcentaje de extensibilidad (%E) de películas de almidón de yuca y quitosano. Valores medios y desviación estándar.

A: Almidón de yuca; Q: Quitosano; P: Plastificante. La proporción de cada componente aparece como subíndice

Películas	ME (MPa)	TS (MPa)	E (%)
(A ₁₀₀ -Q ₀) ₇₀ -P ₃₀	142.9 (14.18) ^{(ab)(x)}	10.2 (1) ^{(a)(x)}	27.1 (0.2) ^{(a)(x)}
(A ₁₀₀ -Q ₀) ₆₀ -P ₄₀	28 (3.9) ^{(d)(y)}	5.3 (0.5) ^{(d)(y)}	27.2 (0.3) ^{(a)(x)}
(A ₉₀ -Q ₁₀) ₇₀ -P ₃₀	237.7 (26.8) ^{(e)(x)}	12.9 (1.3) ^{(e)(x)}	20.7 (2.7) ^{(d)(x)}
(A ₉₀ -Q ₁₀) ₆₀ -P ₄₀	182.7 (22.5) ^{(a)(y)}	7.8 (0.7) ^{(bc)(y)}	7.9 (1) ^{(b)(y)}
(A ₈₀ -Q ₂₀) ₇₀ -P ₃₀	417.7 (54.7) ^{(f)(x)}	17.3 (2.4) ^{(f)(x)}	12.5 (0.5) ^{(c)(x)}
(A ₈₀ -Q ₂₀) ₆₀ -P ₄₀	142.6 (18.8) ^{(ac)(y)}	8.8 (0.5) ^{(ab)(y)}	13.5 (0.7) ^{(c)(x)}
(A ₇₀ -Q ₃₀) ₇₀ -P ₃₀	832.5 (44.9) ^{(g)(x)}	25.8 (2.3) ^{(g)(x)}	7 (0.4) ^{(b)(x)}
(A ₇₀ -Q ₃₀) ₆₀ -P ₄₀	117.2 (7.8) ^{(bc)(y)}	9.7 (0.8) ^{(ac)(y)}	15.3 (2.1) ^{(e)(y)}

a, b, c, d, e. Diferentes superíndices dentro de una columna indican diferencias significativas entre formulaciones diferentes para un mismo tiempo de almacenamiento. (p < 0.05).

x, y. Diferentes superíndices indican diferencias significativas en función de la proporción polímero:plastificante para una mismo proporción A-Q.

TABLA 3. Luminosidad (L*), Croma (C*_{ab}), tono (h*_{ab}), índice de blancura (IB) y brillo de las películas tras una semana de almacenamiento a 53 %HR y 25 °C. A: Almidón de yuca; Q:

Quitosano; P: Plastificante. La proporción de cada componente aparece como subíndice

Películas	Luminosidad (L*)	Croma (C* _{ab})	tono (h* _{ab})	Índice de blancura (IB)	Brillo 60°	Brillo 85°
(A ¹⁰⁰ -Q ⁰) ₇₀ -P ₃₀	74.4 (0.3) ^{(c)(x)}	8.1 (0.3) ^{(a)(x)}	84.4 (0.1) ^{(c)(x)}	73.1 (0.4) ^{(a)(x)}	6.4 (1) ^{(ab)(x)}	14.3(1.3) ^{(a)(x)}
(A ¹⁰⁰ -Q ⁰) ₆₀ -P ₄₀	73.3 (0.3) ^{(d)(y)}	8.3 (0.2) ^{(a)(x)}	85.4 (0.4) ^{(d)(y)}	72 (0.3) ^{(a)(x)}	5.9 (0.7) ^{(b)(x)}	8.9 (1.2) ^{(d)(y)}
(A ⁹⁰ -Q ¹⁰) ₇₀ -P ₃₀	62.7 (0.5) ^{(a)(x)}	24.5 (0.6) ^{(d)(x)}	73.9 (0.4) ^{(a)(x)}	55.3 (0.7) ^{(c)(x)}	7.1 (0.6) ^{(ac)(x)}	13.2 (0.6) ^{(a)(x)}
(A ⁹⁰ -Q ¹⁰) ₆₀ -P ₄₀	59.1 (0.4) ^{(b)(y)}	28.8 (0.6) ^{(c)(y)}	71.7 (0.5) ^{(b)(y)}	50 (0.7) ^{(b)(y)}	7.3 (0.8) ^{(ce)(x)}	16.8(1.8) ^{(bc)(y)}
(A ⁸⁰ -Q ²⁰) ₇₀ -P ₃₀	58.8 (0.7) ^{(b)(x)}	29.8 (0.6) ^{(b)(x)}	69.9 (0.4) ^{(e)(x)}	49.2 (0.9) ^{(b)(x)}	9 (0.9) ^{(d)(x)}	21.9 (1.8) ^{(e)(x)}
(A ⁸⁰ -Q ²⁰) ₆₀ -P ₄₀	63 (0.3) ^{(a)(y)}	27.5 (0.8) ^{(e)(y)}	74.4 (0.2) ^{(a)(y)}	54 (0.5) ^{(d)(y)}	7.4 (0.) ^{(ce)(y)}	16.3 (1.6) ^{(b)(y)}
(A ⁷⁰ -Q ³⁰) ₇₀ -P ₃₀	52.8 (0.2) ^{(e)(x)}	32.2 (0.7) ^{(f)(x)}	66.7 (0.4) ^{(f)(x)}	43.2 (0.03) ^{(e)(x)}	9.3 (1) ^{(d)(x)}	26.6 (3) ^{(f)(x)}
(A ⁷⁰ -Q ³⁰) ₆₀ -P ₄₀	62.1 (1) ^{(a)(y)}	29.5 (0.1) ^{(bc)(y)}	71.5 (0.4) ^{(b)(y)}	51.7 (0.9) ^{(f)(y)}	8 (0.8) ^{(e)(y)}	18.1 (1.7) ^{(c)(y)}

a, b, c, d, e. Diferentes superíndices dentro de una columna indican diferencias significativas entre formulaciones diferentes para un mismo tiempo de almacenamiento. (p < 0.05).

x, y. Diferentes superíndices indican diferencias significativas en función de la proporción polímero:plastificante para una mismo proporción A-Q.

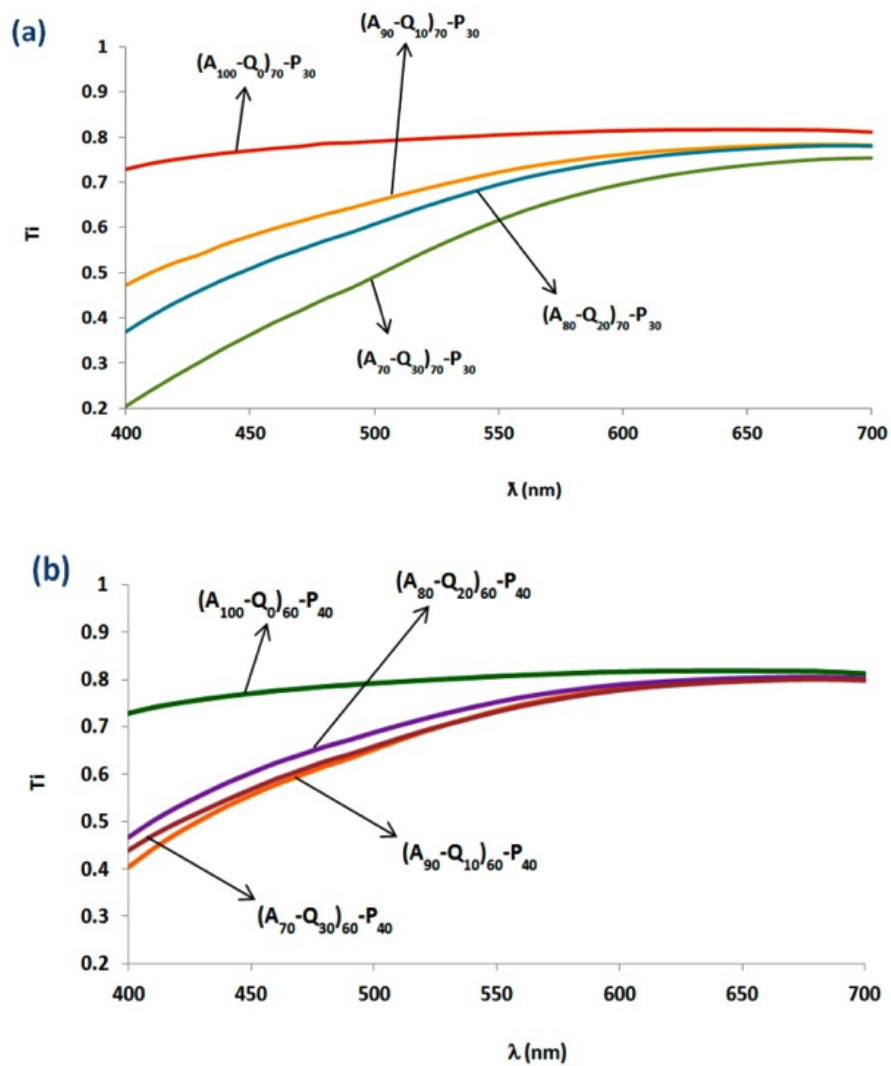


FIGURA 1. Curvas típicas de transmitancia interna (T_i) para cada película. (a) Proporción polímero: plastificante 70:30. (b) Proporción polímero: plastificante 60:40. A: Almidón de yuca; Q: Quitosano; P: Plastificante. La proporción de cada componente aparece como subíndice

PHYSICAL PROPERTIES OF PEA STARCH AND PEA STARCH: CHITOSAN FILMS AS AFFECTED BY TANNIC ACID ADDITION

Emma Talón¹, Kata T. Trifković², Chelo González-Martínez¹, María Vargas¹, Amparo Chiralt¹

1. ABSTRACT

Starch and chitosan are biodegradable biopolymers with film-forming ability. In previous studies, the addition of chitosan to wheat starch-based film-forming solutions led to a slight improvement in the mechanical properties of the films, although the water barrier properties of the films were worsened due to the highly hydrophilic nature of chitosan. Tannic acid (TA), which is a polyphenol with antioxidant activity, can interact with macromolecules such as chitosan by means of crosslinking reactions. This in turn can affect the water vapour permeability and mechanical properties of chitosan-based films. However, the effect of tannic acid (TA) incorporation on the properties of pea starch (PS):chitosan (CH) films has not been evaluated yet, to the best of our knowledge. The aim of this work was to evaluate the impact of the addition of TA on the physical properties of CH and PS:CH films. High molecular weight CH films and PS:CH films (4:1 ratio) with and without TA (polymer: TA ratio 1:0.04) were prepared by casting and keeping the total amount of polymer constant. Films were conditioned at 25 °C and 75 % relative humidity for at least 15 days prior evaluating the optical and mechanical properties together with water vapour permeability of the films. The addition of TA led to a reduction in the internal transmittance values of the films, and a decrease in lightness and hue as compared to pure polymer films. PS:CH films had a signi-

CONTACTO: Amparo Chiralt dchiralt@tal.upv.es

1. Universitat Politècnica de València – Institute of Food Engineering for Development (IAD), Camino de Vera s/n, 46022 Valencia, Spain.

2. University of Belgrade – Faculty of Technology and Metallurgy, Department of Chemical Engineering, Karnegijeva 4, 11000 Belgrade, Serbia.

ificantly lower equilibrium moisture content (EMC) than CH films. The addition of TA led to slightly decrease in the equilibrium moisture content of both CH and PS:CH films. Water vapour permeability values of PS:CH were significantly lower as compared to CH films. In both polymer matrices, WVP was not significantly affected by TA addition ($p < 0.05$).

2. INTRODUCTION

Tannic acid is a polyphenol naturally found in some green leaves such as tea, thyme and spinach and in wine and dark grapes among others. This food ingredient exhibits interesting antimicrobial antioxidant properties, which could be used to develop biodegradable films with functional properties to be used in food preservation.

Chitosan and starch are interesting film-forming compounds, since they are odourless, tasteless and biodegradable. They present a great potential for a wide range of food applications due to their biocompatibility, non-toxicity, low cost of application and excellent film forming capacity (Vargas *et al.*, 2008). Both polymers yield films with very efficient oxygen, carbon dioxide and lipid barrier. However, they are highly permeable to water vapour, which is an important drawback that limits their application (Vargas *et al.*, 2009; Jiménez *et al.*, 2012), since in most food applications an effective control of moisture transfer is desirable.

In previous studies, the addition of chitosan to wheat starch-based film-forming solutions led to a slight improvement in the mechanical properties of the films, although the water barrier properties of the films were worsened due to the highly hydrophilic nature of chitosan (Bonilla *et al.*, 2013a). Tannic acid (TA) is able to interact with macromolecules such as chitosan by means of crosslinking reactions, which can affect the water vapour permeability and/or the mechanical properties of chitosan-based films (Rivero *et al.*, 2010). However, the effect of tannic acid (TA) incorporation on the properties of pea starch (PS):chitosan (CH) films has not been evaluated yet, to the best of our knowledge.

The aim of this work is to analyse the effect of tannic acid incorporation on the optical and water barrier properties of chitosan and chitosan-starch based films.

3. MATERIALS AND METHODS

MATERIALS

For preparation of the films were used native pea starch (PS) (Roquette Laisa SA Benifaió, Valencia, Spain), high molecular weight chitosan (CH) (Batch MK-BH5816V), tannic acid, (Sigma–Aldrich, Madrid, Spain), glycerol, glacial acetic acid and NaCl (Panreac Química SA, Castellar del Vallès, Barcelona, Spain).

EXPERIMENTAL DESIGN AND PREPARATION OF THE FILMS

CH was dispersed at 2 % (w/w) in an aqueous solution of glacial acetic acid (2 % v/w) under magnetic stirring at 40 °C and 150 rpm for 24 h. On the other hand, PS was diluted at 2 % (w/w) in distilled water, and was heated in a water bath at 95 °C for 30 min to promote starch gelatinization. Two solutions were mixed in a mass ratio PS:CH of 4:1 and 0:1. This film forming-dispersions (FFDs) were named as PS:CH and CH, respectively. Tannic acid (TA) was added in both formulations in a mass ratio polymer:TA of 1:0.04, hence two FFDs were obtained, namely CH:TA and PS:CH:TA (pea starch:chitosan:tannic acid). In all formulations glycerol was added in a polymer:glycerol ratio 1:0.2. All FFDs were homogenised using rotor–stator equipment (Yellow Line DL 25 Basic, IKA, Janke y Kunkel, Germany) at 13,400 rpm for 4 min and degassed at room temperature by means of a vacuum pump. To obtain the films, the FFDs were casted in PTFE plates (150 mm of diameter, 1 g polymer per plate in all cases). After drying for 72 h at 25 °C and 50 % RH, the films were removed from the plates and conditioned at 25 °C–75%RH in cabinets containing saturated solutions of NaCl for at least one week prior performing the analyses.

CHARACTERISATION OF THE FILMS

Film thickness

The film thickness was measured using a Palmer digital micrometer (Comecta, Barcelona, Spain) to the nearest 0.001 mm. Values were taken randomly in at least 5 different positions.

Optical properties

The reflectance spectra of the films was obtained by means of a spectrophotometer (model CM3600d, Minolta, Tokyo, Japan), with illuminant D65 and observer 10°.

The measurements were taken in three random points on the surface exposed to atmosphere during film drying and over both black and white background (standards). The level of transparency / opacity of the sample was evaluated through the internal transmittance spectra, calculated by applying Kubelka-Munk Theory for light scattering (Hutchings, 1999). The reflectance spectra of an infinitely thick layer of the material were used to obtaining CIE Lab colour coordinates (L^* , a^* , b^*), and chromatics parameters, Croma (C^*_{ab}). Gloss was measured with a gloss meter (Multi-Gloss 268, Konica Minolta, Langenhagen, Germany) at 20 °, 60 ° and 85 ° and over a standard matte background according to ASTM D523 (1999) in two films per formulation. Six measurements were taken on the side of the film exposed to the atmosphere during the drying process.

Water vapour permeability

Water vapour permeability (WVP) was determined gravimetrically at 20 °C and 75-100 %RH gradient, using a modification of the ASTM E96-95 gravimetric method (ASTM, 1995) for hydrophilic film. Payne permeability cups of 3.5 cm in diameter (Elcometer SPRL, Hermelle/s Argenteau, Belgium) were filled with 5 mL of distilled water (100 %RH). The films were secured and the cups were placed in pre-equilibrated cabinets fitted with a fan. The RH of the cabinets was held constant at 75 %RH using a saturated solution of NaCl. The cups were weighted periodically after the steady state had been reached. WVP was calculated with the equations described by Vargas *et al.*, (2009). Six replicates per formulation were made.

STATISTICAL ANALYSIS

Statistical analysis was performed through an analysis of variance (ANOVA) using Statgraphics Plus (ManugisticsCorp., Rockville, MD). Fisher's least significant difference (LSD) procedure was used.

4. RESULTS AND DISCUSSION

Table 1 shows the thickness, equilibrium moisture content (EMC) and WVP values of the different films. Values obtained for pure CH films and for t CH-PS films were in agreement with those obtained in previous studies carried out with wheat starch and chitosan composite films (Bonilla *et al.*, 2013b).

The CH-PS films presented significantly lower values of thickness, EMC and WVP than pure CH films ($p < 0.051$). These facts reveal the presence of intermolecular interactions between both polymers, mainly being hydrogen bonds (Xua *et al.*, 2005).

The addition of tannic acid to pure CH films did not significantly change the thickness, WVP and EMC values of the films. Moreover, the incorporation of tannic acid to the CH-PS mixture did not induce changes in these values. Rivero *et al.* (2010) reported that the addition of and tannic acid (TA) to CH films slightly decreased the WVP values of the CH films but no indication about the statistical significance of the change was shown.

The effect of the addition of the different components in the optical properties of the films can be observed in Table 2 and Figure 1, where the internal transmittance (T_i) of the samples as a function of wave length is plotted. As can be observed, the major changes were observed in hue, chroma and T_i values. The results showed that the addition of TA led to a reduction in the internal transmittance (related to the transparency), lightness, chroma and hue values of the films, as compared to pure polymer films (CH and CH:PS) in accordance with the colour developed by this phenolic compounds.

5. CONCLUSIONS

The incorporation of tannic acid to both polymer matrixes (pure chitosan and chitosan-starch) did not induce significant changes in the water barrier properties of the films. Nevertheless, the optical properties (lightness, hue and chroma values) of tannic acid films decreased due to the inherent colour of the phenolic compound used.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors acknowledge the financial support provided by the Spanish Ministerio de educación y Ciencia (AGL2010-20694). E. Talon thanks Universitat Politècnica València for the FPI grant.

6. REFERENCES

- ASTM. (1995). Standard test methods for water vapor transmission of materials. Standard designations: E96-95. In Annual Book of ASTM Standards (pp. 406-413). Philadelphia: ASTM.
- BONILLA, J., Atarés, L., Vargas, M., Chiralt, A. (2013a). Properties of wheat starch filmforming dispersions and films as affected by chitosan addition. *Journal of Food Engineering* 114, 303–312.
- BONILLA, J.; Talón, E.; Atarés, L.; Vargas, M.; Chiralt, A. (2013b) Effect of the incorporation of antioxidants on physicochemical and antioxidant properties of wheat starch-chitosan film. *Journal of Food Engineering*, 218, 271-278.
- HUTCHINGS, J. B. (1999). Food and colour appearance. (2nd ed.). Gaithersburg: Aspen Publication.
- JIMÉNEZ, A., Fabra, M.J., Talens, P., Chiralt, A. (2012) Edible and Biodegradable Starch Films: A Review. *Food and Bioprocess Technology*, 5, 2958-2076.
- RIVERO, S., García, M.A., Pinotti, A. (2010). Crosslinking capacity of tannic acid in plasticized chitosan films. *Carbohydrate Polymers*, 82,(2), 5, 270–276.
- XUA, Y.X, Kimb, K.M , Hannaa, M.A., Nage, D. (2005) Chitosan–starch composite film: preparation and characterization. *Industrial Crops and Products*, 21 (2), 185–192.
- VARGAS, M., Pastor, C.; Chiralt, A.; McClements, D.J.; González-Martínez, C. (2008) Recent advances in edible coatings for fresh and minimally processed fruits. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 38, 496-511.
- VARGAS, M, Albors, A., Chiralt, A., González-Martínez, C. (2009) Characterization of chitosan-oleic acid composite films. *Food Hydrocolloids*, 23, 536-547.

7. TABLES AND FIGURES

TABLE 1. Thickness, water vapour permeability (WVP) and equilibrium moisture content of the films. Mean values and standard deviation in brackets

Film	Thickness (mm)	WVP ($\times 10^{10}$) ($\text{g}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{Pa}^{-1}$)	EMC (g water/g polymer)
CH	0.090 (0.011) ^c	32 (4.8) ^b	0.242 (0.001) ^d
CH:TA	0.091 (0.008) ^c	33 (5.6) ^b	0.220 (0.007) ^c
CH:PS	0.058 (0.002) ^a	27 (9) ^a	0.142 (0.005) ^b
CH:PS:TA	0.064 (0.006) ^b	26 (10) ^a	0.131 (0.003) ^a

TABLE 2. Lightness (L^*), hue (h^*_{ab}), chroma (C^*_{ab}), whiteness index (WI) and gloss. Mean values and standard deviation in brackets

Film	L^*	h^*_{ab}	C^*_{ab}	WI	Gloss
CH	72 (2) ^b	90 (0.3) ^c	21 (0.3) ^d	65 (1) ^b	22 (7) ^a
CH:TA	61 (3) ^a	74 (2) ^a	16 (0.7) ^c	58 (2) ^a	37 (19) ^c
CH:PS	80 (1) ^c	96 (0.8) ^d	10 (1) ^a	78 (0,6) ^d	34 (11) ^{bc}
CH:PS:TA	71 (2) ^b	80 (2) ^b	14 (0.3) ^b	68 (2) ^c	25 (8) ^{ab}

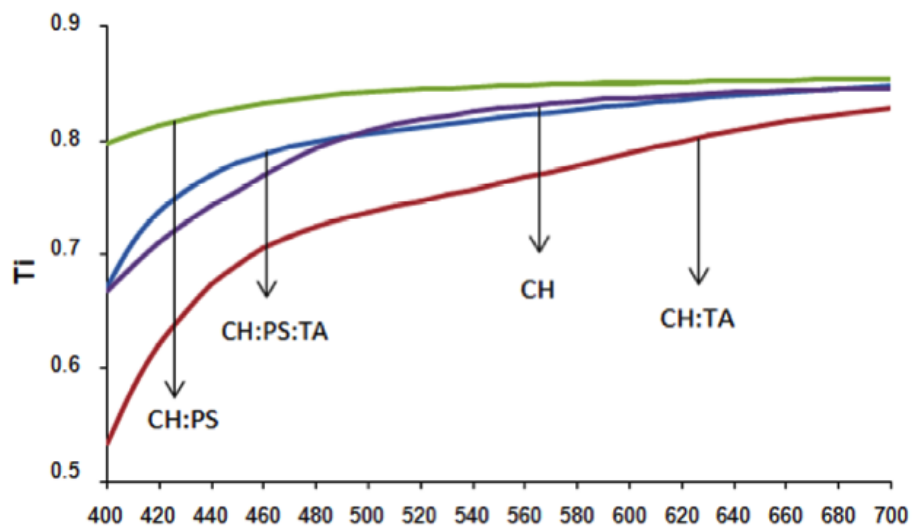


FIGURE 1. Internal transmittance of the films (T_i) as a function of wave length

FILMS COMESTIBLES DE WPC PARA EXTENDER LA VIDA ÚTIL DE GALLETITAS DULCES

Juan Pablo Cecchini¹, María Julia Spotti¹, Carlos Osella¹, Viviana Guadalupe Milt², Carlos Carrara¹

1. RESUMEN

En el siguiente trabajo se presenta un nuevo enfoque para la conservación de la textura de galletitas dulces basado en el agregado de un recubrimiento comestible. Se evaluaron 3 soluciones filmogénicas en base a concentrados de proteínas de suero lácteo (WPC), Glicerol, un emulsionante Tween 80 y Goma Guar. Se evaluaron las propiedades de los films en forma individual y su aplicación por inmersión en galletitas dulces tipo Mar del Platin hornear, que luego fueron cocinadas durante 6 min a 200 °C. Se analizó % de Humedad, a_w , absorción de agua y esfuerzo a la penetración, y se las comparó con galletitas sin recubrimiento o control. Los films individuales se estudiaron mediante ensayos de propiedades mecánicas, solubilidad y microscopía óptica.

El análisis de los films individuales indicó que presentaron una solubilidad mayor al 55 %, el agregado de goma guar mejora la resistencia a la tracción y aumenta su capacidad de deformarse. Los resultados de los recubrimientos sobre las galletitas mostraron que no fueron efectivos, debido al método de aplicación, ya que su humedad inicial fue alta por la absorción de agua al aplicar el recubrimiento y esto influyó negativamente en la propiedad textural determinada.

2. INTRODUCCIÓN

Los productos de panadería como las galletitas dulces presentan una textura crujiente característica. El almacenamiento de las mismas a altas humedades relativas

CONTACTO: Juan Pablo Cecchini jpcecchini@outlook.com

1. Instituto de Tecnología de Alimentos, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina.

2. Facultad de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina.

puede producir la pérdida de frescura y el consiguiente ablandamiento de la textura debido a la absorción de agua. En los últimos años ha recibido gran atención de los investigadores y la industria el uso potencial de films comestibles para controlar la transferencia de agua y mejorar la calidad y vida útil de los alimentos. Las películas comestibles son materiales que pueden ser consumidos y sirven de barrera a la humedad, el oxígeno y/o solutos en el alimento, brindan protección mecánica y poseen una determinada solubilidad en agua a la vez deben ser transparentes, no otorgar sabor ni olor ajeno al alimento y no ser detectados durante su consumo. El objetivo de este trabajo fue evaluar la eficacia de los recubrimientos comestibles aplicados a galletitas en el control de la transferencia de humedad produciendo una mínima o nula alteración en sus propiedades características (Bravin, B. 2005; Altamirano-Fortoul, R. 2012; Spotti, M.L. 2014).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Se evaluaron 3 soluciones filmogénicas en base a concentrados de proteínas de suero lácteo (WPC, provisto por Arla Food): (E1), con 15,1 % de sólidos y composición base seca (bs) de: 65,6 % de WPC, 13,2 % de Glicerol (Cicarelli) y 13,2 % Cera de abejas obtenida del mercado local y 7,9 % de Tween 80 (Anedra). (E2) con 12,7 % de sólidos y composición en bs: 56,0 % de WPC, 15,8 % de Glicerol, 15,8 % de Cera, 9,5 % de Tween y 1,9 % de Goma Guar (Procol U, Polypro International, Inc EEUU) y la formulación (E3) con similar composición a (E2), pero incrementando el contenido de Goma Guar al 3,4 %, con el objetivo de aumentar la viscosidad de las soluciones. Luego de disolver los componentes, se llevaron las soluciones a baño maría a 90 °C por 30 min, luego se emulsionó la cera durante 4 min en un homogeneizador Baring Blender. Parte de las emulsiones se volcaron en placas de Petri de manera de obtener films de 1g de sólidos secos y se secaron primero a 40 °C por 5h y posteriormente a temperatura ambiente durante un día. Otra porción se utilizó para su aplicación por inmersión en galletitas dulces tipo Mar del Plata sin hornear, que luego fueron cocinadas durante 6 min a 200 °C, junto con galletitas sin recubrimiento o de control (E0). El peso promedio de las galletitas recién horneadas fue de $7,54 \pm 0,31$ g y sus dimensiones fueron de 40 ± 5 mm de diámetro y $8,7 \pm 2,5$ mm de ancho. Luego de la cocción, se dejaron enfriar, se inspeccionaron visualmente y se evaluaron distintas propiedades.

ENSAYOS REALIZADOS SOBRE LOS FILMS

- *Determinación de espesor*, el espesor se midió con un micrómetro de precisión Testing Machine Inc. en 9 posiciones por película y luego se calculó el valor promedio. Dicho valor fue empleado en los cálculos posteriores.

- *Propiedades mecánicas*, se empleó una máquina universal Instron (Series 3340). Las probetas cortadas de 7mm x 60mm que se usaron en el ensayo de tracción fueron acondicionadas durante 1 día a 25 °C y 58 %HR y equilibradas al ambiente de ensayo por 2h a 22 °C y 50 %HR en promedio, la velocidad fue de 0,05mm/s y la distancia entre mordazas de 30 mm.

En el ensayo de penetración sobre films, las muestras con 9 cm de diámetro se colocaron en un soporte de polietileno de alta densidad con una cavidad de 5 cm de diámetro que fija el film en sus bordes. Las películas se orientaron con la superficie que estuvo expuesta al aire durante el proceso de secado al exterior. El mismo se realizó utilizando un punzón de 2 mm de diámetro, el cual bajó a una velocidad de 0,8 mm/s hasta atravesar la película en el centro.

- *Solubilidad en agua*, utilizando una variante del método empleado por Soazo (2011). Se cortaron los films en rectángulos de 7,5 mm × 15 mm, se secaron a 70 °C por 24h y se agregaron a 50g de agua destilada y se los dejó durante 24h a 25 °C, luego se filtraron al vacío y se secaron en estufa a 70 °C por 24h, el % de solubilidad se obtiene por diferencia de pesada entre la muestra inicial y final, y el filtro (previamente secado a 70 °C y pesado).

- *Microscopía óptica*, para la visualización de las películas mediante microscopía óptica (Leica DM Microsystems Inc., Alemania), se utilizaron pequeñas porciones de muestra de los films, que se colocaron sobre un portaobjetos limpio y seco. Se observaron en aumentos de 40X y se tomaron fotografías de cada aumento.

ENSAYOS REALIZADOS SOBRE GALLETITAS

- *% Humedad*, obtenido por pesada luego de haber sometido las mismas en una estufa a 110 °C durante 1h y hasta pesada constante.

- *aw*, se determinó la actividad de agua en el centro de las galletitas luego de obtenidas a 25 °C utilizando un equipo Aqualab Systems.

- *Absorción de agua*, las galletitas se colocaron en forma vertical sin contacto unas con otras en un recipiente cerrado con una solución saturada de NaCl a 75,1 %HR en una estufa a 32,5 °C, determinando el peso por un periodo de 15 días.

- *Esfuerzo a la penetración*, se utilizó una máquina universal de ensayos INSTRON, con un punzón de 4,4 mm de diámetro, a una velocidad fue de 1mm/s; colocando la muestra sobre un soporte de polietileno de alta densidad con una cavidad central.

Todos los ensayos se evaluaron al menos por cuadruplicado al comienzo y a los 15 días de acuerdo al ensayo de absorción de agua.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los ensayos mecánicos de las películas están directamente relacionados con la durabilidad y la integridad del alimento, por lo tanto lo que se persigue es obtener cubrimientos con mayor resistencia y flexibilidad posible. Las mediciones realizadas sobre los films en forma individual indican, según lo mostrado en Tabla 1, que el aumento en la proporción de goma guar aumenta todas las propiedades mecánicas determinadas. Los recubrimientos hechos con la preparación E1, sin goma, resultaron ser demasiado frágiles al retirarlos de la caja de Petri, lo cual imposibilitó la determinación de sus propiedades mecánicas. Los ensayos de solubilidad indicaron que todos los films fueron parcialmente solubles tal como se muestra Tabla 2, alcanzando el máximo de solubilidad en la muestra E2 y mantuvieron su integridad durante los ensayos. La solubilidad es una propiedad importante ya que afecta el uso del film, por ejemplo las muestras con alta humedad requerirán films insolubles. Si bien en las muestras estudiadas la solubilidad es mayor al 55 % la aplicación en un material de baja humedad como las galletitas no se verá comprometida.

Las micrografías de los films se presentan en la Figura 1, puede observarse en las figuras correspondientes a E2 y E3 una mejor dispersión de las partículas de cera y las mismas son más pequeñas.

Para las galletitas, los resultados mostraron que los ensayos con los films presentaron más alta humedad inicial (Figura 2) para luego equilibrarse a un valor aproximado del 15 %. La muestra E0 aumentó su peso absorbiendo agua, la muestra E3 perdió peso (Figura 4) y las muestras E2 y E3 presentaron una mínima variación de peso. Estos resultados indican que la masa de las galletitas absorbió el agua en la inmersión de la solución filmogénica y luego no se perdió en el horneado. La aw presentó un comportamiento similar (Figura 3).

El esfuerzo a la penetración estuvo relacionado al contenido de humedad, para E0 fue de 13,42 N en tanto que para E1, E2 y E3 rondaron valores de 2,25 a 2,46 N; a los 15 días E0 disminuyó a 0,83 N, E1 y E2 se mantuvieron en los valores iniciales y la E3 registró un aumento a 5,6 N. Visualmente no se observaron diferencias de color sino de mayor luminosidad y brillo en las muestras con agregado de los recubrimientos, debido a la presencia de la cera.

5. CONCLUSIONES

El agregado de goma guar mejora las propiedades mecánicas de las películas otorgándole mayor resistencia a la tracción y mayor capacidad de deformación. Respecto a los resultados sobre las galletitas, la forma de aplicación del recubrimiento antes de la etapa de cocción no fue efectiva a los objetivos planteados, dado que impidió que la muestra se secase en la cocción modificando de esta manera la textura característica, este inconveniente se podría resolver modificando la técnica operativa, por ejemplo utilizando un rociado en spray en la aplicación de las emulsiones o modificando la relación temperatura-tiempo de cocción.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALTAMIRANO-FORTOUL, R. Moreno-Terrazas, A. Quezada-Gallo, C.M. Rosell. (2012). "Viability of some probiotic coatings in bread and its effect on the crust mechanical". *Properties Food Hydrocolloids* 29:166-174
- BRAVIN, B., D. Peressini, A. Sensidoni. (2006). "Development and application of polysaccharide-lipid edible coating to extend shelf-life of dry bakery products". *Journal of Food Engineering*. 76:280-290.
- SOAZO, M., A.C. Rubiolo, R.A. Verdini. (2011). "Effect of drying temperature and beeswax content on physical properties of whey protein emulsion films". *Food Hydrocolloids* 25:1251-1255.
- SPOTTI, M.L. (2014). "Desarrollo de films comestibles a base de proteínas y polisacáridos". Tesina de Licenciatura en Biotecnología. Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas. Universidad Nacional del Litoral.

7. TABLAS Y FIGURAS

TABLA 1. Ensayos mecánicos sobre films

Muestra	Carga Máx. a la tracción (N)	Esfuerzo (Mpa)	Deformación de Hencky	Carga Máx. a la penetración(N)	Espesor (mm)
E1	Nd	nd	nd	nd	nd
E2	1,363±0,086	0,351±0,130	0,047±0,013	0,808±0,211	0,1840±0,0169
E3	1,600±0,376	0,557±0,362	0,057±0,030	1,663±0,251	0,1783±0,0165

nd, no determinado

TABLA 2. Prueba de solubilidad en agua

Muestra	% Solubilidad
E1	55,72±2,92
E2	67,08±2,93
E3	63,86±7,63

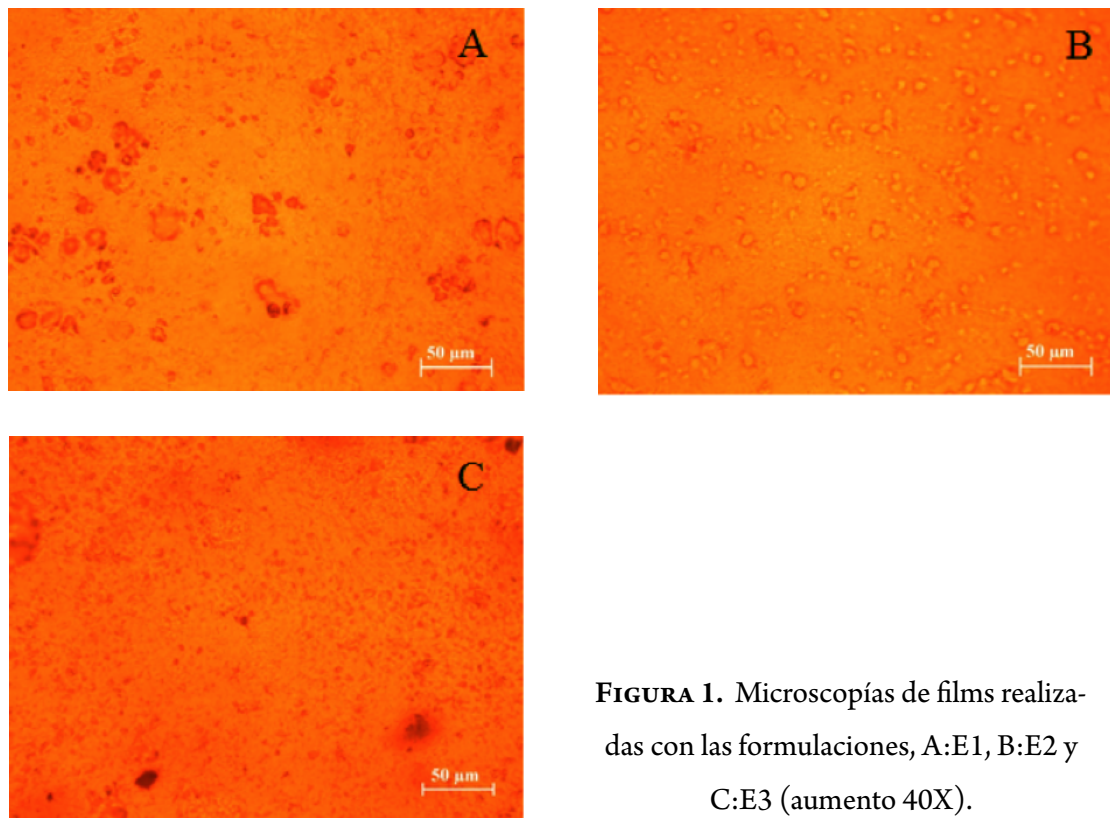


FIGURA 1. Microscopías de films realizadas con las formulaciones, A:E1, B:E2 y C:E3 (aumento 40X).

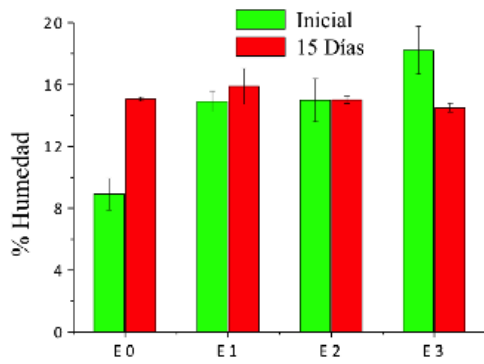


FIGURA 2. Porcentaje de humedad de galletitas al inicio ($t=0$) y a los 15 días.

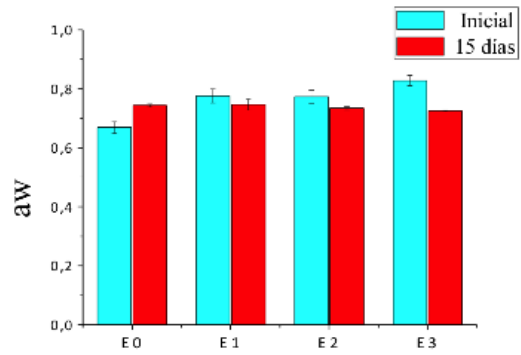


FIGURA 3. Actividad de agua de galletitas al inicio ($t=0$) y a los 15 días.

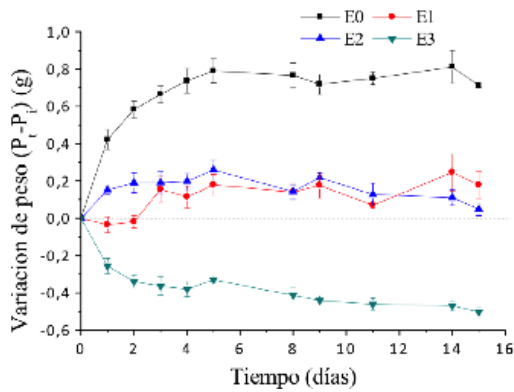


FIGURA 4. Variación de la masa (%) en función del tiempo (P_i peso inicial, P_t peso al tiempo determinado)

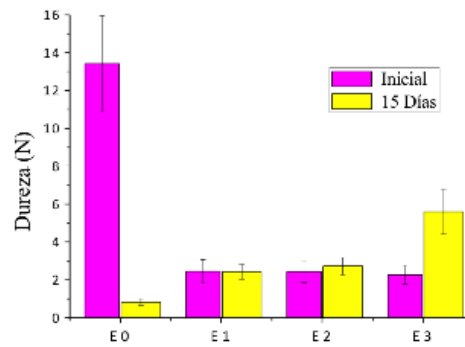


FIGURA 5. Dureza obtenida del ensayo de penetración al inicio ($t=0$) y a los 15 días.

CAMBIOS EN LAS PROPIEDADES FUNCIONALES DE QUESO TIPO MOZZARELLA ELABORADO CON LECHE TRATADA POR TERMOSONICACIÓN

Mayra Guadalupe Pérez Mata¹, Irving Israel Ruiz López¹, Edith Corona Jiménez¹, Aurora Quintero Lira², Héctor Ruiz Espinosa¹

1. RESUMEN

Las características de quesos elaborados con leche sometida a un tratamiento de termosonicación (pasteurización asistida con ultrasonido de potencia, TS) fueron comparadas con aquellos elaborados con leche tratada por pasteurización térmica con la finalidad de observar posibles cambios asociados a la aplicación de esta tecnología mixta de conservación. Se estandarizó leche cruda de vaca (3 % grasa) y se sometió a ultrasonicación de potencia (24 kHz, sonda de 22 mm de diámetro) seguido de una pasteurización LTLT (63 °C, 30 min). Los tratamientos se realizaron de acuerdo a un diseño completamente aleatorizado con tipo de proceso como variable independiente (n=3): dos TS a diferentes condiciones de energía entregada (50 % de amplitud, 1080 s; 100 % de amplitud, 717 s) y un LTLT. Se evaluaron rendimiento quesero, grado de incorporación proteica y liberación de aceite al día 1 y colorimetría triestímulo (L^* , a^* , b^*), firmeza instrumental y capacidad de fundido de queso tras 1, 8,15 y 22 días de almacenamiento refrigerado. Todos los tratamientos y determinaciones se realizaron por triplicado y los resultados se analizaron por ANOVA de una vía ($\alpha=0.05$) empleando una prueba de Tukey para comparación entre medias. El rendimiento quesero para productos elaborados con leche TS fue mayor en todos los casos que aquellos fabricados con leche LTLT (10.10 ± 0.34), especialmente a 100 % de amplitud (12.89 ± 0.05). Todos los quesos TS fueron

CONTACTO: Héctor Ruiz Espinosa hector.ruiz@ymail.com

1. Facultad de Ingeniería Química, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, México.

2. Instituto de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma de Hidalgo, Tulancingo, Hidalgo.

más blancos (mayor luminosidad) que los LTLT durante todo el periodo de muestreo, atribuible a la homogeneización de glóbulos grasos inducida por el ultrasonido. La incorporación proteica aumentó ($21.78 \% \pm 0.21$) con TS= 100 % amplitud en comparación con quesos control ($20.80 \% \pm 0.65$). Los quesos TS exhibieron una menor firmeza a todos los tiempos de muestreo en comparación con los quesos LTLT. Tanto la capacidad de fundido como la liberación de aceite disminuyeron significativamente al aumentar la intensidad del tratamiento. La capacidad de fundido en quesos TS a 100 % de amplitud se redujo en $27.71 \pm 2.11 \%$ con respecto a los quesos LTLT, mientras que la liberación de aceite disminuyó en $55.6 \pm 3.47 \%$. Los efectos observados en queso pueden atribuirse a la integración de proteína de suero desnaturalizada, a la reducción de tamaño de glóbulos de grasa y a la mayor humedad en cuajada, los cuales posibilitan el desarrollo de propiedades funcionales únicas.

2. INTRODUCCIÓN

Los consumidores son cada día más exigentes y demandan productos inocuos, obtenidos a partir de procesos sustentables, sensorialmente aceptables y con mayor vida útil. La operación de conservación típica en alimentos es el tratamiento térmico (TT). Los TTs han sido probadamente eficientes tecnológicamente y económicamente; sin embargo, éstos pueden provocar alteraciones sensoriales indeseables (textura, sabor, color, olor), afectar las cualidades nutrimentales o modificar la funcionalidad de productos alimenticios como la leche. Por ello, han surgido tecnologías no térmicas de conservación, las cuales se consideran que permiten mantener el valor nutritivo de los alimentos y mejorar su funcionalidad. Entre éstas, se ha empezado a explorar recientemente el procesamiento de leche por ultrasonido de potencia, US (Barbosa-Cánovas y Bermúdez-Aguirre, 2010), el cual posee un impacto limitado sobre el sabor y aroma de leche cruda, y representa un costo de inversión sensiblemente menor al de otras tecnologías. No obstante, la información científica que permita asegurar la inocuidad de los procesos no térmicos es insuficiente, pues en la mayoría de los casos no se han identificado los microorganismos patógenos más resistentes a este proceso y/o indicadores adecuados de proceso; por ello, se ha propuesto el uso de tecnologías mixtas. Éstas combinan el uso de un tratamiento térmico, que garantiza la inocuidad microbiológica del producto, y un tratamiento

emergente que mejora los parámetros de calidad y permita modificar características funcionales selectas de productos derivados. Dentro de éstas destaca la termo-sonicación (TS), la cual se define como la combinación de US con TTs, y con la cual que se han obtenido resultados promisorios en la conservación y la generación de características funcionales y sensoriales únicas en leche y subproductos lácteos. Aunque se ha empleado como pre-tratamiento de leche para elaboración de algunas variedades de queso, a la fecha, no hay reportes enfocados en el estudio de este proceso sobre quesos tipo Mozzarella, uno de los más estudiados y consumidos alrededor del mundo. Por lo tanto, se consideró pertinente abordar un estudio de esta naturaleza.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

La leche fue adquirida con un distribuidor local y mantenida a 4 °C hasta utilizarse; posteriormente se pre-calentó (40 °C), separó en una descremadora eléctrica (LKL, Nova Zagoria, Bulgaria) y se analizó la composición de leche descremada y crema de leche mediante un analizador rápido ultrasónico (Lactoscan LA, Nova Zagoria, Bulgaria). Finalmente, se estandarizó a una concentración final de 3 % (p/p) de grasa. La leche estandarizada se sometió a tratamientos selectos de ultrasonificación empleando un equipo de sonda (UP 400S, Hielscher, Teltow, Alemania) a una frecuencia fija de 24 KHz. La energía ultrasónica disipada fue determinada por un método calorimétrico (Raso *et al*, 1999) que permite calcular la potencia real del proceso para cada condición probada. La sonda de titanio (22 mm de diámetro) se introdujo 3.5 cm en leche (3L) contenida en un recipiente enchaquetado de acero inoxidable con recirculación de agua a través de un baño termostático (AD07R-20, PolyScience, Illinois, EUA) para mantener la temperatura de proceso constante (40 °C); posteriormente, la leche se pasteurizó a condiciones de baja temperatura, tiempo corto (LTLT; 63 °C, 30 min) por medio de un equipo por lotes para procesamiento de leche a pequeña escala (Minipasteurizador FJ15, FRD, Austria) y se enfrió inmediatamente para iniciar la fabricación de queso en un sistema a pequeña escala. Se empleó un método estándar de elaboración de queso tipo Mozzarella con *Streptococcus thermophilus* (STI-14, CHR-Hansen, D.F., México) como cultivo iniciador y cuajo de fuerza doble (CHYMAX Plus, CHR-Hansen, D.F., México) como agente coagulante, ambos en la tasa de adición recomendada

por el fabricante. Los tratamientos se realizaron de acuerdo a un diseño completamente aleatorizado con tipo de proceso como variable independiente ($n=3$); se implementaron dos procesos de TS predefinidos (amplitud 50 %, 1080 s; amplitud 100 %, 717 s) a condiciones diferentes de energía entregada y un tratamiento LTLT que sirvió como control. Las variables dependientes analizadas fueron rendimiento quesero, grado de incorporación proteica y liberación de aceite al día 1 y colorimetría triestímulo (L , a^* , b^*), firmeza instrumental y capacidad de fundido de queso tras 1, 8, 15 y 22 días de almacenamiento refrigerado. Todos los tratamientos y determinaciones se realizaron por triplicado y los resultados se analizaron por ANOVA de una vía ($\alpha=0.05$) empleando una prueba de Tukey para comparación entre medias (Minitab 16.0, Minitab Inc., State College, PA). Se determinó el grado de incorporación proteica por el método de Kjeldahl (FIL.20, 2014). 0.5 g de muestra fueron digeridos con una tableta de catalizador (Kjeltabs S/3.5, FOSS) y 20 ml de H_2SO_4 concentrado en un digestor (DIK-06, Prendo, Puebla, México) a $400\text{ }^\circ\text{C}$; la destilación se realizó en un sistema Micro-Kjeldahl (DEK-01, Prendo, Puebla, México), titulando el producto con H_2SO_4 0.1 N. El contenido de nitrógeno se determinó mediante la fórmula: $\% \text{ Nitrógeno} = (V_{H_2SO_4} \times N_{H_2SO_4} \times 0.014 \times 100) / \text{Peso de muestra}$ y el contenido de proteína se obtuvo multiplicando $\%N \times 6.38$. El contenido de aceite libre de las muestras de queso se determinó utilizando el método modificado de Kindstedt y Rippe (1990); 10 g de muestra de queso homogeneizado en un tubo Falcón fueron sumergidos en agua hirviendo, posteriormente se agregaron 10 ml de agua destilada y 10 ml metanol y se centrifugó a $40\text{ }^\circ\text{C}$ a 2000 rpm por 10 min (Universal 320R, Hettich, Massachusetts, USA); una vez separadas las fases, se extrajo el fase de acuosa y se midió la cantidad de aceite en de una probeta graduada de 25 ml. El rendimiento de cada queso se expresó como kg de queso obtenido por kg de leche empleada de acuerdo al método modificado de San Martín-González *et al.*, (2007), mediante una balanza de carga superior (EP2102C, Ohaus Explorer Pro, Maryland, USA). Por su parte, el análisis de color se realizó el análisis superficial de color de acuerdo al método modificado descrito por Bermúdez-Aguirre *et al.*, (2008) mediante un colorímetro triestímulo (Colorflex EZ, Hunterlab, Virginia, EEUU) y los parámetros de espacio de color L^* , a^* y b^* . El análisis de firmeza instrumental se realizó de acuerdo al método modificado de Caro *et al.* (2011), con un texturómetro (TAXT-Plus, Texture Technologies, Surrey, Reino Unido); se obtuvieron muestras cilíndricas de queso de 17 mm de diámetro y 20 mm de alto. Las

muestras fueron termizadas a 16 °C y sometidas a una compresión simple con una sonda cilíndrica de 22 mm de diámetro, a una velocidad de 1 mm/s hasta un 50 % de deformación. La firmeza (g) se reportó como la fuerza máxima de compresión. Se evaluó la capacidad de fundido utilizando el método de Schreiber modificado (Kosikowski, 1977); para cada prueba se cortaron cilindros de queso de 17 mm de diámetro y 5 mm de alto y se colocaron en una caja de Petri de vidrio sin tapa dentro del horno eléctrico (E2, Binder, Dhaka, Bangladesh) a 100 °C por 5 min; las muestras se dejaron enfriar por 5 min a temperatura ambiente y la propagación del queso fundido fué expresado mediante el incremento de área superficial del queso mediante un sistema de imagen con contraste de color y un análisis de incremento de área realizado con el software matemático Matlab de acuerdo al método de Ortiz-García-Carrasco *et al.* (2015).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los cálculos de la energía ultrasónica real aportada al sistema indicaron que los tratamientos de TS a 50 y 100 % de amplitud a los tiempos indicados representaron una intensidad ultrasónica real de 138.69 ± 0.65 W y 68.19 ± 0.67 W respectivamente, de acuerdo a las determinaciones calorimétricas. Los datos del rendimiento al día 1 se muestran en la Tabla 1; cómo es posible observar el mayor rendimiento se observa para el tratamiento de 100 % de amplitud y 717.28 s con un valor promedio de $12.89 \% \pm 0.05$; por su parte, el contenido de proteínas con quesos elaborados por TS ($21.3 \% \pm 0.26$, 21.78 ± 0.21 para amplitudes de 50 y 100 %, respectivamente) se incrementó en comparación a los quesos elaborados con el tratamiento térmico convencional ($20.8 \% \pm 0.65$); la razón de estos aumentos se atribuye la reorganización y el cambio en los componentes de la leche después de la sonicación, que redujeron el tamaño de los glóbulos de grasa y forman nuevos complejos entre las micelas de caseína y los glóbulos de grasa, así como la formación de complejos entre proteínas séricas termosensibles como betalactoglobulina, con micelas de caseína, a través de interacciones con kappa caseína. Respectivamente, estos fenómenos producen una mejor estabilidad coloidal e incrementan la capacidad de retención de agua (Bermúdez *et al.*, 2008). Los quesos elaborados por medio de pasteurización mostraron una liberación de aceite de aproximadamente 2 ml mientras que los quesos elaborados a 50 % de amplitud liberaron 1.43 ml y los tratados

a amplitudes de 100 % sólo expulsaron 0.9 ml en promedio (Tabla 1), mostrando una disminución significativa en la cantidad de liberación de aceite. Tal reducción puede atribuirse a que los quesos elaborados por termosonicación tienen menores contenidos de grasa libre probablemente debido a que las caseínas rodean a los glóbulos de grasa dificultando su salida de la matriz de formada. Se presentaron cambios significativos en quesos durante el almacenamiento refrigerado. Los valores de color de cada queso de los días 1, 8, 15 y 22 de análisis se presentan en la Figura 1, después de analizar los datos de los diferentes días de análisis es posible observar que los quesos elaborados con leche tratada por termosonicación presentan valores superiores de luminosidad, respecto a los quesos tratados con pasteurización, este valor alto de luminosidad se ve reflejado en el color más blanco de los productos, de igual forma es posible distinguir valores inferiores de los parámetros a^* y b^* los cuales al ser menores reflejan una disminución del color amarillo – naranja. Este efecto podría estar relacionado con la mejor homogeneización observado en las muestras después de la sonicación, debido a la producción de glóbulos de grasa más pequeños que aparentemente crean una muestra más uniforme. Los quesos tipo Mozzarella disminuyen su firmeza a medida que aumenta su tiempo de almacenamiento (Tabla 2), lo cual puede ser atribuido a las diferentes enzimas proteolíticas sobre la matriz proteica, principalmente sobre la α_{s1} -caseína, que da como resultado la disminución de la firmeza (Lawrence *et al*, 1987); de igual forma es posible identificar que al incrementar la intensidad del tratamiento en amplitud y tiempo se produce una disminución de la firmeza del queso probablemente debido a que la nueva estructura produce una matriz con mayor contenido de humedad, este comportamiento hace que el producto requiera una fuerza menor en el proceso de masticado específicamente en los dientes molares en función del avance del proceso de maduración. Los quesos elaborados por medio de pasteurización mostraron una mejor capacidad de fundido que los quesos tratados por termosonicación (Tabla 3) desde el día 1, quesos tratados por TS mostraron un incremento en la capacidad de fundido aceptable hasta el día 15, este fenómeno es similar a la liberación de aceite y puede atribuirse a que los quesos elaborados por termosonicación presentan un contenido menor de grasa debido a su estructura, en la cual las caseínas rodean a los glóbulos de grasa dificultando su salida de la matriz de formada.

5. CONCLUSIONES

La termosonicación produjo una modificación de los componentes de la leche, y en consecuencia, en su forma de interactuar y en su funcionalidad. Considerando el incremento en el rendimiento y los cambios en propiedades tecnológicas de queso tipo Mozzarella, la TS constituye una alternativa innovadora para el desarrollo de productos lácteos. Es necesario realizar un perfil de los cambios proteicos asociados a la aplicación de TS en leche para comprender mejor las modificaciones observadas y su potencial de aplicación en productos lácteos derivados; este estudio se conduce actualmente.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BERMÚDEZ-AGUIRRE, D, Mawson R, Barbosa-Cánovas G.V. (2008). Microstructure of fat globules in whole milk after thermosonication treatment. *J Food Sci.* 73-7.
- BERMÚDEZ-AGUIRRE, D., Barbosa-Cánovas G. V. (2010). Processing of Soft Hispanic Cheese (“Queso Fresco”) Using Thermo-Sonicated Milk: A Study of Physicochemical characteristics and Storage Life, *J Food Sci.* 75, 548-558.
- CARO, I., Soto, S., Franco, M.J., Meza-Nieto, M., Alfaro-Rodríguez, R.H., Mateo, J. (2011). Composition, yield, and functionality of reduced-fat Oaxaca cheese: effects of using skim milk or a dry milk protein concentrate. *J Dairy Sci.* 94(2), 580-8.
- IDF 20-1:2014. Milk and milk products. Determination of nitrogen content. Part 1: Kjeldahl method. International Dairy Federation. Bruselas, Bélgica
- KINDSTEDT, P.S., J.K. Rippe. (1990). Rapid quantitative test for free oil (oiling-off) in melted Mozzarella cheese. *J. Dairy Sci.* 73:867-873.
- KOSIKOWSKI, F. (1977). Cheese and Fermented Milk Foods. F. V. Kosikowski & Assoc., Brooktondale, NY.
- LAWRENCE, R.C., Creamer, L.K., Gilles, J. Texture development during cheese ripening. (1987). *J. Dairy Sci.* 70, 1748-1760.
- ORTIZ-GARCIA CARRASCO, B., Yañez-Mota E., Pacheco-Aguirre F.M., Ruiz-Espinosa H., Garcia-Alvarado M.A., Cortés-Zavaleta O., Ruiz-López I.I. (2015). Drying of shrinkable food products: Appraisal of deformation behavior and moisture diffusivity estimation under isotropic shrinkage. *J. Food Eng.* 144: 138-147.

RASO, J., Mañas, P., Pagán, R., Sala, F.J. (1999). Influence of different factors on the output power transferred into medium by ultra-sound. *Ultrasonics Sonochemistry*. 5, 157–162.

SAN MARTÍN-GONZÁLEZ, M.F.; Rodríguez, J.J., Gurram, S.; Clark, S.; Swanson, B.G., Barbosa-Cánovas, G.V. (2007). Yield, composition and rheological characteristics of cheddar cheese made with high pressure processed milk. *LWT*. 40(4): 697-705.

7. TABLAS Y FIGURAS

TABLA 1. Características evaluadas al día 1 en quesos tipo Mozzarella elaborados con leche termosonicada¹

TIPO DE QUESO \ CARACTERÍSTICA	GRADO DE INCORPORACIÓN PROTEICA	LIBERACIÓN DE ACEITE	RENDIMIENTO
Pasteurizado	20.80 ± 0.65 ^a	2.00 ± 0.07 ^a	10.10 ± 0.34 ^a
TS 50 %	21.30 ± 0.26 ^b	1.43 ± 0.00 ^b	11.82 ± 0.13 ^b
TS 100 %	21.78 ± 0.21 ^c	0.89 ± 0.07 ^c	12.89 ± 0.05 ^c

¹ Promedio de 6 mediciones. ^{a,b,c} Valores con diferente superíndice en la misma columna indican diferencia significativa (p < 0.05).

TABLA 2. Firmeza (g) para los diferentes días de análisis en el queso tipo Mozzarella¹

TIPO DE QUESO	DÍA 1	DÍA 8	DÍA 15	DÍA 22
Pasteurizado	5249.45 ± 249.52 ^a	2682.36 ± 97.11 ^a	2718.86 ± 54.76 ^a	1780.00 ± 102.74 ^a
TS 50 %	2896.88 ± 33.59 ^b	2434.80 ± 235.97 ^a	1782.79 ± 44.24 ^b	1151.39 ± 20.99 ^b
TS 100 %	2582.74 ± 57.04 ^b	1302.63 ± 23.17 ^b	1248.23 ± 58.34 ^c	746.63 ± 20.52 ^c

¹ Promedio de 6 mediciones. ^{a,b,c} Valores con diferente superíndice en la misma columna indican diferencia significativa (p < 0.05).

TABLA 3. Fundibilidad (mm²) para los diferentes días de análisis en el queso tipo Mozzarella¹

TIPO DE QUESO	DÍA 1	DÍA 8	DÍA 15	DÍA 22
Pasteurizado	12.00 ± 0.78 ^a	67.1 ± 3.44 ^a	102.1 ± 5.04 ^a	185.9 ± 1.89 ^a
TS 50 % 1080 s	-11.29 ± 1.74 ^b	-7.07 ± 1.38 ^b	69.51 ± 0.71 ^b	142.37 ± 2.94 ^b
TS 100 % 717.28 s	-9.23 ± 0.32 ^b	-7.85 ± 0.16 ^b	65.52 ± 1.67 ^b	134.41 ± 3.92 ^c

¹ Promedio de 6 mediciones. ^{a,b,c} Valores con diferente superíndice en la misma columna indican diferencia significativa (p < 0.05).

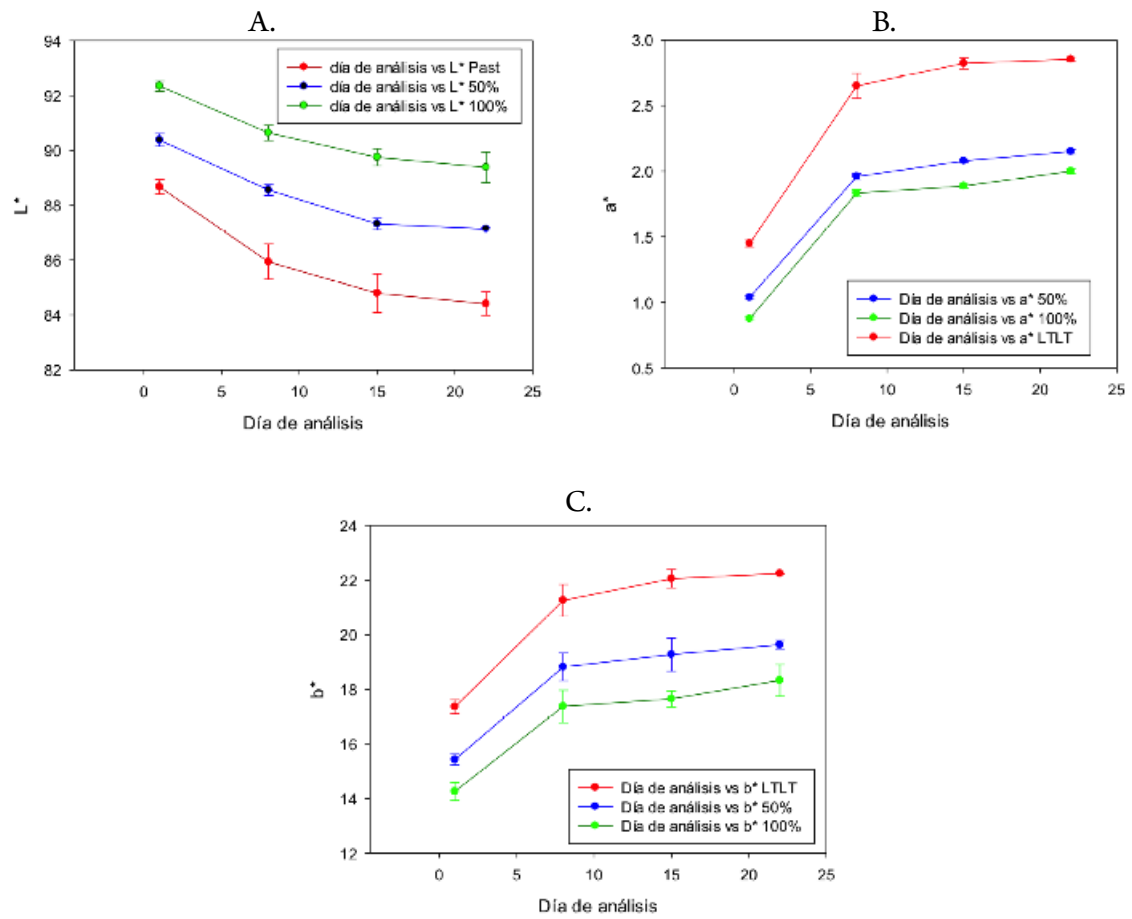


FIGURA 1. Cambios en parámetros de color de queso Mozzarella durante almacenamiento refrigerado (A. Luminosidad; B. a*; C. b*)

EFFECTOS DEL PRETRATAMIENTO DE TERMOSONICACIÓN EN LA ELABORACIÓN Y MADURACIÓN DE QUESO TIPO CHEDDAR

Arianna Beatriz Gallegos Pineda¹, Irving Israel Ruiz López¹,
María Lorena Luna Guevara¹, Jorge Welti Chanes², Héctor Ruiz Espinosa¹

1. RESUMEN

El ultrasonido de alta intensidad (US) es un proceso de transmisión de ondas sonoras de baja frecuencia (20-100kHz) a través de un medio sólido o fluido capaz de generar cambios fisicoquímicos en productos alimenticios diversos por efecto de cavitación. Cuando el US es combinado con tratamientos térmicos se denomina termosonicación (TS). En leche, se ha reportado que la TS afecta macrocomponentes (reducción de tamaño de glóbulo graso, desnaturalización parcial de proteínas) que a su vez producen modificaciones en propiedades funcionales de diversos productos elaborados con ella (Feng *et al.*, 2011). El objetivo de este trabajo es comparar los cambios sobre propiedades de elaboración y variables de maduración de quesos tipo *Cheddar* elaborados con leche pasteurizada térmicamente (LTLT) con y sin asistencia de US. Los tratamientos se realizaron con leche cruda bovina (3 % grasa) sometida a un proceso ultrasónico (24 KHz) de sonda (22 mm) variando la amplitud de onda y el tiempo de sonicado (100 %, 12 min y 50 %, 18 min, correspondientes a 88.4 ± 3.6 W y 34.7 ± 2.4 W de potencia efectiva, respectivamente). Después, la leche fue pasteurizada (LTLT) (63 °C, 30 min) y utilizada para elaborar quesos que fueron analizados durante su fabricación (tiempos de coagulación t_c y cheddarización t_{ch} , rendimiento, humedad y pérdida de grasa en suero) y tras 1, 21, 42 y 63 días de maduración (color triestímulo, perfil de textura *TPA*, actividad de agua *Aw*, acidez titulable *AT*, pH). Todos los tratamientos se realizaron por cua-

CONTACTO: Héctor Ruiz Espinosa hector.ruiz@gmail.com

1. Facultad de Ingeniería Química, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, Puebla, México.

2. Escuela de Biotecnología y Alimentos, Tecnológico de Monterrey, Monterrey, México.

druplicado de acuerdo a un diseño completamente aleatorizado y los resultados se analizaron por modelo lineal general y prueba de Tukey ($\alpha=0.95$). No hubo cambios significativos en t_c entre tratamientos US y LTLT, pero t_{ch} se duplicó para los primeros. Los quesos TS exhibieron mayor humedad y rendimiento y menor grasa en suero ($p<0.05$) que los LTLT, probablemente por incorporación a la cuajada de proteína sérica parcialmente desnaturalizada. Durante la maduración no se presentaron diferencias en A_w y AT pero si en luminosidad, la cual aumentó en quesos TS por disminución de tamaño de glóbulos grasos. Por su parte, se observó una disminución significativa en pH y TPA de quesos TS durante los días 1-22 de maduración. La TS puede representar una alternativa de proceso previo de leche para elaboración de quesos madurados.

2. INTRODUCCIÓN

El estudio del US en la industria de los alimentos se extiende a aplicaciones como la homogeneización, corte, extracción, inactivación de microorganismos, inactivación/activación de enzimas, secado, cristalización, deshidratación osmótica, filtración, entre otros, en los cuales sus efectos han sido capaces de disminuir tiempo y costo de proceso (Chemat *et al.*, 2011). En la industria láctea se han realizado diversas investigaciones con US entre las que destacan inactivación de microorganismos patógenos (*Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* y deteriorativos (Bermúdez-Aguirre & Barbosa-Cánovas, 2011) y cambios en las propiedades físicas y apariencia general de leche y otros productos derivados. Los cambios microestructurales que han sido observados al tratar leche con US incluyen la reducción de glóbulos de grasa (GG), debido a los esfuerzos de corte y los incrementos localizados de presión producidos por la cavitación; incorporación de proteínas a la membrana de los GG (lo cual favorece la incorporación de los glóbulos de grasa en la red de caseína y resulta de vital importancia en la elaboración de productos lácteos selectos (Bermúdez-Aguirre *et al.*, 2008)); desnaturalización proteica y agregación (debido a la interacción entre las micelas de caseína y las proteínas de suero parcialmente desnaturalizadas (Shanmugam *et al.*, 2012)). Como resultado de estas diferencias estructurales, se han reportado cambios como: reducción de viscosidad y aumento de estabilidad térmica en concentrados de proteína y mezclas reconstituidas (Ashokkumar *et al.*, 2009);

menor grado de sinéresis e incremento en la firmeza del gel, viscosidad y capacidad de retención de agua en yogurts elaborados con leche TS (Riener *et al.*, 2010); y , en queso fresco, color más blanco, aumento sustancial de rendimiento (20.6 %), cuajada más suave, reducción en tiempo de coagulación, mayor homogeneidad estructural y un menor grado de sinéresis (Bermúdez-Aguirre y Barbosa-Cánovas, 2010). El incremento en la capacidad de retención de agua en las matrices proteicas reportadas podría conducir a cambios en la actividad enzimática y microbiana y en los perfiles proteolíticos de quesos madurados, por lo cual en este trabajo se estudiaron los cambios durante la elaboración y maduración de quesos tipo *Cheddar* elaborados con leche LTLT con y sin asistencia de US.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Se aplicó TS a leche cruda de vaca previamente estandarizada (3 % grasa) utilizando un procesador ultrasónico (24 kHz) Hielscher UP400S (Teltow, Alemania) y una sonda de 22 mm de diámetro (potencia máxima de 85 W/cm²). Se realizaron dos tratamientos de TS el primero aplicando una amplitud de onda de 100 % (88.4 ± 3.6 W de potencia efectiva) durante 12 min y el segundo a una amplitud de onda de 50 % (34.7 ± 2.4 W) durante 18 min. En cada tratamiento se colocaron 3 L de leche a 38 °C en un inserto de acero inoxidable y se sumergió la sonda 3.5 cm en la muestra. La temperatura durante el proceso de TS se mantuvo en un rango de 38-40 °C con ayuda de un baño de recirculación. Después de la aplicación del US la leche fue pasteurizada a 63 °C por 30 min y se procedió a la elaboración de quesos tipo *Cheddar*. Un queso pasteurizado térmicamente sin asistencia de US fue utilizado como control y se realizaron 4 réplicas de cada tratamiento. Los quesos se elaboraron siguiendo una adaptación a escala laboratorio del procedimiento estándar para este queso. Primero se elevó la temperatura de la leche hasta 32 ± 0.5 °C y se adicionó una mezcla de cultivos liofilizados mesófilos (*Lactococcus lactis* + *Lactococcus cremoris*, Choozit MA16 LYO, Danisco) y termófilos (*Streptococcus thermophilus*, Choozit TA 71 LYO, Danisco) en una proporción 80/20 p/p de acuerdo a las indicaciones del fabricante. Se dejó acidificar la leche por 45 min y posteriormente se añadió quimosina de doble intensidad (Chymax Plus, Chr. Hansen de México) y se dejó coagular por un intervalo de 50-55 min. El corte de cuajada se realizó con liras de 1 cm y se agitaron suavemente los cubos de cuajada cada 5 min durante 15

min después del corte. El cocimiento de la cuajada se llevó a cabo elevando la temperatura de la tina hasta 39 °C en un tiempo de 30 min y este se detuvo al alcanzar un pH en el suero de 6.31. Posteriormente se separó la cuajada y se *cheddarizó* hasta alcanzar un pH de 5.55. Por último, se pesó y cortó en cubos de 1.5 cm aproximadamente, se añadieron 20g/kg de sal y se dejó reposar durante 10 min. El queso se prensó durante 15 h, se empacó al vacío y se mantuvo en almacenamiento refrigerado a 5 °C. Durante la elaboración se determinó: acidez titulable por titulación con NaOH (Wehr y Frank, 2004), rendimiento simple expresado en kg de queso/ kg de leche, pérdida de sólidos finos por un método gravimétrico (San Martín-González *et al.*, 2007), la composición del suero de quesería utilizando un analizador ultrasónico Lactoscan LA (Nova Zagora, Bulgaria) y la humedad de los quesos al día 1 (AOAC, 1997). Durante los días 1, 21, 42 y 63 del periodo de maduración se realizaron las siguientes determinaciones: actividad de agua (a_w) utilizando un higrometro de punto de rocío Decagon Aqualab Series 3 (Pullman, Wahington); pH (Wehr y Frank, 2004) y acidez titulable (AOAC, 1997); análisis de perfil de textura utilizando un texturómetro Texture Technologies, TAXT-Plus (Surrey, Reino Unido) y cilindros de queso de 17 mm de diámetro y 20 mm de alto (13-15 °C) que se comprimieron con una sonda de 25.5 mm a 1 mm/s hasta un 50 % de su altura original (Caro *et al.*, 2011); color utilizando un colorímetro triestímulo Hunterlab, Colorflex EZ (Virginia, E.U.A.) empleando parámetros en el espacio de color CIELAB (Rynne *et al.*, 2008); concentración de aminoácidos libres fue obtenida por el método espectrofotométrico de cadmio-ninhidrina (Wick *et al.*, 2004). Cada determinación fue realizada por triplicado, excepto concentración de aminoácidos libres la cual se realizó por duplicado y los resultados fueron analizados por medio de un modelo lineal general y prueba de Tukey ($\alpha=0.95$) utilizando un software estadístico (Minitab 16.0; Minitab Inc, State College, PA).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos durante la elaboración de los quesos indican que no existen diferencias significativas entre quesos LTLT y TS con respecto al tiempo de coagulación; sin embargo se observaron diferencias significativas con respecto al tiempo requerido para el cocimiento y la cheddarización de la cuajada; en ambos casos los quesos TS requieren un mayor tiempo para alcanzar los valores deseados

de pH en ambas etapas. Esto puede atribuirse a modificaciones estructurales de proteínas o a un efecto de dilución de lactosa por la mayor cantidad de humedad en queso. En la Tabla 1 se puede observar que tanto el rendimiento verde como el rendimiento quesero de los quesos TS es mayor que el de los quesos LTLT lo cual coincide con lo reportado para queso fresco elaborado con leche TS a 63 °C durante 30 min con un rendimiento de 20.6 % (Bermúdez-Aguirre y Barbosa-Cánovas, 2010). El incremento de rendimiento y humedad en los quesos puede deberse a la incorporación de proteínas séricas altamente higroscópicas a la red de caseínas. En la Tabla 2 se puede ver que la pérdida de sólidos finos es casi la misma para los tres tratamientos; por otra parte, aunque la pérdida de grasa en el suero es mayor para los quesos LTLT que para los quesos TS (Tabla 2), lo cual podría indicar una mejor incorporación de grasa en la estructura proteica, el análisis estadístico del contenido de grasa en extracto seco no reporta diferencias significativas ($p=0.05$). Asimismo, en la Tabla 3 se muestra que no existen diferencias significativas con respecto a la actividad de agua y a la acidez titulable de los quesos experimentales y el control durante el periodo de maduración; sin embargo el pH durante la maduración disminuye más rápido para los quesos TS, lo cual puede indicar cambios en la capacidad buffer durante la maduración. El queso Cheddar exhibe un máximo de capacidad buffer a pH=4.8, así que un cambio acelerado de pH en los quesos TS puede indicar modificaciones en la estructura de caseínas, principales responsables de mantener el pH del producto. Los parámetros de color indican que los quesos TS son más luminosos que los LTLT durante todo el periodo de maduración observando cambios significativos para todos los quesos entre los días 1-21 y 42-63. El incremento en el parámetro L^* se debe a la disminución del tamaño del GG lo cual permite una mejor dispersión de la luz (Bermúdez-Aguirre *et al.*, 2008); por su parte, los parámetros a^* y b^* aumentaron durante el almacenamiento refrigerado para todos los quesos (color más rojo y amarillo, respectivamente), aunque en menor magnitud para los quesos TS; este fenómeno probablemente está relacionado con modificaciones en la distribución de carotenos en la estructura del queso. Por otra parte, los resultados del perfil de textura (Tabla 4) indican que los quesos TS tienen un menor valor en todos los parámetros primarios (dureza, cohesividad, elasticidad) y derivados (gomosidad, masticabilidad) lo cual puede deberse principalmente a las diferencias en el contenido de humedad y en la evolución más lenta (aunque no significativa) de la proteólisis en quesos experimentales (Tabla 5).

5. CONCLUSIONES

Los quesos elaborados a partir de leche tratada con TS se caracterizaron por poseer mayor rendimiento, humedad, luminosidad y menor dureza, cohesividad, elasticidad, masticabilidad, gomosidad y pH, sin embargo el perfil proteolítico generado a lo largo del periodo de maduración de estudio no difiere en gran medida de aquel de los quesos LTLT por lo que puede decirse que la mayor parte de los cambios observados se deben a una mayor incorporación de agua a la matriz del queso, sin que esto afecte significativamente la actividad proteolítica en el queso durante el periodo evaluado. Se requieren realizar pruebas sensoriales descriptivas y con consumidores, pero la TS se considera una tecnología promisoriosa para la elaboración de quesos madurados como el tipo Cheddar.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOAC. (1997). *Official Methods of Analysis of AOAC International* (16th Edition.).
- ASHOKKUMAR, Lee, J., Zisu, B., Bhaskarcharya, R., Palmer, M., & Kentish, S. (2009). Hot topic: sonication increases the heat stability of whey proteins. *J Dairy Sci.*, 92(11), 5353–6.
- BERMÚDEZ-AGUIRRE, & Barbosa-Cánovas, G. V. (2010). Processing of soft Hispanic cheese (“queso fresco”) using thermo-sonicated milk: a study of physicochemical characteristics and storage life. *J Food Sci.*, 75(9), S548–58.
- BERMÚDEZ-AGUIRRE, D., & Barbosa-Cánovas, G. V. (2011). Power Ultrasound to Process Dairy Products. In H. Feng, G. Barbosa-Cánovas, & J. Weiss (Eds.), *Ultrasound Technologies for Food and Bioprocessing* (pp. 445–465). Springer New York.
- BERMÚDEZ-AGUIRRE, Mawson, R., & Barbosa-Cánovas, G. V. (2008). Microstructure of fat globules in whole milk after thermosonication treatment. *J Food Sci.*, 73(7), E325–32.
- CARO, I., Soto, S., Franco, M. J., Meza-Nieto, M., Alfaro-Rodríguez, R. H., & Mateo, J. (2011). Composition, yield, and functionality of reduced-fat Oaxaca cheese: effects of using skim milk or a dry milk protein concentrate. *J Dairy Sci.*, 94(2), 580–8.
- CHEMAT, F., Zill-e-Huma, & Khan, M. K. (2011). Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrasound Sonochem.*, 18(4), 813–35.
- FENG, H., Barbosa-Cánovas, G. V., & Weiss, J. (Eds.). (2011). *Ultrasound Technologies for Food and Bioprocessing*. New York, USA: Springer.

- RIENER, J., Noci, F., Cronin, D. A., Morgan, D. J., & Lyng, J. G. (2010). A comparison of selected quality characteristics of yoghurts prepared from thermosonicated and conventionally heated milks. *Food Chem.*, 119(3), 1108–1113.
- RYNNE, N. M., Beresford, T. P., Guinee, T. P., Sheehan, E., Delahunty, C. M., & Kelly, A. L. (2008). Effect of high-pressure treatment of 1 day-old full-fat Cheddar cheese on subsequent quality and ripening. *Innov Food Sci Emerg Technol.*, 9(4), 429–440.
- SAN MARTÍN-GONZÁLEZ, M. F., Rodríguez, J. J., Gurram, S., Clark, S., Swanson, B. G., & Barbosa-Cánovas, G. V. (2007). Yield, composition and rheological characteristics of cheddar cheese made with high pressure processed milk. *LWT - Food Sci Technol.*, 40(4), 697–705.
- SHANMUGAM, A., Chandrapala, J., & Ashokkumar, M. (2012). The effect of ultrasound on the physical and functional properties of skim milk. *Innov Food Sci Emerg Technol.*, 16, 251–258.
- WEHR, H. M., & Frank, J. F. (2004). *Standard methods for the examination of dairy products* (17th ed.). American Public Health Association.
- WICK, C., Nienaber, U., Anggraeni, O., Shellhammer, T. H., & Courtney, P. D. (2004). Texture, proteolysis and viable lactic acid bacteria in commercial Cheddar cheeses treated with high pressure. *Dairy Res.*, 71(1), 107–115.

7. TABLAS Y FIGURAS

TABLA 1. Rendimiento verde, rendimiento quesero y humedad en quesos elaborados con leche pasteurizada con y sin asistencia de US

TRATAMIENTO	Rendimiento verde (kg queso/kg leche) ¹	Rendimiento (kg queso/kg leche) ¹	Humedad (%) ¹
Pasteurizado	11.71 ± 0.14 ^a	10.19 ± 0.18 ^a	42.51 ± 1.99 ^a
50%	12.72 ± 0.22 ^b	10.99 ± 0.16 ^b	46.23 ± 0.29 ^b
100%	12.93 ± 0.31 ^b	11.15 ± 0.25 ^b	46.47 ± 1.31 ^b

¹Valores promedio de n=4 mediciones. Los valores con diferente superíndice en la misma columna indican diferencia significativa de ($p < 0.05$).

TABLA 2. Análisis de pérdidas de grasa en suero¹, pérdidas de sólido finos¹ y cambios en pH¹ en quesos elaborados con leche pasteurizada con y sin asistencia de US

TRATAMIENTO	Pérdidas de grasa en suero (% w/w) ²	Pérdida de sólidos finos (g)	Cambio en pH ³
Pasteurizado	4.47 ± 0.64 ^a	0.37 ± 0.04 ^a	0.06 ± 0.02 ^a
50%	3.41 ± 0.37 ^b	0.35 ± 0.06 ^a	0.08 ± 0.02 ^{ab}
100%	2.79 ± 0.29 ^b	0.43 ± 0.15 ^a	0.11 ± 0.01 ^b

¹Valores promedio de 12 mediciones. Los valores con diferente superíndice en la misma columna indican diferencia significativa ($p < 0.05$).

²Pérdida de grasa en suero

% = 100*(peso de suero*% w/w de grasa en suero)/(peso leche*% w/w de grasa en leche)

³Cambio de pH = pH leche cruda- pH leche después de pasteurizar.

TABLA 3. Niveles de pH, acidez titulable, actividad de agua y parámetros de color en quesos elaborados con leche pasteurizada con y sin asistencia de US durante diferentes días de maduración

PARÁMETRO ¹	TRATAMIENTO	TIEMPO DE MADURACIÓN (d)			
		1	21	42	63
pH	Pasteurizado	5.36 ± 0.05 ^{Aa}	5.25 ± 0.07 ^{Ba}	5.19 ± 0.03 ^{Ca}	5.16 ± 0.03 ^{Ca}
	50 %	5.37 ± 0.02 ^{Ab}	5.12 ± 0.06 ^{Bb}	5.00 ± 0.04 ^{Cb}	4.97 ± 0.03 ^{Cb}
	100 %	5.37 ± 0.04 ^{Ab}	5.12 ± 0.07 ^{Bb}	5.03 ± 0.04 ^{Cb}	4.99 ± 0.02 ^{Cb}
Acidez titulable	Pasteurizado	0.35 ± 0.10 ^{Aa}	0.26 ± 0.04 ^{Ba}	0.36 ± 0.06 ^{Aa}	0.36 ± 0.01 ^{Aa}
	50 %	0.39 ± 0.09 ^{Aa}	0.25 ± 0.05 ^{Ba}	0.43 ± 0.05 ^{Aa}	0.42 ± 0.05 ^{Aa}
	100 %	0.40 ± 0.08 ^{Aa}	0.30 ± 0.04 ^{Ba}	0.35 ± 0.11 ^{Aa}	0.41 ± 0.02 ^{Aa}
Actividad de agua	Pasteurizado	0.958 ± 0.002 ^{Aa}	0.955 ± 0.001 ^{Aa}	0.955 ± 0.003 ^{Aa}	0.950 ± 0.002 ^{Ba}
	50 %	0.956 ± 0.002 ^{Aa}	0.956 ± 0.002 ^{Aa}	0.955 ± 0.002 ^{Aa}	0.954 ± 0.002 ^{Ba}
	100 %	0.957 ± 0.002 ^{Aa}	0.955 ± 0.003 ^{Aa}	0.957 ± 0.003 ^{Aa}	0.953 ± 0.0 ^{Ba}
L*	Pasteurizado	89.13 ± 0.83 ^{Aa}	84.79 ± 0.47 ^{Ba}	85.24 ± 0.02 ^{Ba}	83.73 ± 1.05 ^{Ca}
	50 %	90.96 ± 0.23 ^{Ab}	87.91 ± 0.41 ^{Bb}	88.06 ± 0.43 ^{Bb}	87.36 ± 0.84 ^{Cb}
	100 %	91.27 ± 0.43 ^{Ab}	87.82 ± 0.50 ^{Bb}	87.99 ± 0.13 ^{Bb}	86.58 ± 0.54 ^{Cb}
a*	Pasteurizado	1.53 ± 0.25 ^{Aa}	2.69 ± 0.22 ^{Ba}	2.76 ± 0.16 ^{Ba}	2.89 ± 0.17 ^{Ba}
	50 %	1.28 ± 0.06 ^{Ab}	2.13 ± 0.11 ^{Bb}	2.27 ± 0.13 ^{Bb}	2.36 ± 0.11 ^{Bb}
	100 %	1.10 ± 0.15 ^{Ab}	2.02 ± 0.27 ^{Bb}	2.16 ± 0.33 ^{Bb}	2.22 ± 0.30 ^{Bb}
b*	Pasteurizado	17.14 ± 0.54 ^{Aa}	24.01 ± 0.74 ^{Ba}	23.14 ± 0.44 ^{Ba}	22.56 ± 1.98 ^{Ba}
	50 %	14.84 ± 0.13 ^{Ab}	20.33 ± 0.68 ^{Bb}	19.80 ± 0.72 ^{Bb}	19.85 ± 0.83 ^{Bb}
	100 %	14.47 ± 0.33 ^{Ab}	19.53 ± 0.74 ^{Bb}	18.87 ± 0.68 ^{Bb}	19.66 ± 1.10 ^{Bb}

¹Valores promedio de 12 mediciones. Los valores con diferente superíndice en letras mayúscula en la misma fila indican diferencia significativa ($p < 0.05$) y los valores con diferente superíndice en letra minúscula en la misma columna indica diferencia significativa ($p < 0.05$).

TABLA 4. Efectos de diferentes tratamientos de TS en el perfil de textura de quesos tipo Cheddar a diferentes días de maduración

PARÁMETRO	TRATAMIENTO	TIEMPO DE MADURACIÓN (d)			
		1	21	42	63
Dureza (N) ¹	Pasteurizado	64.91 ± 9.69 ^{Aa}	51.66 ± 1.57 ^{Ba}	45.32 ± 3.25 ^{BCa}	38.76 ± 3.79 ^{Ca}
	50 %	49.71 ± 4.65 ^{Ab}	33.64 ± 7.17 ^{Bb}	33.15 ± 6.97 ^{BCb}	28.12 ± 4.40 ^{Cb}
	100 %	42.41 ± 7.13 ^{Ab}	32.78 ± 7.0 ^{Bb}	30.44 ± 9.62 ^{BCb}	29.21 ± 7.89 ^{Cb}
Cohesividad ¹	Pasteurizado	0.64 ± 0.02 ^{Ba}	0.68 ± 0.02 ^{Aa}	0.66 ± 0.02 ^{Ba}	0.65 ± 0.01 ^{Ba}
	50 %	0.63 ± 0.03 ^{Bb}	0.66 ± 0.01 ^{Ab}	0.62 ± 0.0 ^{Bb}	0.63 ± 0.0 ^{Bb}
	100 %	0.63 ± 0.03 ^{Bb}	0.66 ± 0.02 ^{Ab}	0.65 ± 0.01 ^{Bb}	0.64 ± 0.01 ^{Bb}
Elasticidad ¹	Pasteurizado	0.86 ± 0.01 ^{Aa}	0.82 ± 0.01 ^{Ba}	0.81 ± 0.01 ^{Ba}	0.81 ± 0.01 ^{Ba}
	50 %	0.82 ± 0.01 ^{Ab}	0.80 ± 0.01 ^{Bb}	0.80 ± 0.0 ^{Bb}	0.81 ± 0.0 ^{Bb}
	100 %	0.82 ± 0.01 ^{Ab}	0.82 ± 0.02 ^{Bb}	0.80 ± 0.01 ^{Bb}	0.82 ± 0.01 ^{Bb}
Gomosidad (N) ¹	Pasteurizado	41.91 ± 7.01 ^{Aa}	35.20 ± 0.89 ^{Ba}	29.90 ± 2.09 ^{BCa}	25.27 ± 2.58 ^{Ca}
	50 %	31.15 ± 1.82 ^{Ab}	22.11 ± 4.90 ^{Bb}	20.70 ± 4.41 ^{BCb}	17.80 ± 2.74 ^{Cb}
	100 %	26.59 ± 5.20 ^{Ab}	21.67 ± 4.90 ^{Bb}	19.64 ± 6.18 ^{BCb}	18.71 ± 4.89 ^{Cb}
Masticabilidad (N) ¹	Pasteurizado	36.02 ± 5.88 ^{Aa}	29.02 ± 0.97 ^{Ba}	24.25 ± 2.02 ^{BCa}	20.56 ± 2.33 ^{Ca}
	50 %	25.56 ± 1.73 ^{Ab}	17.78 ± 4.20 ^{Bb}	16.59 ± 3.64 ^{BCb}	14.39 ± 2.25 ^{Cb}
	100 %	21.65 ± 4.02 ^{Ab}	17.94 ± 4.11 ^{Bb}	15.76 ± 4.99 ^{BCb}	15.34 ± 4.0 ^{Cb}

¹Valores promedio de 12 mediciones. Los valores con diferente superíndice en letras mayúscula en la misma fila indican diferencia significativa ($p < 0.05$) y los valores con diferente superíndice en letra minúscula en la misma columna indica diferencia significativa ($p < 0.05$).

TABLA 5. Niveles de aminoácidos libres (mg Leucina/ g de queso)¹ en quesos tipo Cheddar elaborados con leche TS a diferentes días de maduración

TRATAMIENTO	TIEMPO DE MADURACIÓN (d)				
	1	21	42	63	84
Pasteurizado	1.28 ± 0.05 ^{Aa}	1.80 ± 0.09 ^{Ba}	2.24 ± 0.21 ^{Ca}	2.92 ± 0.14 ^{Da}	3.33 ± 0.14 ^{Ea}
50 %	1.43 ± 0.17 ^{Aa}	1.98 ± 0.08 ^{Ba}	2.57 ± 0.08 ^{Ca}	2.97 ± 0.30 ^{Da}	3.22 ± 0.15 ^{Ea}
100 %	1.29 ± 0.16 ^{Aa}	2.00 ± 0.09 ^{Ba}	2.29 ± 0.28 ^{Ca}	2.83 ± 0.01 ^{Da}	3.03 ± 0.08 ^{Ea}

¹Valores promedio de 6 mediciones. Los valores con diferente superíndice en letras mayúscula en la misma fila indican diferencia significativa ($p < 0.05$) y los valores con diferente superíndice en letra minúscula en la misma columna indica diferencia significativa ($p < 0.05$).

CALIDAD DE PANES ELABORADOS CON ALMIDÓN RESISTENTE

Carlos Gabriel Arp, María Jimena Correa, Cristina Ferrero

1. RESUMEN

El almidón resistente (AR), definido como la suma del almidón y los productos de degradación del mismo que resisten la digestión en el intestino delgado de individuos sanos, es un ingrediente funcional con un amplio abanico de actividades biológicas, incluso actuando como prebiótico. Su reducido tamaño de partícula, sabor suave y color blanco mantienen inalterados los caracteres organolépticos a la vez que otorgan funcionalidad a los alimentos. En este trabajo se plantea la utilización de almidón resistente (AR) en la obtención de panificados aptos para regímenes especiales, conservando las características de calidad del pan tradicional. Se desarrollaron formulaciones para pan en 4 niveles de reemplazo de harina de trigo por AR: 0, 10, 20 y 30 % (control, AR10, AR20 y AR30, respectivamente). El estudio de la calidad de los productos incluyó ensayos de fermentación, volumen específico de pan, análisis del alveolado, perfil de textura y determinación de humedad de la miga. Se incluyó un estudio para estimar el índice glicémico de los panes a través de ensayos de digestibilidad *in vitro* del almidón. Se encontró que el volumen específico disminuye al incorporar AR en concentraciones crecientes, lo cual correlaciona con la menor variación de volumen durante la fermentación. El alveolado exhibió variaciones en la estructura de la miga de AR30 mostrándose menos aireada, con alveolos más pequeños, simétricos y de forma elíptica, en contraposición con las demás muestras. Control y AR10 mostraron iguales valores de humedad, mientras que AR20 y AR30 expusieron valores decrecientes al aumentar la concentración de AR. La textura de los panes se vio afectada con el empleo de AR, encontrándose migas más duras, menos elásticas y menos integradas. Los ensayos de digestibilidad

CONTACTO: Carlos Gabriel Arp arp_gabriel@hotmail.com

Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecología
de Alimentos (CIDCA), Fac. de Cs. Exactas, Universidad Nacional
de La Plata — CONICET, La Plata, Buenos Aires, Argentina.

in vitro del almidón mostraron tasas glicémicas decrecientes a mayores concentraciones de AR, bajando hasta valores del 22 % para AR30. A pesar de que el volumen específico y la textura de miga se ven parcialmente afectados, los panes presentan una drástica disminución de la digestibilidad del almidón, lo cual los haría aptos para ser incorporados en regímenes especiales.

2. INTRODUCCIÓN

El almidón resistente (AR), definido como el almidón y sus productos de degradación que resisten la digestión a través del intestino delgado de individuos sanos (Asp, 1992), es un ingrediente funcional con probados efectos biológicos relacionados a su consumo. Recientemente se lo ha considerado como una importante fuente de fibra dietaria con gran potencial para incorporarse en diversos alimentos, otorgándoles funcionalidad. Su sabor suave, color blanco y reducido tamaño de partícula constituyen una ventaja ante las fibras convencionales, ya que puede ser empleado en la formulación de alimentos sin alterar sus caracteres organolépticos (Sajilata y col., 2006).

En Argentina, los productos panificados constituyen un elemento básico de la dieta cotidiana de la mayor parte de la población, estando distribuidos a lo largo de todo el territorio (Lezcano, 2011). Sin embargo, estos productos presentan un aporte calórico muy elevado y muestran un marcado efecto glicémico tras su consumo. Cuando se producen elevaciones bruscas de la glicemia de forma repetitiva a lo largo de la vida, el riesgo de padecer enfermedades como la diabetes tipo 2 aumenta (Augustin y col., 2002; Brand-Miller, 2003). Es por esto que los panificados no son recomendados para personas con diversas patologías crónicas como diabetes u obesidad, las cuales deben restringir su ingesta. En este sentido y dado su amplio consumo, productos como el pan constituirían un vehículo adecuado para la incorporación de almidón resistente. Una estrategia para lograrlo es el reemplazo de harina de trigo por AR en la formulación, consiguiendo disminuir el aporte calórico del pan y minimizar el efecto glicémico producido, obteniendo así un producto saludable apto para regímenes especiales.

No obstante, la incorporación de nuevos ingredientes en formulaciones para masa panaria generalmente conlleva un desafío tecnológico en tanto que disminuye la calidad final del pan, siendo afectados principalmente el volumen específico y la textura. En el presente trabajo se busca analizar el efecto de la incorporación de AR en la formulación para pan blanco sobre la calidad global del mismo, mediante

ensayos de fermentación, volumen específico, alveolado, humedad y textura. Asimismo se propuso determinar la digestibilidad del almidón *in vitro* en las muestras para así estimar el índice glicémico de las mismas y poder analizar la calidad saludable de los productos finales.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

MATERIALES

En la formulación de pan blanco se empleó harina de trigo 000 comercial (Molino Campodónico S.A., Argentina), almidón de trigo resistente tipo IV (AR) de calidad alimentaria (Fibersym RW, MGP, Estados Unidos), sal de mesa (Celusal, Argentina), levadura fresca comercial (Calsa, Argentina) y agua destilada. Las formulaciones empleadas se obtienen mediante el reemplazo de harina de trigo por AR en proporciones del 0 (control), 10 (AR10), 20 (AR20) y 30 % (AR30). Las formulaciones y los parámetros farinográficos absorción de agua (A) y tiempo de desarrollo (B) para la panificación se muestran en la Tabla 1. La enzima α -amilasa utilizada fue de tipo IA, 1200 U/mg (Sigma, Alemania).

MÉTODOS

Ensayos de fermentación

Se confeccionaron curvas de fermentación para obtener el tiempo óptimo que deben permanecer las masas panarias en la fermentadora. Bollos de masa de 50 g fueron colocados en probetas graduadas, se llevaron a una fermentadora (Brito Hermanos, Argentina) y se incubaron a 30 °C. Se registró el aumento de volumen (ΔV) en función del tiempo. El tiempo de fermentación se consideró como el tiempo necesario para alcanzar el 75 % del máximo incremento de volumen (ΔV_{\max}).

Obtención de panificados

La preparación de las masas se llevó a cabo según los parámetros farinográficos A y B, utilizando las proporciones mostradas en la Tabla 1. Luego del amasado las masas se laminaron y, posteriormente, se armaron bollos, dejando reposar las masas por 10 minutos entre los distintos pasos del proceso. Luego se armaron los panes y se fermentaron a 30 °C durante el tiempo óptimo obtenido en 3.2.1. Posteriormente se hornearon durante 26 minutos a 210 °C.

Volumen específico

Se pesaron 4 panes provenientes de dos panificaciones independientes con precisión de 0,1 g. A cada uno se le realizaron 15 medidas de volumen mediante desplazamiento de semillas de colza en un pan-volumenómetro (CIDCA, Argentina) con una columna de 10,18 cm² de área transversal. El volumen específico se determinó como el cociente entre el volumen promedio y el peso del pan.

Alveolado de la miga

Se analizó el alveolado de 8 rodajas provenientes de 4 panes de 2 panificaciones independientes. Se empleó un scanner HP Scanjet 4070 para tomar imágenes de las rodajas. Las imágenes se procesaron con el programa Image J1.47v (Wayne Rasband National Institute of Health, Estados Unidos) para determinar los parámetros área alveolar promedio, perímetro, moda, fracción de aire, número de alvéolos y circularidad. No se tuvieron en cuenta las partículas menores de 0,002 cm².

Humedad de la miga

Se pesaron placas de Petri conteniendo aproximadamente 3 g de miga de pan desmigajada (precisión de 0,1 mg) por triplicado. Las placas fueron secadas en estufa a 105 °C hasta peso constante, se enfriaron a temperatura ambiente en desecador y se pesaron para calcular la pérdida de agua.

Análisis del perfil de textura (TPA)

Con el empleo del texturómetro TA.XT2i (Stable Micro Systems, Reino Unido) se realizaron ensayos de TPA en rodajas de pan de 2 cm de espesor. Se comprimieron hasta un 40 % de su altura original en dos ciclos. Se determinaron los parámetros: dureza, consistencia, cohesividad, elasticidad, resiliencia y masticabilidad de cada muestra de pan.

Digestibilidad in vitro por el método de Holm (1985)

Se pesó por duplicado aproximadamente 1 g de pan en vasos de precipitado, en los cuales se agregaron 50 ml de buffer fosfato (pH 6,9) y se incubaron a 37 °C con agitación constante. Fueron tomadas dos alícuotas de 0,2 ml y se determinó el contenido de maltosa antes de iniciar la hidrólisis (tiempo cero). Se agregaron 1,25 ml de α -amilasa y luego se tomaron alícuotas de 0,2 ml a los 5, 15, 30 y 60 min, las

cuales se colocaron en tubos de ensayo con 0,8 ml de agua destilada. Los tubos se calentaron en baño de agua a 100 °C por 10 min. Una vez fríos, se agregó 1 ml de ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) en todos los tubos y se calentaron durante otros 10 minutos. A cada tubo se agregaron 15 ml de agua destilada. Se determinó la absorbancia a $\lambda=530$ nm. Se calculó la tasa de hidrólisis a los distintos tiempos con la ayuda de una curva de calibración confeccionada en las mismas condiciones con una solución estándar de maltosa (0 – 2 mg/2 ml). Los resultados se expresaron como los mg de maltosa liberada por gramo de almidón total en la muestra.

Análisis estadístico

Se empleó el software de análisis de datos OriginPro 8 SR0 v8.0725 (Northampton, Estados Unidos). Se empleó ANOVA de un solo factor para determinar, con un nivel de confianza del 95 %, si existían diferencias significativas entre las medias obtenidas. Para determinar cuáles medias difieren entre sí en un 95 % se utilizó el test de Bonferroni.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

ENSAYOS DE FERMENTACIÓN

Para evaluar el efecto ocasionado por el AR sobre la fermentación de la masa se confeccionaron curvas de fermentación. El modelo de Chapman de 3 parámetros (Ecuación 1) ajustó de forma adecuada a los datos experimentales ($r^2 > 0,9777$ en todos los casos), indicando que el modelo es adecuado para los cálculos. En la Figura 1 se muestra la curva de la muestra AR30 a modo de ejemplo.

$$y = a (1 - e^{-b \cdot x})^c \quad (\text{Ecuación 1})$$

donde y es el incremento de volumen (ΔV), x es el tiempo de fermentación en minutos, a es la máxima variación de volumen (ΔV_{\max}), b y c son parámetros relacionados con la forma de la curva.

Se encontraron diferencias significativas ($P < 0,05$) en los valores de ΔV_{\max} presentados por todas las muestras (Tabla 2). Niveles de reemplazo del 10 % de harina por AR fueron suficientes para ocasionar una disminución del máximo volumen alcanzado.

A pesar de que un menor ΔV final en masas con AR puede relacionarse con menor volumen específico de pan, el empleo de niveles tan elevados de fibra presenta un potencial beneficio para la salud. Adicionalmente, los menores tiempos de fermentación asociados a menores ΔV_{\max} implicarían acortar el tiempo de panificación, siendo favorable para el elaborador.

VOLUMEN ESPECÍFICO DE PAN

El empleo de almidón resistente condujo a una disminución del volumen específico del pan (Figura 2), habiéndose observado un detrimento progresivo del mismo con concentraciones crecientes de AR. Todas las muestras presentaron diferencias significativas entre ellas ($P < 0,05$) sugiriendo que la utilización de AR en la formulación afecta negativamente volumen específico de los panes.

ALVEOLADO DE LA MIGA

El reemplazo de harina por AR en un 30 % ocasionó una disminución significativa del área alveolar total (fracción de aire), mientras que los otros dos niveles no mostraron diferencias respecto al control (Tabla 3). Este parámetro representa la proporción de área evaluada que contiene alvéolos (Zghal y col., 1999), por lo que menores valores se relacionan con migas menos aireadas, de menor calidad. Esto se corresponde, a su vez, con los menores volúmenes específicos hallados para panes con AR.

El perímetro, parámetro relacionado con la regularidad del contorno alveolar, exhibió una disminución significativa para AR30 respecto a las otras muestras (Tabla 3). Para una misma área, menores valores del perímetro se asocian a una mayor regularidad del alvéolo. Por otro lado, la circularidad media, indicador de la simetría alveolar, no se vio afectada por la utilización de AR. Se calcularon el área alveolar media y la moda (valor de área alveolar más frecuente). Mientras que el área alveolar media disminuyó significativamente cuando el AR se utilizó al 30 %, en el valor de la moda ($0,00291 \text{ cm}^2$) no se encontraron diferencias significativas entre las formulaciones ($P > 0,05$). Por último, el número de alvéolos se incrementó para la muestra AR30 con respecto al control y a las otras formulaciones con AR (Tabla 3). Por lo tanto, AR30 es la muestra que presenta mayores variaciones en el alveolado de la miga respecto al control, con alvéolos más pequeños y de mayor simetría.

HUMEDAD DE LA MIGA

A pesar de que las masas de todas las muestras fueron preparadas con la misma cantidad de agua (igual absorción farinográfica, Tabla 1), los valores de humedad no fueron iguales para todas las formulaciones (Tabla 4). Se observaron menores valores en los panes AR20 y AR30 respecto del control, mientras que AR10 presenta un valor estadísticamente igual al mismo.

TEXTURA DE LA MIGA

No se observaron diferencias significativas al realizar un reemplazo del 10 % en ningún parámetro, excepto en la cohesividad, la cual fue menor a la del control (Tabla 5). Los panes AR20 y AR30 presentaron parámetros diferentes en todos los casos, encontrándose valores mayores al control para la dureza, consistencia y masticabilidad, mientras que la cohesividad, resiliencia y elasticidad fueron significativamente menores. Esto indica la formación de migas más duras, menos elásticas y menos integradas a niveles altos de AR. Para 10, 20 y 30 % de reemplazo, las cantidades de proteína de gluten en la formulación pasan de $7,98 \pm 0,09$ % (control) a $7,24 \pm 0,09$; $6,60 \pm 0,03$ y $5,67 \pm 0,00$ %, respectivamente, indicando una “dilución” de la red de gluten que afectaría las características texturales.

Estos resultados estarían indicando una menor capacidad de formar una red de gluten de buena calidad en la medida que se emplean niveles más altos de AR.

DIGESTIBILIDAD *IN VITRO* DEL ALMIDÓN

Se estudió la cinética de hidrólisis del almidón (Figura 4) a través de la formación de azúcares reductores. Los panes AR20 y AR30 mostraron una importante reducción en la liberación de maltosa por gramo de almidón a lo largo del tiempo. Así, tras 60 min de hidrólisis, el control presentó un valor de 651 ± 15 mg maltosa/g almidón mientras que AR10, AR20 y AR30 arrojaron valores de 628 ± 26 ; 196 ± 23 y 116 ± 12 mg maltosa/g almidón, respectivamente. Por lo tanto, el uso de AR conlleva una importante disminución del almidón disponible. La velocidad a la cual el mismo es digerido reviste importancia ya que una rápida absorción producirá un aumento brusco y alto de la glucemia seguido por una caída abrupta, mientras que una digestión lenta producirá una respuesta aplanada y sostenida en el tiempo.

Adicionalmente, se estimó el índice glicémico *in vitro* de los panes con AR como la relación de áreas debajo de la curva de los panes con AR respecto al pan control.

Los valores encontrados fueron 74; 29 y 22 % para AR10, AR20 y AR30, respectivamente. Por lo tanto, estos valores nos estarían indicando que el agregado de AR es una buena estrategia para la disminución del IG del pan tipo francés.

5. CONCLUSIONES

Si bien la calidad de los panes obtenidos se ve afectada con cantidades crecientes de reemplazo de harina por AR, principalmente en el volumen de pan y la textura de la miga, los mismos presentan tiempos de elaboración más acotados que pueden significar en un beneficio económico para los productores. Además, los panes con AR exhibieron una disminución muy importante de la digestibilidad del almidón. A medida que aumentan los niveles de reemplazo los valores del IG estimados mediante ensayos *in vitro* disminuyen desde el 100 % (pan control, referencia) hasta valores del 22 % para AR30, representando un atributo de calidad saludable muy importante que los haría aptos para ser incorporados en regímenes especiales.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASP, N.G. (1992). Resistant starch –Proceedings from the second plenary meeting of EURESTA: European FLAIR Concerted Action, 11 on physiological implications of the consumption of resistant starch in man. Preface. *European Journal of Clinical Nutrition* 46:S1.
- AUGUSTIN L. S., Franceschi S., Jenkins D. J., Kendall C. W., La Vecchia C. (2002). Glycemic index in chronic disease: a review. *Eur J Clin Nutr*, 56: 1049–1071.
- BRAND-MILLER J. C. (2003). Glycemic load and chronic disease. *Nutr Rev*, 61: S49–S55.
- HOLM J., Björck I., Asp N.G., Sjöberg L.B, Lundquist I. (1985). Starch availability in vitro after flaking, steam-cooking and popping of wheat. *Journal of Cereal Science*, 3: 193-206.
- LEZCANO, E. 2011. Productos panificados: cadenas alimentarias. En revista *Alimentos Argentinos* N°51. <http://www.alimentosargentinos.gov.ar/>
- SAJILATA, M. G., Singhal, R. S., & Kulkarni, P. R. (2006). Resistant Starch — A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 5(1), 1–17. doi:10.1111/j.1541-4337.2006.tb00076.x
- ZGHAL, M.C., Scanlon, M.G., Sapiststein, H.D. (1999). Prediction of bread crumb density by digital image analysis. *Cereal Chemistry* 76(5): 734-742.

7. TABLAS Y FIGURAS

TABLA 1. Formulaciones de las mezclas harina de trigo/AR y parámetros farinográficos

	Control	AR10	AR20	AR30
Harina de Trigo (g)	100	90	80	70
Almidón Resistente (g)	0	10	20	30
Sal (g)	2	2	2	2
Levadura (g)	3	3	3	3
A (ml)	56 ± 0	56 ± 0	56 ± 1	56 ± 0
B (min)	11 ± 0	9 ± 1	7 ± 2	9 ± 1

TABLA 2. Incrementos máximos de volumen y tiempos de fermentación

Muestra	ΔV_{\max} (cm ³)	Tiempo de fermentación (min)
Control	101 ± 0 ^c	77 ± 0 ^d
AR10	82 ± 5 ^b	55 ± 1 ^b
AR20	85 ± 2 ^b	63 ± 2 ^c
AR30	71 ± 1 ^a	47 ± 2 ^a

Promedio ± Desvío estándar

Letras diferentes en una misma columna indican diferencias significativas ($P < 0,05$)

TABLA 3. Parámetros estructurales de la miga

Muestra	% Aire	Área alveolar promedio (cm ²)	Número de alvéolos	Perímetro (cm)	Circularidad
Control	28 ± 1 ^b	0,012 ± 0,002 ^b	183 ± 26 ^{ab}	0,66 ± 0,04 ^b	0,44 ± 0,01 ^a
AR10	28 ± 1 ^b	0,011 ± 0,001 ^b	195 ± 20 ^{ab}	0,63 ± 0,02 ^b	0,45 ± 0,01 ^a
AR20	26 ± 1 ^b	0,011 ± 0,001 ^b	178 ± 24 ^a	0,71 ± 0,05 ^b	0,43 ± 0,01 ^a
AR30	19 ± 1 ^a	0,008 ± 0,001 ^a	214 ± 9 ^b	0,52 ± 0,02 ^a	0,44 ± 0,01 ^a

Promedio ± Desvío estándar

Letras diferentes en una misma columna indican diferencias significativas ($P < 0,05$)

TABLA 4. Humedad de la miga

MUESTRA	HUMEDAD (%)
Control	44,2 ± 0,1 ^c
AR10	44,2 ± 0,1 ^c
AR20	42,9 ± 0,1 ^a
AR30	43,3 ± 0,1 ^b

Promedio ± Desvío estándar

Letras diferentes en una misma columna indican diferencias significativas ($P < 0,05$)

TABLA 5. Parámetros texturales de la miga de pan

Muestra	Parámetros					
	Dureza	Cohesividad	Consistencia	Elasticidad	Resiliencia	Masticabilidad
Control	7 ± 1 ^a	0,55 ± 0,01 ^d	139 ± 21 ^a	0,97 ± 0,01 ^b	0,46 ± 0,03 ^c	3,9 ± 0,6 ^a
AR10	8 ± 1 ^a	0,53 ± 0,01 ^c	153 ± 30 ^a	0,97 ± 0,02 ^b	0,47 ± 0,02 ^c	4,1 ± 0,6 ^a
AR20	13 ± 2 ^b	0,50 ± 0,01 ^b	230 ± 27 ^b	0,94 ± 0,02 ^a	0,41 ± 0,03 ^b	6,0 ± 0,8 ^b
AR30	16 ± 1 ^c	0,46 ± 0,01 ^a	293 ± 15 ^c	0,92 ± 0,02 ^a	0,34 ± 0,03 ^a	6,7 ± 0,7 ^b

Letras diferentes en una misma columna indican diferencias significativas ($P < 0,05$)

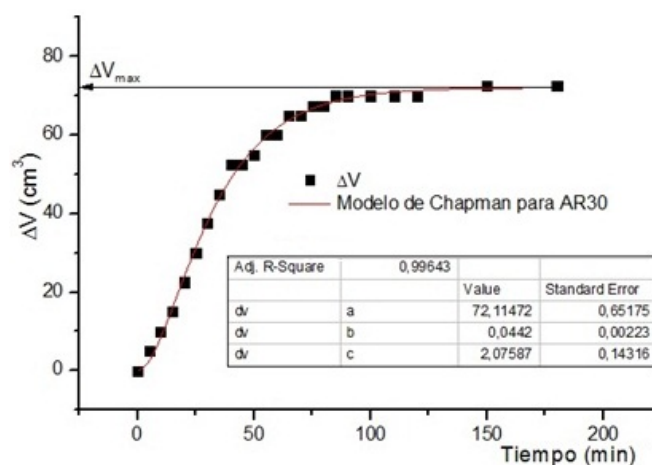


FIGURA 1. Curva de fermentación para AR30 ($r^2 = 0,9964$). Se muestran los datos experimentales (puntos) y el ajuste según el modelo de Chapman (línea). La tabla muestra los parámetros obtenidos

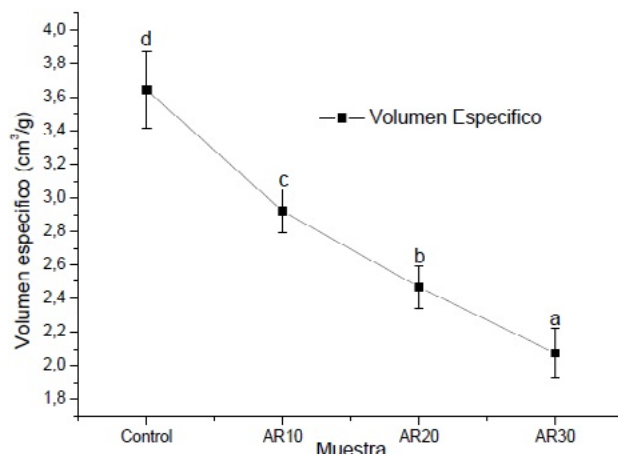


FIGURA 2. Volumen específico de pan para cantidades crecientes de AR ($P < 0,05$)

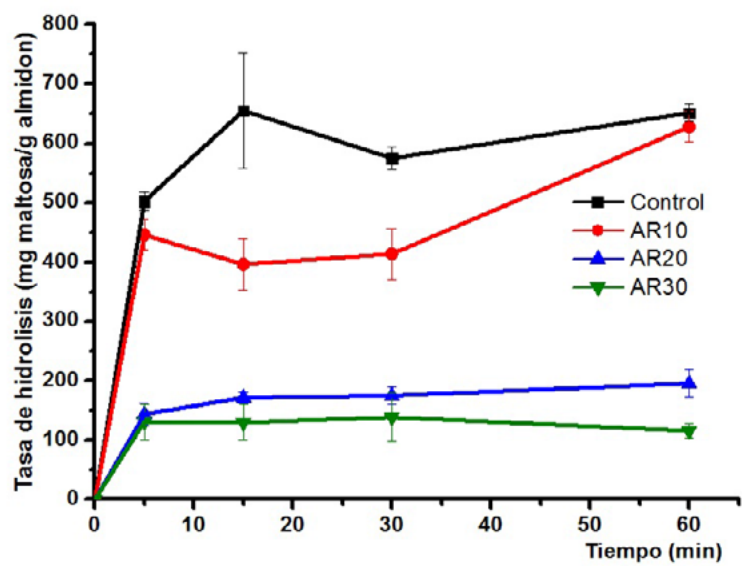


FIGURA 3. Cinética de la hidrólisis del almidón en los panes control, AR10, AR20 y AR30

PROPIEDADES REOLÓGICAS DE MERMELADAS DE NARANJA FORMULADAS CON EDULCORANTES SALUDABLES (TAGATOSA Y OLIGOFRUCTOSA)

Susana R. Arraez, Sergio Sahuquillo, María Luisa Castelló, María Dolores Ortolá

1. RESUMEN

A pesar de la importancia nutricional de los azúcares como fuente energética, su consumo se asocia al desarrollo de caries, sobrepeso y a la interferencia en la regulación de glucosa en sangre para personas que sufren diabetes. Con el fin de evitar estos problemas, la industria alimentaria ofrece alternativas saludables con carácter no cariogénico y menor contenido calórico. Sin embargo, el reemplazamiento de la sacarosa en la elaboración de productos tradicionales exige estudios sobre las propiedades tecnológicas de los sustitutivos. Concretamente, la tagatosa es un monosacárido del tipo cetohexosa que se metaboliza por el organismo a través de rutas que difieren de las que utiliza la glucosa, lo que implica que apenas afecta a los niveles de glucosa y de insulina en sangre. Por otro lado, la oligofructosa es una fibra alimentaria con sabor dulce y que además es prebiótica. En este sentido, el objetivo de este trabajo fue caracterizar el comportamiento reológico de mermeladas de naranja formuladas con diferentes combinaciones de oligofructosa y tagatosa (A: 50 % oligofructosa y 50 % tagatosa; B: 70 % tagatosa y 30 % oligofructosa y C: 70 % oligofructosa y 30 % tagatosa) mediante un ensayo estacionario y otro oscilatorio, comparándolo con una mermelada control formulada con sacarosa. Los resultados obtenidos para cada una de las muestras se pudieron ajustar a un modelo de Herschel–Bulkley. Asimismo, se obtuvieron los parámetros de las leyes de potencia vinculadas al módulo de almacenamiento (G') y al módulo de pérdidas (G''). La

CONTACTO: María Dolores Ortolá mdortola@tal.upv.es

Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo. Universitat Politècnica de València. Camino de Vera s/n, 46022, Valencia, Spain.

mermelada con mayor consistencia fue la formulada con 50 % de oligofructosa y 50 % tagatosa. Por otra parte, en todos los casos G' fue mayor que G'' lo que supuso que las mermeladas exhibieron un comportamiento de un semi-sólido. Además, al inicio del almacenamiento no se observaron diferencias entre la mermelada control y la obtenida con la formulación A, tanto en el módulo de almacenamiento como en el de pérdidas. Al final del periodo considerado, lo más destacado fue el aumento en la componente elástica de la formulación A en contraposición a lo que le ocurrió a las otras formulaciones estudiadas, poniendo de manifiesto la interacción de las variables analizadas en función de la combinación de edulcorantes utilizada. Además, la mermelada que mantuvo las características elásticas más similares a la control, fue la formulación B.

2. INTRODUCCIÓN

Hoy en día, el estilo de vida de la sociedad está llevando al consumo de alimentos cada vez más saludables como son las frutas y hortalizas. Sin embargo, su consumo en fresco lleva consigo el inconveniente de ser perecederos. Como alternativa, su procesado consigue extender su vida útil manteniendo, en la medida de lo posible, algunas de las características del producto fresco. Las mermeladas son un ejemplo típico para la obtención de productos más duraderos. Entre la diversa variedad de frutas que reúnen las condiciones necesarias para la elaboración de mermeladas, las naranjas pueden ser una buena elección en la zona mediterránea por su fácil disponibilidad y precio y por su elevado contenido en nutrientes. En el caso concreto de las mermeladas, como en otros muchos casos, los azúcares/edulcorantes son fundamentales para alcanzar su textura y sabor típicos. Tradicionalmente se ha utilizado la sacarosa como azúcar principal en la elaboración de estos productos. Sin embargo, debido a las connotaciones negativas asociadas a su consumo (cariogénesis, aporte calórico elevado, aumento en el índice glucémico, etc.) se ha sustituido por otros edulcorantes sintéticos de volumen (polialcoholes) o intensivos (sacarina, aspartamo) en función de las propiedades que se pretenden alcanzar en el producto (Edwards, 2002). No obstante, estos edulcorantes también presentan algunos inconvenientes. En concreto, casi todos los polialcoholes tienen un efecto laxante. Respecto a los edulcorantes intensivos hay mucha controversia ya que se está cuestionando su relación con el desarrollo de distintos cánceres y otras enfer-

medades (Weihrauch y Diehl, 2004; Soffritti *et al.*, 2006; Renwick y Nordmann, 2007). Afortunadamente, la industria alimentaria oferta en la actualidad alternativas saludables, como son la tagatosa, la oligofructosa, la Stevia, la isomaltulosa, etc. El reto es comprobar su viabilidad en la reformulación de productos tradicionales para mantener o incluso mejorar sus propiedades tecnológicas.

En los últimos años, la tagatosa está adquiriendo un interés creciente, dado que es un monosacárido casi tan dulce como la sacarosa con un poder edulcorante del 92 % respecto al azúcar (Oh, 2007; Taylor *et al.*, 2008; Calzada-León *et al.*, 2013). La D-tagatosa es una cetohexosa, un estereoisómero de la D-fructosa que se identificó como un componente de un exudado de goma del árbol de cacao (*Sterculiasetigera*) y que también fue detectado como un componente de un oligosacárido en líquenes de las especies *Rocella*. Se encuentra de manera natural en varios alimentos, incluyendo queso y yogurt. También puede ser producido a partir de D-galactosa por un método químico utilizando un catalizador de calcio (Oh, 2007). La tagatosa es muy adecuada para productos de confitería como el chocolate, caramelos duros y pastas de azúcar. Incluso puede utilizarse en helados, refrescos y cereales para el desayuno (Vastenavond *et al.*, 2011). Además, ha sido reconocida como sustancia inocua para la salud por la FAO y la OMS (WHO, 2001). Se considera un ingrediente funcional debido a que se metaboliza parcialmente y la parte no absorbida (80 % de la ingesta) fermenta en el colon, donde ejerce funciones de fibra soluble (Taylor *et al.*, 2008), favoreciendo la proliferación de bacterias ácido lácticas y de la especie *Lactobacillus* (Petersen-Skytte, 2006). Por otra parte, su aporte calórico sólo es de 1.5 Kcal/g y no promueve la caries dental (Levin, 2002).

Por otro lado, la oligofructosa es un oligosacárido derivado de la sacarosa, que actúa como fibra dietética regulando el tránsito gastrointestinal. Mejora la absorción del calcio y reduce el colesterol y los niveles de azúcar en sangre (Chacón-Villalobos, 2006). Además, presenta efecto prebiótico porque favorece selectivamente el crecimiento de las bacterias lácticas y *bifidobacterium* (Ledur *et al.*, 2013). La oligofructosa tiene aproximadamente entre un 30 % y un 60 % de la capacidad edulcorante del azúcar común y es fácilmente hidrolizado por la acción de ácidos o enzimas (Coussement, 1999). Asimismo, la oligofructosa es altamente soluble y posee propiedades tecnológicas que están estrechamente relacionados con las del azúcar y los jarabes de glucosa. A menudo se utiliza en combinación con edulcorantes de alta intensidad. La sustitución de carbohidratos con oligofructosa ofrece

la ventaja de no comprometer el sabor y la textura, mientras que mejora sus características nutricionales (Franck, 2002).

Por todo ello, el objetivo de este trabajo se centra en la caracterización reológica de mermeladas de naranja dulce formuladas con distintas combinaciones de tagatosa y oligofructosa, modelizando su comportamiento mediante un modelo estacionario (modelo de Herschel-Bulkley) y otro oscilatorio (Ley de Potencia).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

FORMULACIÓN Y ELABORACIÓN DE LAS MERMELADAS

La elaboración de las mermeladas se llevó a cabo con una proporción de pulpa de naranja (Var. Navelate y Navelinas) y edulcorantes saludables del 60:40 (p/p) y 1 % de agar agar. Se siguió la siguiente nomenclatura en función de la combinación de edulcorantes/azúcares saludables empleada: Mermelada Control: 100 % sacarosa, Mermelada A: 50 % oligofructosa y 50 % tagatosa, Mermelada B: 30 % oligofructosa y 70 % de tagatosa, y Mermelada C: 70 % oligofructosa y 30 % de tagatosa. Las mermeladas se fabricaron utilizando una batidora térmica (Thermomix, modelo TM31, Vorwerk, Alemania).

DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES REOLÓGICAS

Se utilizó un reómetro (RheoStress 1, Haake). El sistema de medida elegido fue placa-placa ya que el producto que se iba a analizar presentaba una elevada viscosidad. Todos los ensayos se realizaron con un espacio de 2 mm (Sato y Cunha, 2009). Las características reológicas de las mermeladas se determinaron mediante el estudio del comportamiento pseudoplástico (ensayos estacionales) y viscoelástico (ensayos oscilatorios). Primero se realizó un ensayo estacionario utilizando un gradiente de velocidad ($\dot{\gamma}$) = 0 – 100 s⁻¹ en tres ciclos (subida y bajada), con el fin de eliminar así la tixotropía. Los datos obtenidos en el tercer barrido fueron ajustados al modelo de Herschel-Bulkley (Ecuación 1). Este modelo puede describir el comportamiento de fluidos Newtonianos y de fluidos no Newtonianos independientes del tiempo. Los parámetros de este modelo son tres: τ es la tensión de cizallamiento (Pa), τ^0 es la tensión umbral para que el fluido comience a fluir (Pa), $\dot{\gamma}$ es la velocidad de cizallamiento (s⁻¹), k es el índice de consistencia (Pa·sⁿ) y n es el índice de fluidez (Skelland, 1967).

$$\tau = \tau_0 + \kappa \cdot \dot{\gamma}^n \quad (1)$$

En segundo lugar se realizó un ensayo oscilatorio utilizando la ley de potencia que describe el espectro mecánico dentro de la región lineal viscoelástica en términos de módulo de almacenamiento (G') y módulo de pérdidas (G'') como una función de la frecuencia (Ecuaciones (2) y (3)) (Subramanian *et al.*, 2006.; Basu *et al.*, 2011):

$$G' = a \cdot \omega^b \quad (2)$$

$$G'' = c \cdot \omega^d \quad (3)$$

Donde, ω es la velocidad angular ($\text{rad}\cdot\text{s}^{-1}$), a es la frecuencia baja del módulo de almacenamiento (Pa^b); b es el índice de la ley de potencia para el módulo de almacenamiento (adimensional); c es la frecuencia baja del módulo de pérdida (Pa^d); d es el índice de la ley de potencia para el módulo de pérdidas (adimensional).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Respecto a los resultados obtenidos en el ensayo estacionario, en la Figura 1 se presentan los reogramas de las muestras analizadas, poniendo de manifiesto que inicialmente no hubieron diferencias entre las mismas, aunque la curva de la formulación B fue la que se posicionó por encima del resto. Tras el periodo de almacenamiento, el esfuerzo cortante superado en función del gradiente de velocidad se redujo en todos los casos, aunque en menor medida en la mermelada A. Por otra parte, en la Tabla 1 se presentan los valores de los parámetros del modelo de Herschel–Bulkley, descrito en el apartado de materiales y métodos. Como era de esperar, todas las mermeladas presentaron un comportamiento pseudoplástico ($n < 1$). Sin embargo, el esfuerzo umbral (τ_0) fue mayor en la mermelada A transcurridos 45 días de almacenamiento a diferencia de lo que le sucedió a la mermelada B. Esta evolución fue similar en el índice de consistencia (k), para el que la mermelada control también manifestó un aumento tras el periodo de almacenamiento. Además, inicialmente, la mermelada A presentó un mayor nivel de consistencia que aumentó significativamente con el almacenamiento. En cuanto al índice de comportamiento al flujo (n) la mermelada A fue la más parecida a la control y la combinación de los edulcorantes saludables utilizó un mejor mantenimiento de este parámetro que el empleo de sacarosa, ya que la mermelada control manifestó un descenso del

mismo con el tiempo. Por último, la viscosidad aparente inicial (η) fue similar en todas las mermeladas evaluadas excepto para la formulación B en la que fue mayor. No obstante, al final del almacenamiento esta mermelada presentó valores similares a la control final y sólo la mermelada A aumentó su viscosidad. En estudios realizados por otros autores (Peinado *et al.*, 2012) se vio que la sustitución de azúcar y glucosa por otros edulcorantes (isomaltulosa) disminuyó la consistencia y la cohesividad. En el presente trabajo, sólo se observó un aumento en la consistencia para la combinación del 50 % de oligofructosa y tagatosa, pero no para el resto de las combinaciones.

En la Figura 2 se presentan los resultados del ensayo reológico oscilatorio expresados en términos del módulo de almacenamiento (G') asociado al componente elástico y del módulo de pérdidas (G''), asociado al componente viscoso de un material. Este tipo de ensayo permite determinar la proporción entre el componente elástico y viscoso de un material y cuantificar en qué medida se comporta como sólido o como líquido. Puesto que en todos los casos G' fue mayor que G'' las mermeladas exhibieron un comportamiento de un semi-sólido (Peinado *et al.*, 2012). Esta característica es típica de un gel, ya que es más elástico que viscoso. Respecto a las formulaciones estudiadas, al inicio del almacenamiento no se observaron diferencias entre la mermelada control y la que contenía la misma proporción de tagatosa y oligofructosa (formulación A), tanto el módulo de almacenamiento como en el de pérdidas. Por otra parte, a nivel viscoso también fueron similares las mermeladas con la formulación B y C, mientras que el carácter más elástico correspondió a la mermelada con mayor contenido en oligofructosa (C). Al final del periodo considerado lo más destacado fue el aumento en la componente elástica de la formulación A en contraposición a lo que le ocurrió a las otras formulaciones estudiadas, poniendo de manifiesto la interacción de los componentes analizados en función de la combinación de edulcorantes utilizada. Además, la mermelada que mantuvo características elásticas más similares a la control, en este caso fue la B.

Para poder cuantificar con más detalle las diferencias encontradas en el ensayo oscilatorio entre muestras, se ajustaron los valores tanto del módulo de almacenamiento (G') como el de pérdidas (G'') respecto a la velocidad angular (ω) al modelo de la ley de potencia tal y como se describe en el apartado de materiales y métodos. Los resultados obtenidos de los parámetros de dicho modelo se presentan en la Tabla 2. Como se puede observar, inicialmente no se detectaron diferencias signifi-

cativas entre las muestras estudiadas en los parámetros a y b de ley de potencia para el módulo de almacenamiento. Sin embargo, en la formulación correspondiente a la mermelada A, el parámetro “ a ” aumentó significativamente transcurridos los 45 días de almacenamiento, mientras que el factor tiempo no afectó a las otras formulaciones. Este comportamiento sería coherente con lo observado en la Figura 2, reflejando un carácter más elástico de la mermelada A al final del almacenamiento. En cuanto a los términos del modelo relacionados con el módulo de pérdidas (c y d), conviene comentar que también la mermelada A presentó un valor de c significativamente mayor, que se reflejó en que la curva de G'' respecto a la frecuencia también estuvo por encima en comparación a la de las otras muestras (Figura 1). No obstante, estas diferencias fueron mucho menores que en el caso de los parámetros del módulo de almacenamiento. Además, el parámetro d fue más fluctuante entre los casos estudiados, observándose únicamente unos valores más bajos en la formulación A respecto al control tanto al inicio como al final del almacenamiento y más elevados en la mermelada B después de 45 días. En contraposición a las pocas diferencias encontradas en este estudio, Peinado *et al.*, (2012) observaron que la sustitución de sacarosa por isomaltulosa en la formulación de diferentes untables de fresa supuso una disminución en los parámetros a y c del modelo de la ley de potencia. Esta disminución se asoció con la influencia que el tipo de azúcar implica en la disponibilidad de agua en la mezcla de pectina-azúcar-ácido y por tanto en el grado formación de enlaces de hidrógeno y en la posible asociación de agua en la cadena polimérica de la pectina. En el presente estudio, el agente gelificante utilizado fue el agar-agar en lugar de pectina y éste podría haber homogeneizado las propiedades reológicas de las mermeladas independientemente del azúcar utilizado, salvo en la mermelada A.

5. CONCLUSIONES

Desde el punto de vista reológico, es viable la sustitución de la sacarosa en mermeladas por mezclas de tagatosa y oligofructosa, siendo la formulación con la misma proporción de ambos edulcorantes la que presentó mayor consistencia y aumentó su componente elástica con el tiempo.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la familia Capella-Serigó por la donación de la materia prima y a la Conselleria de Educació, Cultura i Esport por la financiación del proyecto GV/2013/029.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BASUA, S., Shivharee, U.S., Singh, T.V., Beniwal, V.S. 2011. Rheological, textural and spectral characteristics of sorbitol substituted mango jam. *Journal of Food Engineering*, 105(3):503-512.
- CALZADA-LEÓN, R., Ruiz-Reyes, M.L., 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*, 17(2):265-286.
- COUSSEMENT, P.A. 1999. Inulin and oligofructose: safe intakes and legal status. *Journal of nutrition*, 129(7):1412-1417.
- EDWARDS, W.P. 2002. La ciencia de las golosinas. Editorial Acribia. S.A.
- FRANCK, A. 2002. Technological functionality of inulin and oligofructose. *British Journal of Nutrition*, 87(2):287-291.
- LEDUR, M.J.; Tessaro, I.; Zapata, C.P. 2013. Physicochemical characterization of Saccharides Powder Obtained from Yacon Roots (*Smallanthus sonchifolius*) by Membrane Technology. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 56(6):1024-1033.
- LEVIN, G.V. 2002. Tagatose, the new GRAS sweetener and health product. *Journal of Medical Food*, 5(1):23-36.
- LINA, B.A.R.; Jonker, G.; Kozianowski, G. 2002. Isomaltulose (Palatinose review of biological and toxicological studies). *Food and Chemical Toxicology*, 40(10): 1375-1381.
- LU, Y., Levin, G.V., Donner, T.W. 2008. Tagatose, a new antidiabetic and obesity control drug. *DIABETES, Obesity and Metabolism*, 10(2):109-134.
- OH, D.K. 2007. Tagatose: properties, applications, and biotechnological processes. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 76(1):1-8.
- PEINADO, I.; Rosa, E.; Heredia, A.; Andrés, A. 2012. Rheological characteristics of healthy sugar substituted spreadable strawberry product. *Journal of Food Engineering*, 113(3):365-373.

- PETERSEN-SKYTTE, U. 2006. Tagatose. En: Sweeteners and sugar alternatives in food technology. Editadopor: Helen Mitchell. Blackwell Publishing Ed. (Oxford), 262-292.
- RENWICK, A.G., Nordmann, H. (2007). First European conference on aspartame: Putting safety and benefits into perspective. Synopsis of presentations and conclusions. Food and Chemical Toxicology, 45(7): 1308-1313.
- SKELLAND, A.H.P. 1967. Non-Newtonian Flow and Heat Transfer. John Wiley and Sons Inc.
- SOFFRITTI, M., Belpoggi, F., DegliEsposti, D., Lambertini, L., Tibaldi, E., Rigano, A. (2006). First experimental demonstration of the multipotential carcinogenic effects of aspartame administered in the feed to Sprague-Dawley rats. Environmental Health Perspectives, 114(3):379-385.
- SUBRAMANIANA, R.; Muthukumarappanb, K.; Gunasekaran, S. 2006. Linear viscoelastic properties of regular and reduced fat pasteurized process cheese during heating and cooling. International Journal of Food Properties, 9(3):377-393.
- TAYLOR, T.P.; Fasina, O.; Bell, L.N. 2008. Physical properties and consumer liking of cookies prepared by replacing sucrose with tagatose. Journal of food science. 73(3):145-151.
- VASTENAVOND, C.M.; Bertelsen, H.; Hansen, S.J.; Laursen, R.S.; Saunders, J.; Eriknauer, K. 2012. Tagatose (D-tagatose). In: Nabors L, editor. Alternative sweeteners, 13:197-222.
- WEIHRAUCH, M.R., Diehl, V. 2004. Artificial sweetener—do they bear a carcinogenic risk? Annals of Oncology, 15(10):1460-1465.
- WHO. 2001. Evaluation of certain food additives and contaminants (Fifty-fifth report of the Joint. FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). WHO Technical Report Series, 901:13-15.
- WHO, 2014. [en línea]. Dirección URL: <<http://www.who.int/mediacentre/news/notes/2014/consultation-sugar-guideline/es>>. [Consulta: 20 Jun. 2014]

7. TABLAS Y FIGURAS

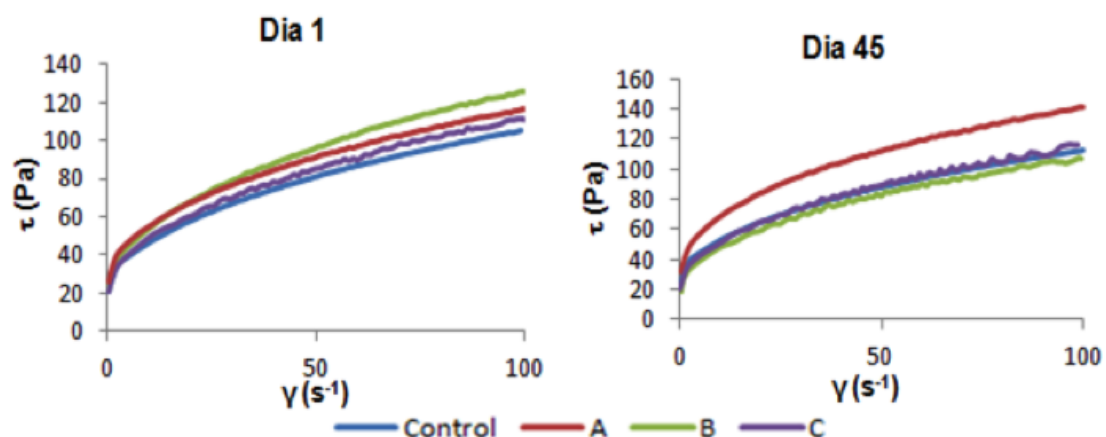


FIGURA 1. Curvas medias del flujo (reogramas) en el ensayo estacionario para determinar las propiedades reológicas de las mermeladas de naranja estudiadas al inicio y al final del almacenamiento.

TABLA 1. Parámetros reológicos del modelo de Herschel-Bulkley para las mermeladas estudiadas al inicio y final del periodo considerado

Formulación	Tiempo (días)	τ (Pa)	k	n	η (Pa·s)
Control	1	120±9 ^a	25±2 ^a	0,298±0,011 ^b	1,204±0,085 ^a
	45	130±7 ^{ab}	30±2 ^b	0,27±0,03 ^a	1,298±0,07 ^{ab}
A	1	137±11 ^{ab}	30±3 ^b	0,284±0,006 ^{ab}	1,365±0,112 ^a
	45	169±6 ^c	36,2±1,2 ^c	0,29±0,02 ^{ab}	1,69±0,06 ^c
B	1	146±7 ^b	28,4±1,2 ^b	0,321±0,005 ^c	1,46±0,07 ^b
	45	123±19 ^a	24±4 ^a	0,322±0,007 ^c	1,233±0,190 ^a
C	1	127±9 ^a	24±2 ^a	0,324±0,004 ^c	1,270±0,092 ^a
	45	134±6 ^{ab}	25,1±1,1 ^a	0,323±0,003 ^c	1,34±0,06 ^{ab}

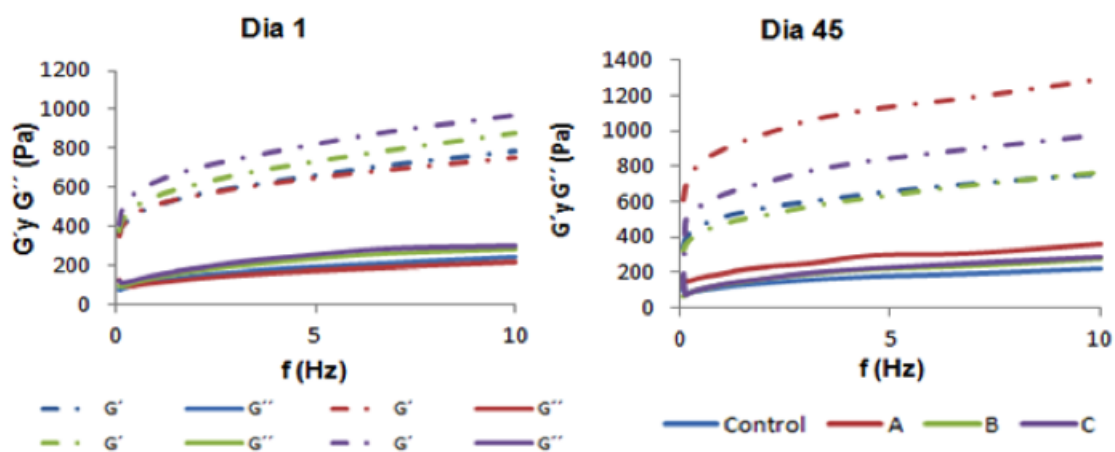


FIGURA 2. Curvas de frecuencia de barrido media obtenidas en el ensayo oscilatorio de las mermeladas de naranja estudiadas al inicio y al final del almacenamiento

TABLA 2. Parámetros del modelo de la ley de potencia para las mermeladas estudiadas al inicio y al final del periodo considerado

Formulación	Tiempo (días)	G'		G''	
		a	b	c	d
Control	1	390±95 ^a	0,16±0,01 ^a	76±31 ^a	0,28±0,04 ^{ab}
	45	386±20 ^a	0,156±0,003 ^a	85±2 ^a	0,207±0,016 ^a
A	1	388±25 ^a	0,152±0,010 ^a	92±22 ^a	0,17±0,06 ^a
	45	680±37 ^c	0,150±0,003 ^a	146±1 ^b	0,183±0,006 ^a
B	1	411±7 ^{ab}	0,17±0,01 ^a	90±7 ^a	0,27±0,03 ^{ab}
	45	347±8 ^a	0,178±0,003 ^a	69±18 ^a	0,35±0,10 ^b
C	1	468±57 ^b	0,167±0,017 ^a	105±17 ^a	0,24±0,02 ^a
	45	374±36 ^a	0,20±0,07 ^a	92±25 ^a	0,26±0,09 ^{ab}

ANÁLISIS DE LAS PROPIEDADES ÓPTICAS Y EVALUACIÓN SENSORIAL DE MERMELADAS DE NARANJA FORMULADAS CON EDULCORANTES SALUDABLES (TAGATOSA Y OLIGOFRUCTOSA)

Susana R. Arraez, Sergio Sahuquillo, María Luisa Castelló, María Dolores Ortolá

1. RESUMEN

La sustitución de componentes en la reformulación de productos tradicionales por otros con mayor nivel nutricional o propiedades beneficiosas para la salud supone un reto importante por la influencia que esto conlleva en sus propiedades tecnológicas y organolépticas. Uno de los aspectos primordiales en estos casos es la apariencia del producto, ya que es el primer estímulo que se percibe por parte de los consumidores. Por ello, los objetivos de este trabajo han sido evaluar las propiedades ópticas (coordenadas CIEL*a*b*) de mermeladas de naranja reformuladas con distintas combinaciones de edulcorantes saludables, como son la oligofructosa y la tagatosa (A: 50 % oligofructosa y 50 % tagatosa; B: 70 % tagatosa y 30 % oligofructosa y C: 70 % oligofructosa y 30 % tagatosa) tras su preparación y transcurridos 45 días de almacenamiento, así como llevar a cabo un análisis sensorial utilizando como referencia una mermelada control formulada con sacarosa. Los resultados obtenidos del análisis instrumental de color indicaron que las coordenadas a* y b* aumentaron en las nuevas formulaciones respecto al control, especialmente en la A y B, y el mayor aporte de oligofructosa (formulación C) redujo el tono y la luminosidad respecto al control. Sin embargo, la luminosidad de las muestras A y B inicialmente fue muy superior a la de la mermelada control. Al final del periodo considerado las formulaciones A y C fueron las más estables, en términos de luminosidad. Además, con el tiempo se observó una reducción en el tono de las nuevas mermeladas, mientras que en el control se mantuvo constante. Respecto al análisis

CONTACTO: María Dolores Ortolá mdortola@tal.upv.es

Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo. Universitat Politècnica de València. Camino de Vera s/n, 46022, Valencia, Spain.

sensorial, las formulaciones A y B presentaron las mejores calificaciones en todos los atributos. Por último, tanto la aceptación global como la intención de compra de todas las muestras que presentaban los edulcorantes saludables fueron superiores a las que solo contenían sacarosa.

2. INTRODUCCIÓN

La industria alimentaria dentro de sus prioridades trata de desarrollar nuevos productos que satisfagan las expectativas del consumidor, que cada día demanda productos más saludables que sean atractivos y agradables al paladar. En el sector de las frutas, la naranja representa un peso muy importante por su volumen de producción mundial así como por su alto contenido en nutrientes saludables. En este sentido, el desarrollo de nuevos productos derivados de la naranja, como por ejemplo la elaboración de mermeladas es una buena forma de fomentar el consumo de esta fruta, mejorando la salud nutricional de la sociedad y facilitando ingesta diaria. Además, el mercado muestra un creciente interés por los edulcorantes de origen natural frente a los edulcorantes sintéticos. Esto se debe a la controversia sobre los riesgos para la salud asociados a los mismos, ya que su consumo en exceso puede provocar un efecto laxante, entre otros inconvenientes (Weihrauch y Diehl, 2004; Soffritti *et al.*, 2006; Renwick y Nordmann, 2007). Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), se recomienda una reducción del consumo excesivo de azúcares y otros carbohidratos de absorción rápida como la sacarosa, así como aumentar la actividad física diaria para frenar la tendencia a la obesidad y a la diabetes del tipo 2 (Lu *et al.*, 2008; Malik, 2010). Por ello, en los últimos años está adquiriendo un creciente interés la D-Tagatosa que es un monosacárido (cetohehexosa) de origen natural, isómero de la fructosa. La tagatosa posee propiedades tecnológicas similares a la sacarosa como aspecto y sabor. Se produce comercialmente a partir de la lactosa en un proceso que implica la hidrólisis enzimática de la lactosa a D-galactosa y aunque se extrae de la proteína de la leche, en su presentación final no contiene ninguna traza de lactosa, ni tampoco presenta gluten ni fructosa, por lo que puede ser consumida por personas con dichas intolerancias. Se considera un ingrediente funcional ya que ejerce funciones de fibra soluble (Taylor *et al.*, 2008), favoreciendo la proliferación de bacterias ácido lácticas y de la especie *Lactobacillus* (Petersen-Skytte, 2006). Además, su aporte calórico sólo es de 1.5 Kcal/g y no promueve la caries dental

(Levin, 2002). Por otra parte, el uso de la oligofructosa también está cobrando interés en los últimos años como edulcorante natural. La oligofructosa es un oligosacárido derivado de la sacarosa, que actúa como fibra dietética soluble de carácter prebiótico regulando el tránsito gastrointestinal, favoreciendo el crecimiento de la microbiota gastrointestinal beneficiosa y la absorción del calcio. Además, produce una reducción de los niveles de colesterol y los niveles de azúcar en sangre (Bosscher *et al.*, 2006; Chacón-Villalobos, 2006; Ledur *et al.*, 2013). Su capacidad edulcorante se encuentra aproximadamente entre un 30 % y un 60 % frente a la sacarosa y es fácilmente hidrolizado por acción de ácidos o enzimas (Coussement, 1999). Por otra parte, posee un bajo contenido calórico, lo que le confiere múltiples beneficios saludables, así como un alto nivel de solubilidad y propiedades tecnológicas muy relacionadas con los de la sacarosa y los jarabes de glucosa. A menudo se suele utilizar en combinación con edulcorantes de alta intensidad y posee al mismo tiempo la ventaja de no comprometer el sabor y la textura, ofreciendo así productos nutricionalmente mejorados (Rao, 2001; Franck, 2002; O'Donnell, 2012). Por ello, el objetivo de este trabajo se centra en el desarrollo de una mermelada de naranja, formulado con una mezcla de tagatosa y oligofructosa que permita sustituir a los azúcares convencionales, analizando su influencia en el color y en la aceptación sensorial.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

FORMULACIÓN Y ELABORACIÓN DE LAS MERMELADAS

La materia prima utilizada para la elaboración de las mermeladas de este estudio fueron naranjas de las variedades *Navelina* y *Navelate*, así como edulcorantes saludables en una proporción 60:40 (p/p), y agar agar (1 %). En función de la combinación de edulcorantes/azúcares saludables las mermeladas presentaron la siguiente nomenclatura: Mermelada Control: 100 % sacarosa, Mermelada A: 50 % oligofructosa y 50 % tagatosa, Mermelada B: 30 % oligofructosa y 70 % de tagatosa, y Mermelada C: 70 % oligofructosa y 30 % de tagatosa. Se utilizó una batidora térmica (Thermomix, modelo TM31, Vorwerk, Alemania), para la realización de dichas mermeladas.

DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES ÓPTICAS

La determinación de las propiedades ópticas se realizó mediante un espectrocolorímetro (Minolta, modelo CM-3600d), y como referencia se tomaron las coorde-

nadas del espacio de color CIEL a^*b^* , obtenidas por reflectancia utilizando como sistema de referencia el iluminante D_{65} y el observador 10° sobre fondo negro y blanco (previamente calibrado). Todas las determinaciones analíticas se realizaron colocando la mermelada en una cubeta de 20 mm de espesor. Todos los análisis se llevaron a cabo por triplicado, al día siguiente de la preparación de la mermelada, y a los 45 días de almacenamiento.

ANÁLISIS SENSORIAL

Para cuantificar la aceptación de las mermeladas formuladas, se llevó a cabo una evaluación sensorial de las cuatro formulaciones. Para ello, a cada catador se le presentaron cuatro muestras en recipientes codificados con números de tres dígitos (326, 147, 648 y 467). Se realizó un test de aceptación mediante una escala hedónica de 9 puntos (ISO 4121:1987 y UNE-87025:1996) para la evaluación de los siguientes atributos: color del producto, aroma del producto, textura general, consistencia, capacidad unttable, palatabilidad, sabor del producto, sabor dulce y sabor amargo, aceptación global, e intención de compra. Se evaluó además, si el producto presentaba sinéresis. En la evaluación sensorial participaron personas adultas de edades comprendidas entre veinte y cincuenta años del entorno de la Universidad Politécnica de Valencia. El análisis sensorial se realizó en la sala de catas de la del Instituto de Ingeniería para el Desarrollo de los Alimentos que se encuentra ubicado en la Ciudad Politécnica de la Innovación (CPI-UPV), normalizada según las normas UNE 87-004.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 1A se presentan la ubicación de las coordenadas colorimétricas b^* y a^* en los planos cromáticos de las diferentes mermeladas de naranjas dulces para el primer día y el día 45 de almacenamiento. Para poder apreciar con más detalle los cambios registrados en las mermeladas estudiadas se hizo una ampliación del rango de estudio de las coordenadas a^* y b^* que se presenta en la Figura 1B. Se puede observar como las coordenadas a^* y b^* aumentaron en las nuevas formulaciones respecto al control, especialmente en la A y B. Esto implica que el croma siguió la misma tendencia, mientras que el tono se mantuvo en valores similares para las formulaciones A y B a día 1 pero disminuyó respecto al control en la formulación C a día 1 y en todas

las nuevas formulaciones a los 45 días. No obstante, como se puede ver en la Figura 1A, todas las muestras presentaron un aspecto bastante similar. Por otra parte, en la Figura 2 se presentan los resultados de la luminosidad inicial y después de 45 días de almacenamiento de las mermeladas evaluadas. Según estos resultados, inicialmente, la luminosidad de las muestras A y B fue muy superior a la de la mermelada Control a diferencia de lo que le ocurrió a la mermelada C, siendo la formulación B la que manifestó la mayor L^* . Al final del periodo considerado las formulaciones más estables fueron la A y la C, mientras que el Control y la B, sí que variaron su luminosidad respecto a la inicial, pero de forma opuesta, aumentando en el caso del Control y disminuyendo para la B. Por todo ello, se deduce que la mayor proporción de oligofructosa, redujo significativamente la luminosidad de las mermeladas.

En la Figura 3 se presentan los resultados del análisis sensorial realizado por los catadores de las muestras Control, A, B y C. Los resultados ponen de manifiesto que las muestras A y B presentaron las mejores calificaciones en todos los atributos. Respecto a los atributos de color, aroma, textura y consistencia no se registraron diferencias significativas entre las muestras. Además, se puede observar como las mermeladas A y B, que presentaban mayores proporciones de tagatosa, mostraron un mayor dulzor, llegando a superar el umbral de este atributo para valores de tagatosa del 50 % en el contenido de azúcares. Esto sería coherente con las recomendaciones indicadas por parte del fabricante de la tagatosa comercial (dos cucharadas de sacarosa proporciona la misma capacidad edulcorante que una de tagatosa). Por otra parte, aunque el nivel de amargor de las mermeladas evaluadas en este estudio se preveía muy bajo, se consideró conveniente analizar la posible interferencia de la combinación de edulcorantes utilizada en esta propiedad. Así, el Control y la formulación C presentaron un mayor sabor amargo frente al resto, poniendo de manifiesto la gran capacidad de la tagatosa para anular esta sensación. Además, en ningún caso se apreció sinéresis. Por último, resaltar que tanto la aceptación global como la intención de compra de todas las muestras que presentaban los edulcorantes saludables fueron superiores a las que solo contenían sacarosa.

5. CONCLUSIONES

La reformulación de mermeladas de naranja con los edulcorantes saludables utilizados en este trabajo es viable. Sólo el mayor aporte de oligofructosa y el almacena-

miento indujeron cambios ligeros en el color de las nuevas mermeladas. En relación al análisis sensorial, las formulaciones A y B presentaron las mejores calificaciones en todos los atributos. Por último, tanto la aceptación global como la intención de compra de las mermeladas con edulcorantes saludables fueron superiores a las que solo contenían sacarosa.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la familia Capella-Serigó por la donación de la materia prima y a la Conselleria de Educació, Cultura i Esport por la financiación del proyecto GV/2013/029.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BOSSCHER, D., Van Loo, J., Franck, A. 2006. Inulin and oligofructose as functional ingredients to improve bone mineralization. *International Dairy Journal*, 16: 1092–1097.
- CHACÓN-VILLALOBOS, A. 2006. Perspectivas agroindustriales actuales de los oligofruetosacáridos (FOS). *Agronomía Mesoamericana*, 17(2):265-286.
- COUSSEMENT, P.A. 1999. Inulin and oligofructose: safe intakes and legal status. *Journal of nutrition*, 129(7):1412-1417.
- FRANCK, A. 2002. Technological functionality of inulin and oligofructose. *British Journal of Nutrition*, 87(2):287-291.
- ISO 4121:1987 y UNE-87025:1996. Evaluación de productos alimentarios por métodos que utilizan escala.
- LEDUR, M.J.; Tessaro, I.; Zapata, C.P. 2013. Physicochemical characterization of Saccharides Powder Obtained from Yacon Roots (*Smallanthus sonchifolius*) by Membrane Technology. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 56(6):1024-1033.
- LEVIN, G.V. 2002. Tagatose, the new GRAS sweetener and health product. *Journal of Medical Food*, 5(1):23-36.
- LU, Y., Levin, G.V., Donner, T.W. 2008. Tagatose, a new antidiabetic and obesity control drug. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 10(2):109-134.
- MALIK, V.S., Popkin, B.M., Bray, G.A., Després, J.P., Hu, F.B. 2010. Sugar-sweetened beverages, obesity, type 2 diabetes mellitus, and cardiovascular disease risk. *Journal of the American Heart Association. Circulation*, 121: 1356-1364.

- O'DONNELL, K. 2012. Sweeteners and Sugar Alternatives in Food Technology. Blackwell Publishing Ltd., pag.38.
- PETERSEN-SKYTTE, U. 2006. Tagatose. En: Sweeteners and sugar alternatives in food technology. Editado por: Helen Mitchell. Blackwell Publishing Ed. (Oxford), 262-292.
- RAO, V.A, 2001. The prebiotic properties of oligofructose at low intake levels. *Nutrition Research*, 21:843-848.
- RENWICK, A.G., Nordmann, H. (2007). First European conference on aspartame: Putting safety and benefits into perspective. Synopsis of presentations and conclusions. *Food and Chemical Toxicology*, 45(7):1308-1313.
- SOFFRITTI, M., Belpoggi, F., Degli Esposti, D., Lambertini, L., Tibaldi, E., Rigano, A. (2006). First experimental demonstration of the multipotential carcinogenic effects of aspartame administered in the feed to Sprague-Dawley rats. *Environmental Health Perspectives*, 114(3):379-385.
- TAYLOR, T.P.; Fasina, O.; Bell, L.N. 2008. Physical properties and consumer liking of cookies prepared by replacing sucrose with tagatose. *Journal of food science*. 73(3):145-151.
- UNE 87-004. Análisis Sensorial. Guía para la instalación de una sala de cata.
- WEIHRAUCH, M.R., Diehl, V. 2004. Artificial sweetener—do they bear a carcinogenic risk? *Annals of Oncology*, 15(10):1460-1465.

7. TABLAS Y FIGURAS

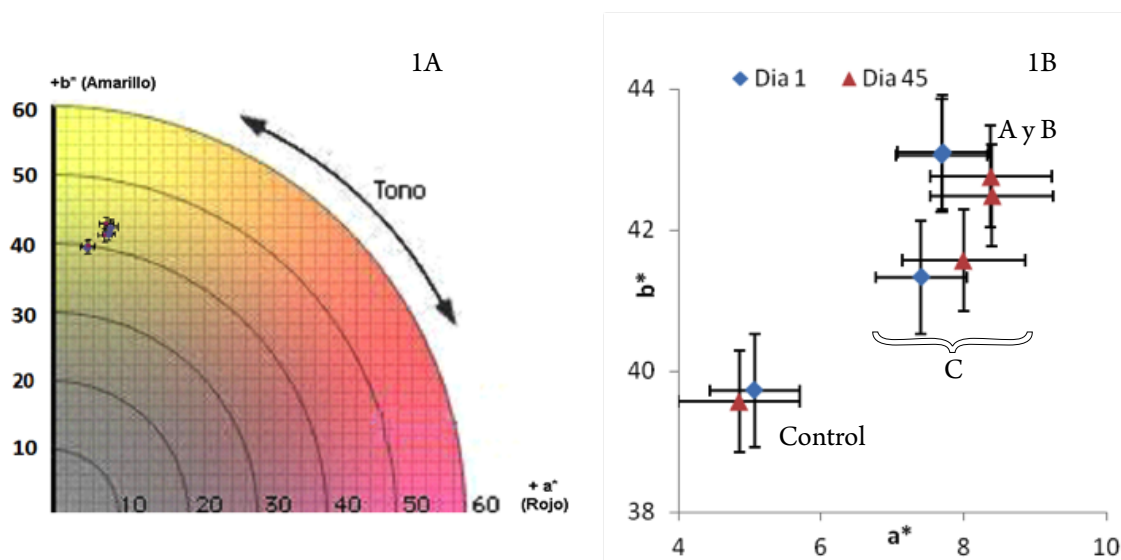


FIGURA 1. A) Ubicación de los resultados de color en el primer cuadrante del Diagrama cromático de a^*b^* . B) Ampliación de la escala de ubicación de las coordenadas a^* y b^* de las mermeladas estudiadas

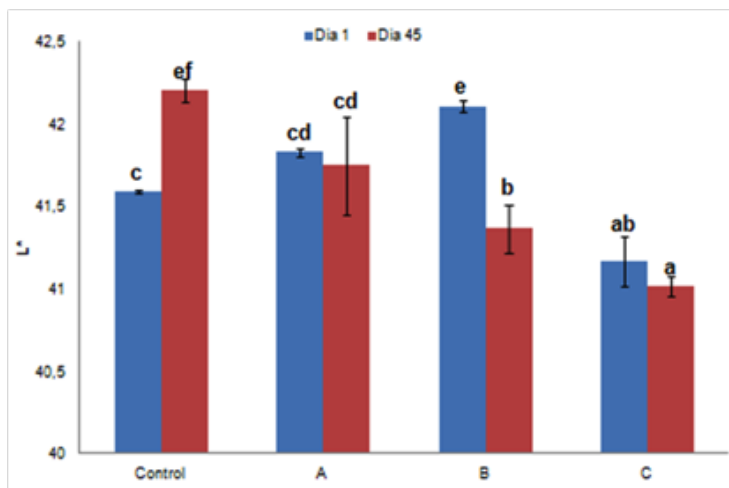


FIGURA 2. Evolución de la luminosidad de las diferentes formulaciones de mermelada. Las letras iguales indican los grupos homogéneos

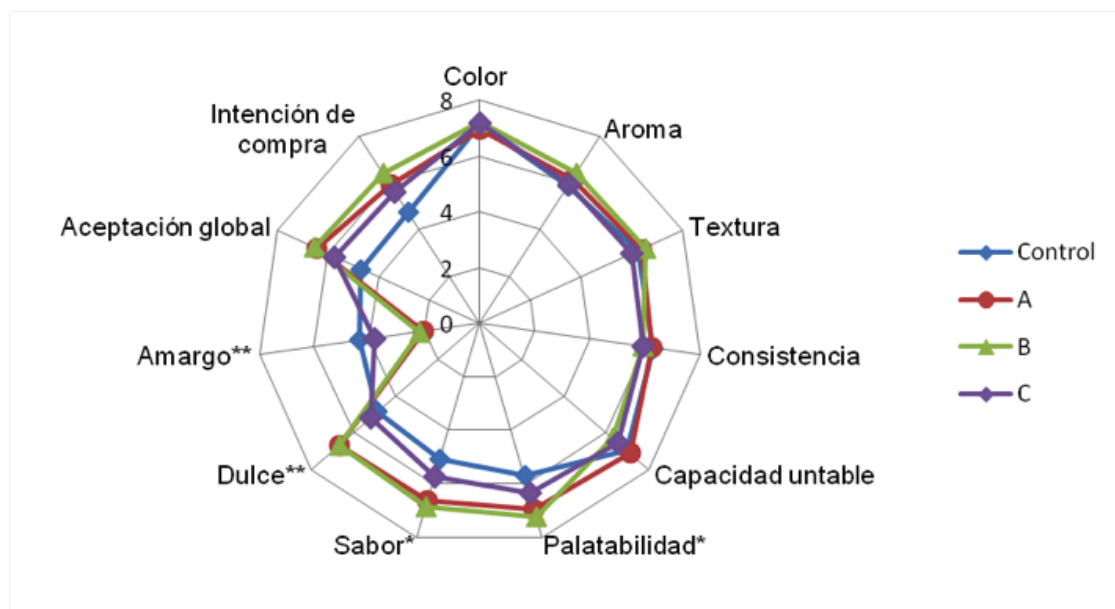


FIGURA 3. Resultados del análisis sensorial en la evaluación de las muestras: Control (100 % sacarosa); A (50 % oligofruktosa y 50 % tagatosa); B (30 % oligofruktosa y 70 % tagatosa), y C (70 % oligofruktosa y 30 % tagatosa). *p-value < 0.05, **p-value < 0.01

PHYSICAL AND SENSORY PROPERTIES OF JAMS FORMULATED WITH NON REFINED CANE SUGAR

Lourdes Cervera, Lucía Seguí, Cristina Barrera, Noelia Betoret, Pedro Fito

1. ABSTRACT

The use of non-refined cane sugar in food formulation is an interesting option since it contains antioxidant compounds not present in the white refined sugar commonly used at industrial level. However, the partial or total substitution of white sugar by healthier alternatives could involve an undesired impact on physical and sensory properties, and therefore condition consumer's acceptance. In the present work, kiwi and strawberry jams were manufactured by partially replacing white sugar for jaggery. Jams were manufactured with a 67 % w/w of fruit and different percentages of sugar replacement (0, 15, 30, 45, 60 y 75 % w/w). Samples were analyzed in terms of colour (reflectance, Minolta spectrophotometer), rheological behavior (plate-plate stationary test, Haake rheometer) and mechanical properties (back-extrusion assay performed, Aname texture analyzer). Sensory properties were also evaluated by an acceptance test carried out with 15 non-trained panelists. Likewise, jams microbiological stability (aerobic mesophilic bacteria, molds and yeasts) was analyzed along storage for three months. Among all physical parameters measured, colour was the most influenced by the replacement, it being browner and different from control as jaggery content increased. This was due to the combination of an increase in a^* coordinate and a decrease in L^* coordinate in the case of kiwi jams, and to a decrease in L^* coordinate in the case of strawberry jams. The increase in the apparent viscosity along with the percentage of replacement was also sharper in the case of kiwi jams, which were markedly less viscous than strawberry jams. However, these differences were not crucial in the acceptability tests, since testers preferred

CONTACTO: Lucía Seguí lusegil@upvnet.upv.es

Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos para el
Desarrollo, Universitat Politècnica de València, Camino de Vera
s/n, Valencia, España.

the samples formulated with 60 % of sugar replacement. Besides, a more intense fruit flavor was identified in these samples. Toasted and liquorice flavours provided by the non-refined sugar, as well as the acidity mitigation in the case of the kiwi jam were also appreciated by the testers. With respect to the microbiological stability, growth of aerobic mesophilic bacteria, moulds or yeasts was not observed for any of the times studied (24 h, 1 and 3 months) in the kiwi jam; nevertheless, some growth of aerobic mesophilic bacteria was observed in the strawberry jam, which could be related to its higher pH. In conclusion, partial substitution of white sugar for jaggery in kiwi and strawberry jam manufacture results in a healthier product with a good consumer acceptance.

2. INTRODUCCIÓN

A pesar de la búsqueda de alternativas acalóricas y anticariogénicas, el azúcar sigue siendo un alimento ampliamente consumido y utilizado en la formulación de alimentos, no sólo por sus propiedades organolépticas, sino también por sus propiedades conservativas. No obstante, los productos con elevado contenido en azúcar no suelen estar bien valorados, ya que el consumo excesivo de dicho carbohidrato se considera perjudicial para la salud, asociándose a desórdenes metabólicos y a una mayor incidencia de caries. En este sentido, una mejoría las propiedades nutricionales de los productos azucarados serviría para contribuir a la valoración de este tipo de productos.

En este contexto, la caña de azúcar y sus derivados surgen como una alternativa edulcorante más saludable, puesto que se ha demostrado que dichos productos contienen compuestos antioxidantes que le confieren capacidad antirradical (Payet, 2005; Calabuig *et al.*, 2013; Seguí *et al.*, 2014). No obstante, a pesar de suponer una mejoría con respecto a las propiedades funcionales de los productos ricos en azúcar, la sustitución parcial o total del azúcar blanco por una alternativa más saludable como un azúcar no refinado podrían suponer un impacto indeseado sobre las propiedades físicas y sensoriales y, por lo tanto, condicionar la aceptabilidad por parte del consumidor.

El objetivo del presente trabajo ha sido el de analizar el impacto de la sustitución parcial del azúcar blanco por panela granulada, un azúcar no refinado con probadas propiedades antioxidantes (Calabuig, 2012), en las propiedades físicas (color, textura, consistencia) y organolépticas (aceptación por parte del consumidor) de mermeladas de kiwi y fresa.

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 en el mercado y por su intenso color, susceptible de disimular el efecto de la sustitución del azúcar blanco por azúcar de caña no refinado. Como sustituto del azúcar común se escogió la panela granulada, con base a los resultados de un trabajo anterior (Seguí *et al.*, 2014). Por último, para conferir a las mermeladas una consistencia adecuada, se añadió pectina de manzana (Sigma Aldrich) en diferentes proporciones: un 1 % ó un 2 % del peso total de las materias primas antes de su cocción, para las mermeladas de kiwi y 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. En primer lugar, la fruta, seleccionada manualmente 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 proporciones, 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 minutos, los frascos se voltearon nuevamente y, una vez enfriados, se almacenaron en oscuridad y a temperatura ambiente hasta su análisis.

DETERMINACIONES ANALÍTICAS

Las determinaciones descritas en este apartado se realizaron por triplicado y transcurridas 24 horas desde el proceso de elaboración. Las determinaciones microbiológicas se realizaron también al cabo de 1 y 3 meses de almacenamiento.

El color de las muestras se midió por reflectancia con un espectrocolorímetro (MINOLTA, mod. CM-3600d), previamente calibrado sobre fondo negro y blanco. Las lecturas se realizaron con cubeta de metacrilato transparente de 4,7×3,2×2 cm³ de capacidad y, una vez comprobada la opacidad de las muestras, se escogió un fondo negro. Las coordenadas en el espacio de color CIEL*a*b* se obtuvieron a partir del espectro de absorción proporcionado por el equipo entre 380 y 770 nm (iluminante D₆₅ y observador 10°).

El comportamiento reológico de las muestras se analizó con un reómetro (HAAKE, mod. Rheo Stress RS1) conectado a un baño termostataado (HAAKE, mod. Phoenix 2) a 25 °C. El sistema de medida elegido fue placa-placa, ya que el producto que se iba a analizar presentaba una elevada viscosidad. Se realizó un ensayo estacionario utilizando un gradiente de velocidad de 0 a 100 s⁻¹, con un gap de 2 mm y tres ciclos de subida y bajada. Los datos obtenidos se ajustaron según el modelo de Hershel-Bulkey (ecuación 1), lo que permitió obtener los parámetros característicos del producto: índice de comportamiento al flujo (*n*, adimensional), índice de consistencia (*k*, en Pa·s^{*n*}) y umbral de fluencia (*t*₀, en Pa).

$$\tau = \tau_0 + \kappa \cdot \dot{\gamma}^n \quad (\text{ecuación 1})$$

Las propiedades mecánicas de las mermeladas se evaluaron mediante un ensayo de retro-extrusión llevado a cabo con el analizador de textura Aname Texture Analyzer, mod. TA.XT plus. El ensayo se realizó a temperatura ambiente con un émbolo de base plana de 35 mm de diámetro que comprimió una cantidad de muestra conocida (\approx 200 g) durante 15 mm a una velocidad de 1 mm/s. A partir de las curvas fuerza vs. tiempo se obtuvieron los parámetros característicos: fuerza máxima (*F*_{máx} en N) y adhesividad (*A*, en N·s).

El contenido en aerobios mesófilos, mohos y levaduras se evaluó según los métodos de dilución seriada y siembra en placa descritos por Pascual y Calderón (2000) para alimentos y bebidas. La siembra de aerobios mesófilos se realizó en profundidad en medio Plate Count Agar (Scharlau Micobiology) y la incubación se llevó a cabo durante 3 días a 30 °C. En el caso de mohos y levaduras, la siembra se hizo en superficie en medio Sabouraud (Scharlau Micobiology) y la incubación se prolongó hasta 5 días a 25 °C.

Para saber el grado de aceptación de las diferentes mermeladas por parte del consumidor, así como su intención de compra, se realizó una prueba sensorial con un panel de 15 catadores no entrenados, que puntuaron en una escala del 1 al 9 diferentes atributos: aceptación global, color, aroma, textura, sabor, dulzor y acidez.

Finalmente, con la intención de evaluar el grado de significancia que el porcentaje de reemplazo ejerce sobre cada uno de los parámetros analizados, se llevó a cabo un análisis simple de la varianza (ANOVA) con un nivel de confianza del 95 % ($P < 0,05$) usando el Software Statgraphics Plus, versión 5,1.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En primer lugar en el presente estudio se evaluó el efecto que la adición de panela granulada en diferentes proporciones ejercía sobre el color de las mermeladas elaboradas, tanto a partir de kiwi como a partir de fresa. En la Tabla 1 se muestran los valores de las coordenadas cromáticas L^* , a^* y b^* , así como la diferencia de color ($\Delta E = \sqrt{\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2}}$) calculada con respecto a la mermelada formulada con la misma fruta pero que no incluía panela en su composición. Como se puede observar, el parámetro que más se vio afectado por la sustitución del azúcar blanco fue la luminosidad (L^*), que disminuyó con el aumento en el porcentaje de panela granulada empleado en la formulación. Este hecho, constatado tanto en las mermeladas de fresa como en las de kiwi, está asociado con el oscurecimiento experimentado por las mismas debido a la presencia de azúcar de caña no refinado. Se podría decir, además, que con el aumento en el porcentaje de reemplazo el color de las muestras evolucionó hacia tonos marrones o pardos: en las mermeladas de kiwi, por tratarse de una fruta verde de coordenadas $L^* = 36,5 \pm 0,5$, $a^* = -3,2 \pm 0,2$ y $b^* = 23,9 \pm 0,5$ según Cervera *et al.* (2013), los tonos marrones se alcanzaron fundamentalmente a través del aumento en la coordenada cromática a^* ; en el caso de las mermeladas elaboradas a partir de fresa, por tratarse de una fruta roja de coordenadas $L^* = 33 \pm 3$, $a^* = 20 \pm 3$ y $b^* = 8 \pm 2$ según Contreras (2008), los tonos marrones se alcanzaron fundamentalmente a través del descenso en las coordenadas cromáticas a^* y b^* .

Por otro lado, en este estudio se evaluó el efecto que la adición de panela granulada en diferentes proporciones ejercía sobre las propiedades reológicas de las mermeladas elaboradas. Como se puede observar en la Tabla 2, todas las mermeladas

presentaron un comportamiento no newtoniano del tipo plástico que se ajustaba bastante bien al modelo de Herschel-Bulkley. Aunque el análisis estadístico reveló para el grado de fluidez (n) y el umbral de fluencia (t_0) diferencias significativas entre las diversas formulaciones, no se observó una clara correlación entre los cambios en estas variables y el porcentaje de panela incorporado. Por lo que respecta al coeficiente de consistencia (k), éste aumentó progresivamente conforme lo hizo el porcentaje de reemplazo. Como era de esperar debido a su mayor contenido en pectina, las mermeladas de fresa resultaron notablemente más viscosas que las de kiwi, hecho que atenuó ligeramente el incremento en el valor del parámetro k debido al aumento en la concentración de panela.

Esta diferencia en la concentración de pectina fue también responsable de los valores, por lo general más elevados, de consistencia (relacionada con la $F_{\text{máx}}$) y adhesividad (A) obtenidos para las mermeladas de fresa (Tabla 3). De nuevo, aunque el análisis estadístico reveló diferencias significativas entre las diversas formulaciones, no se observó una clara correlación entre los cambios en las propiedades mecánicas y el porcentaje de panela incorporado.

En la Figura 1 se muestran los resultados obtenidos en la prueba de aceptación sensorial llevada a cabo. En ninguno de los atributos textura, dulzor y acidez se observaron diferencias significativas debidas a la presencia o no de diferentes cantidades de panela. Por lo que respecta al color percibido por el consumidor, la adición de panela granulada tuvo un impacto negativo sobre las mermeladas kiwi, obteniendo la muestra con mayor porcentaje de reemplazo (K75) 2 puntos menos que la mermelada control elaborada con azúcar blanco (K0). En el caso de la fresa, debido al color más oscuro de la materia prima, la adición de pequeñas cantidades de panela mejoró la percepción del color por parte del consumidor (muestras F15 y F30) y la mermelada más concentrada en panela (F75) fue percibida muy similar en color a la mermelada control (F0). Estos resultados contrastan con los obtenidos analíticamente, según los cuales la adición de panela dio lugar a diferencias de color más acusadas (ΔE) en el caso de las mermeladas de fresa. En cuanto al aroma, este atributo no se vio afectado por la concentración de panela en las mermeladas de kiwi pero sí en las de fresa, donde la panela granulada mejoró el aroma al aportar notas tostadas y de regaliz. En relación con el sabor, el consumidor otorgó una puntuación significativamente más baja a las muestras más concentradas en azúcar no refinado (K75 y F75), en las que el sabor de la panela enmascaraba mucho el sabor

de la fruta. En cuanto a la aceptación global, las mermeladas con porcentajes de reemplazo intermedios (alrededor del 30 %) fueron las que obtuvieron, para los dos tipos de fruta empleados, mejores puntuaciones.

Finalmente, el análisis microbiológico de las muestras llevado a cabo transcurridas 24 horas, 1 mes y 3 meses desde la elaboración de las mismas (Tabla 4) puso de manifiesto que, en cumplimiento con el Real Decreto 1094/1987, se trata de alimentos seguros ($< 10^4$ ufc/g para aerobios mesófilos y $< 10^2$ ufc/g para mohos y levaduras). Únicamente el recuento de aerobios mesófilos realizado en mermeladas de fresa tras 3 meses de almacenamiento alcanzó valores superiores a los permitidos por la legislación, lo que se explicó en términos del valor de pH ligeramente más elevado que presentan las fresas ($3,53 \pm 0,07$ frente al pH de los kiwis frescos utilizados de $3,473 \pm 0,006$), por lo que están más desprotegidas desde el punto de vista microbiológico.

5. CONCLUSIONES

Como conclusión del presente trabajo se desprende que la adición de panela granulada en porcentajes intermedios, lo cual supondría una mejora notable de las propiedades antioxidantes de las mermeladas, no afecta prácticamente a la textura y las propiedades reológicas del producto. Se ha comprobado, además, que la sustitución podría incluso mejorar la calidad organoléptica frente a la mermelada control, debido al aporte de sabor a tostado y regaliz que reconocen algunos catadores. Sin embargo, no conviene despreciar el efecto negativo de la sustitución sobre el color, lo cual debe tenerse en cuenta a la hora de formular productos a partir de frutas de color claro. En cuanto a la estabilidad microbiológica se puede concluir que para las mermeladas elaboradas con kiwi, eran seguras microbiológicamente al mes y a los tres meses de almacenamiento. En cambio para las mermeladas de fresa, cuyo pH fue ligeramente inferior a las de kiwi, el crecimiento microbiológico de aerobios mesofilos superó el límite legal a los 3 meses de almacenamiento, por lo que habría que añadir algún tipo de acidulante o conservante.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BASU S., Shivhare U.S., (2010) Rheological, textural, micro-estructural and sensory properties of mango jam. *Journal of Food Engineering* 100:357-365.
- CALABUIG, L., Seguí, 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.
- CALABUIG, M. (2012). Evaluación de las propiedades fisicoquímicas y antioxidantes de azúcares comerciales de caña no refinados. Trabajo final de carrera. Universitat Politècnica de València, Valencia, España.
- CERVERA, J.T., Benlloch-Tinoco, M.; García-Martínez, E. y Martínez-Navarrete, N. (2013). Optimización de un proceso de secado combinado para obtener kiwi en polvo de alta calidad. Tesis de máster. Universitat Politècnica de València, Valencia, España.
- CONTRERAS, C. (2008). Influencia del método de secado en parámetros de calidad relacionados con la estructura y el color de manzana y fresa deshidratadas. Tesis doctoral. Universitat Politècnica de València, Valencia, España.
- PASCUAL ANDERSON, M.R., Calderón Pascual, V. (2000). *Microbiología Alimentaria: metodología analítica para alimentos y bebidas*, 2ª Ed. Díaz Santos, Madrid.
- 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.
- PEINADO I., Rosa E., Heredia A., Escriche I., Andrés A., (2013) Optical, Mechanical and Sensorial Properties of Strawberry Spreadable Products Formulated with Isomaltulose. *Food Bioprocess Technol* 6:2353–2364.
- REAL DECRETO 1094/1987 de 26 de Junio (B.O.E 8-9-87).
- SANCHO J., Bota E., De Castro J.J. (1999) *Introducción al análisis sensorial de los alimentos*. Edicions Universitat de Barcelona.
- 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).

7. TABLAS Y FIGURAS

TABLA 1. Propiedades ópticas 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	L*	a*	b*	ΔE
K0	26,7 ± 0,2 ^e	0,3 ± 0,2 ^a	17,2 ± 0,4 ^a	-
K15	24,8 ± 0,3 ^d	2,2 ± 0,2 ^b	18,7 ± 0,3 ^{b,c}	3,1 ± 0,2 ^a
K30	21,2 ± 0,2 ^b	3,9 ± 0,2 ^c	18,2 ± 0,2 ^b	6,61 ± 0,12 ^b
K45	19,5 ± 0,4 ^a	4,9 ± 0,3 ^d	17,1 ± 0,7 ^a	8,5 ± 0,3 ^e
K60	22,0 ± 0,3 ^c	5,40 ± 0,03 ^e	18,4 ± 0,4 ^{b,c}	7,0 ± 0,3 ^c
K75	20,9 ± 0,4 ^b	5,9 ± 0,3 ^f	18,9 ± 0,5 ^c	8,2 ± 0,2 ^d
F0	15,7 ± 0,5 ^d	25,0 ± 0,4 ^e	12,3 ± 0,6 ^d	-
F15	14,6 ± 0,2 ^c	23,5 ± 0,5 ^d	12,5 ± 0,7 ^d	2,0 ± 0,4 ^a
F30	13,2 ± 0,4 ^b	20,5 ± 0,3 ^c	10,9 ± 0,6 ^c	5,4 ± 0,4 ^b
F45	12,4 ± 0,7 ^b	18,0 ± 0,9 ^b	9,8 ± 0,7 ^b	8,1 ± 0,8 ^c
F60	11,3 ± 0,7 ^a	15,0 ± 0,6 ^a	8,4 ± 0,5 ^a	11,6 ± 0,5 ^d
F75	10,8 ± 0,2 ^a	14,2 ± 0,2 ^a	8,68 ± 0,2 ^a	12,36 ± 0,2 ^d

^{a,b,c...} Para cada tipo de fruta, letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas con un nivel de confianza del 95 %.

TABLA 2. Propiedades reológicas 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	n	K (Pa·s ⁿ)	t ₀ (Pa)
K0	0,28 ± 0,14 ^{ab}	0,9 ± 0,2 ^a	45 ± 9 ^c
K15	0,34 ± 0,05 ^{abc}	1,47 ± 0,12 ^b	28 ± 14 ^{ab}
K30	0,41 ± 0,04 ^{bc}	1,68 ± 0,12 ^b	30,5 ± 0,8 ^{abc}
K45	0,4513 ± 0,0009 ^c	1,72 ± 0,08 ^b	40 ± 2 ^{bc}
K60	0,23 ± 0,02 ^a	1,4 ± 0,3 ^b	32 ± 4 ^{abc}
K75	0,281 ± 0,007 ^{ab}	1,70 ± 0,09 ^b	21 ± 4 ^a
F0	0,5011 ± 0,0004 ^b	3,001 ± 0,012 ^{bc}	46,6 ± 0,2 ^{ab}
F15	0,490 ± 0,003 ^b	2,73 ± 0,03 ^{ab}	47 ± 4 ^{ab}
F30	0,457 ± 0,002 ^a	2,48 ± 0,07 ^a	56 ± 4 ^c
F45	0,468 ± 0,009 ^a	2,9 ± 0,2 ^b	44 ± 4 ^a
F60	0,464 ± 0,010 ^a	3,2 ± 0,2 ^c	52,0 ± 1,4 ^{bc}
F75	0,457 ± 0,006 ^a	3,53 ± 0,07 ^d	56 ± 2 ^c

^{a,b,c...} Para cada tipo de fruta, letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas con un nivel de confianza del 95 %.

TABLA 3. Propiedades mecánicas 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	F _{máx} (N)	A (N·s)
K0	0,44 ± 0,04 ^b	1,08 ± 0,06 ^b
K15	0,47 ± 0,02 ^b	1,21 ± 0,05 ^c
K30	0,48 ± 0,04 ^b	1,26 ± 0,05 ^c
K45	0,544 ± 0,006 ^c	1,46 ± 0,02 ^d
K60	0,48 ± 0,02 ^b	1,11 ± 0,03 ^b
K75	0,396 ± 0,011 ^a	0,897 ± 0,014 ^a
F0	0,47 ± 0,02 ^a	1,407 ± 0,005 ^{ab}
F15	0,510 ± 0,013 ^{abc}	1,52 ± 0,04 ^{bc}
F30	0,48 ± 0,03 ^{bc}	1,52 ± 0,08 ^{bc}
F45	0,47 ± 0,02 ^a	1,36 ± 0,05 ^a
F60	0,53 ± 0,03 ^c	1,51 ± 0,03 ^{bc}
F75	0,52 ± 0,03 ^{bc}	1,55 ± 0,10 ^c

^{a,b,c...} Para cada tipo de fruta, letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas con un nivel de confianza del 95 %.

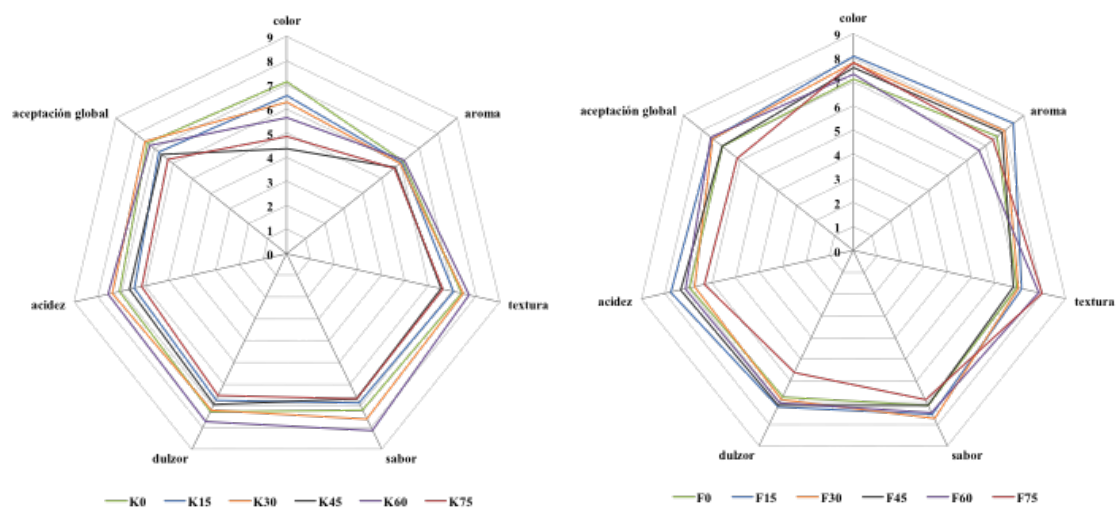


FIGURA 1. Resultados de la prueba de aceptación llevada a cabo con las mermeladas de kiwi (K) y fresa (F) formuladas con diferentes porcentajes de azúcar de caña no refinado (desde 0 hasta un 75 % de reemplazo)

TABLA 4. Recuentos microbiológicos (aeróbios mesófilos y mohos + levaduras) 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) y almacenadas durante 3 meses

muestra	aerobios mesófilos (UFC/g)			mohos y levaduras (UFC/g)		
	24 h	1 mes	3 meses	24 h	1 mes	3 meses
K0	$< 10^4$	$< 10^4$	$< 10^4$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$
K15	$< 10^4$	$< 10^4$	$< 10^4$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$
K30	$< 10^4$	$< 10^4$	$< 10^4$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$
K45	$< 10^4$	$< 10^4$	$< 10^4$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$
K60	$< 10^4$	$< 10^4$	$< 10^4$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$
K75	$< 10^4$	$< 10^4$	$< 10^4$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$
F0	$< 10^4$	$< 10^4$	$(2 \pm 3) \cdot 10^4$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$
F15	$< 10^4$	$< 10^4$	$(4 \pm 6) \cdot 10^4$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$
F30	$< 10^4$	$< 10^4$	$(2 \pm 3) \cdot 10^4$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$
F45	$< 10^4$	$< 10^4$	$(2 \pm 3) \cdot 10^4$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$
F60	$< 10^4$	$< 10^4$	$(2 \pm 3) \cdot 10^4$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$
F75	$< 10^4$	$< 10^4$	$(2 \pm 2) \cdot 10^4$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$

EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE ENZIMAS PROTEOLÍTICAS OBTENIDAS A PARTIR DE SUBPRODUCTOS PESQUEROS

Daniela L. Lamas^{1,2}, María I. Yeannes^{1,3}, Agueda E. Massa^{2,3}

1. RESUMEN

Durante las operaciones pesqueras destinadas al procesamiento de pescados y mariscos para consumo humano, se generan subproductos (recortes de músculo, piel y aletas, espinas, cabezas y vísceras) que constituyen más del 40 % del peso total. Estos subproductos presentan compuestos con importantes propiedades nutricionales, funcionales y bioactivas que pueden ser utilizados en diversos sectores industriales. En los últimos años, la extracción de enzimas proteolíticas a partir de cabezas y vísceras (estómago, hígado, intestino, páncreas, etc.) de distintos organismos marinos ha generado grandes expectativas. Muchas de estas enzimas presentan alta actividad catalítica a concentraciones mínimas, mayor eficiencia enzimática a temperaturas relativamente bajas y amplio rango de pH, y se desnaturalizan a temperaturas moderadas. Dichas características las hace idóneas para distintos bioprocesos industriales. En este contexto, el propósito del presente trabajo fue extraer y caracterizar enzimas con actividad proteolítica a partir de cabezas y vísceras de *Engraulis anchoíta*, y vísceras de *Merluccius hubbsi*. Los ejemplares fueron obtenidos de campañas de investigación realizadas por el INIDEP. Los tejidos bajo estudio fueron separados cuidadosamente. La extracción enzimática se realizó por homogenización en agua destilada (1:4 p/v) y posterior centrifugación (10000g, 30 min., 4 °C). Para analizar la temperatura y pH óptimo se realizó un diseño experimental factorial 2² compuesto central. La actividad proteolítica se evaluó usando azocaseína como sustrato; expresando los resultados como el $\Delta\text{Abs}/$

CONTACTO: Agueda E. Massa aguedamassa@inidep.edu.ar

1. Facultad de Ingeniería. Universidad Nacional de Mar del Plata.

2. Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero.

3. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas.

min/mg de proteína. Los extractos enzimáticos presentaron valores proteicos significativamente diferentes (anchoíta $8,44 \pm 0,13$ mg/ml; merluza $14,61 \pm 0,22$ mg/ml). Los resultados enzimáticos para ambas especies exhibieron mayor actividad a valores de pH y temperatura de aproximadamente 8 y 60 °C. Asimismo se evidenció actividad en el rango de pH comprendido entre 7-9, siendo del 67 y 73 % para anchoíta y del 82 y 98 % para merluza respectivamente. A 40 °C la actividad catalítica presentó una disminución superior al 50 %. Los resultados obtenidos indican que las proteasas extraídas constituyen una alternativa válida para la revalorización de estos subproductos pesqueros.

2. INTRODUCCIÓN

En Argentina, dos recursos marinos de gran importancia comercial para el sector pesquero industrial son la merluza común (*Merluccius hubbsi*) y la anchoíta (*Engraulis anchoita*). Estas especies se distribuyen ampliamente en el Océano Atlántico Sudoccidental entre latitudes que van desde los 22°S y 55°S. La merluza común, que es la base de la industria pesquera argentina, se comercializa fundamentalmente como filete congelado y en menor proporción descabezada y eviscerada (H&G), mientras que la anchoíta descabezada y parcialmente eviscerada se destina a la industria del salado-madurado (Massa *et al.*, 2013; Czerner, 2011). Estas formas de comercialización generan una considerable cantidad de residuos (más del 40 % del peso total), constituido por la cabeza, órganos digestivos y reproductivos y esqueletos. En general, los residuos de la industrias pesqueras contienen proteínas de alto valor biológico, lípidos ricos en ácidos poliinsaturados omega 3, vitaminas y otros compuestos con propiedades funcionales y bioactivas (Gbogouri *et al.*, 2004, Massa *et al.*, 2012). Si bien, la mayor parte de estos desechos son destinados a la elaboración de harina y aceite de pescado, se están estudiando diferentes alternativas tecnológicas que generen productos de mayor valor agregado con potenciales aplicaciones en distintos sectores industriales.

Actualmente, una importante línea de investigación es la extracción de enzimas proteolíticas, principalmente de las vísceras y músculos (Christensen, 1989, Diaz-Lopez & Garcia-Carreño, 2000, Gilberg *et al.*, 2000, Ashie & Lanier, 2000, Shaidi & Kamil, 2001, Trincone, 2011). Dichas enzimas presentan propiedades únicas de actividad y estabilidad debido a la adaptación de los organismos marinos

a condiciones ambientales extremas y disimiles: temperaturas que varían entre -2 °C (en zonas árticas y antárticas) hasta los 32 °C (en aguas tropicales), salinidades fluctuantes, variaciones en la disponibilidad de oxígeno, la presencia de agentes surfactantes, oxidantes y metales pesados (Haard, 1992; Díaz-López & García-Carreño, 2000, Joo *et al.*, 2001; Ketnawa *et al.*, 2013). Varios autores han mostrado la presencia de enzimas proteolíticas en diferentes especies pesqueras. Castillo-Yáñez *et al.*, (2005), aislaron tripsina del apéndice pilórico de sardina (*Sardinops sagax caerulea*). Klomklao *et al.*, (2006) purificaron y caracterizaron tripsina en bazo de atún *Thunnus albacares*. Shi *et al.*, (2007) reportaron esta enzima en *Macruronus novaezelandiae*. Mazorra-Manzano *et al.*, (2008) encontraron alta actividad proteolítica en músculo de *Merluccius productus*. En la familia *Engraulidae*, Martínez & Gildberg (1988) determinaron enzimas proteolíticas en el tracto digestivo de *E. encrasicolus*, Heu *et al.*, (1991) reportaron proteasas alcalinas en vísceras de la *E. japónica*, y serin -proteinasas fueron purificados de anchoa salada de la misma especie (*E. japónica*) por Ishida *et al.*, (1995). Todos estos estudios indican que estas enzimas presentan una alta actividad molecular a bajas temperaturas y amplios rangos de pH, y se desnaturalizan a temperaturas moderadas. Estas características son importantes y ventajosas en diferentes industrias, pero particularmente en el sector de los alimentos (Shahidi & Kamil, 2001; Rasmussen & Morrissey, 2007). Las bajas temperaturas utilizadas en los procesos de elaboración de los alimentos protegen su valor nutricional, minimizan la actividad bacteriana y reducen reacciones químicas secundarias (en muchos casos no deseadas) que alteran las propiedades sensoriales del producto manufacturado. Asimismo, es importante destacar, que aproximadamente el 60 % de las enzimas utilizadas en la industria son proteasas y en muchos bioprocesos no se requiere una purificación exhaustiva de la misma; con lo cual, una purificación parcial de bajo costo, hace económicamente competitiva su extracción.

En este contexto, el objetivo del presente trabajo fue extraer enzimas con actividad proteolítica de las vísceras de merluza *Merluccius hubbsi* y la cabeza y vísceras de anchoíta *Engraulis anchoíta*, y estudiar sus condiciones óptimas de reacción utilizando Metodología de Superficie de Respuesta (RSM).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

MUESTRAS BIOLÓGICAS

Los ejemplares de merluza y anchoíta fueron obtenidos de campañas de investigación realizadas por el Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero (INIDEP). Los tejidos bajo estudio (vísceras de merluza y cabeza y vísceras de anchoíta) fueron separados cuidadosamente y almacenados congelados a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su posterior utilización.

PREPARACIÓN DE LOS EXTRACTOS ENZIMÁTICOS CRUDOS

Los tejidos fueron homogeneizados en agua destilada fría (1: 4 w / v) utilizando un homogeneizador Omni Mixer Homoginizer (Sorvall). Los homogenatos fueron centrifugados durante 30 min a 10000g y $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Centrífuga Multipurpose Hanil Industrial, Corea) y la fracción proteica soluble fue separada y cuantificada por Lowry (1951), utilizando como estándar albúmina bovina (Sigma A9647).

ENSAYOS DE ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

La actividad proteínasa se evaluó según Castro-Ceseña *et al.*, (2012), 15 μL del extracto enzimático crudo fueron incubados con 500 μL de azocaseína al 0,5 % w / v en 50 mM Tris-HCl. La reacción fue detenida con 500 μL de ácido tricloroacético (TCA) en frío y centrifugados durante 5 minutos a 10000g y $4\text{ }^{\circ}\text{C}$. La absorbancia de los sobrenadantes fue determinada a 366 nm en UV. La actividad proteolítica fue expresada como el $\Delta\text{Abs}/\text{min}/\text{mg}$ de proteína.

DETERMINACIÓN DE LOS VALORES DE pH Y TEMPERATURA ÓPTIMOS

Para determinar los valores de pH y temperatura óptimos se propuso un diseño compuesto central consistente en: un diseño factorial 2^2 completo, 5 repeticiones del punto central y 2 puntos axiales en los ejes correspondientes a cada uno de los factores, situados a una distancia α del centro del diseño, usando Design Expert 7.0 Software. En la Tabla 1, se muestran los niveles de los factores, que fueron fijados sobre la base de ensayos preliminares y antecedentes bibliográficos (Siringan *et al.*, 2006; Pereira *et al.*, 2013). Trece tratamientos fueron establecidos a partir de la simulación emitida como matriz experimental. Un análisis de la varianza (ANOVA) se realizó para determinar los efectos significativos de las variables analizadas. Me-

diante la aplicación del análisis de regresión múltiple para los datos experimentales, se generó una ecuación polinómica de la actividad enzimática en función del pH y la temperatura. La función de deseabilidad se utilizó para el ajuste de la optimización del modelo, maximizando la actividad de la enzima. Los gráficos de superficie de respuesta fueron valorados para representar la máxima actividad enzimática como una función de dos variables en el nivel óptimo.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

ACTIVIDAD PROTEOLÍTICA DE RESIDUOS DE ANCHOÍTA

El contenido de proteína del extracto soluble de residuos de anchoíta fue de $8,44 \pm 0,13$ mg/ml. A partir del análisis estadístico de los efectos significativos de cada factor y de las interacciones entre ellos, se obtuvo un modelo predictivo cuyos coeficientes fueron analizados mediante ANOVA (Tabla 2). Los resultados indicaron que el modelo fue significativo, (valor $F=120,63$), y que la actividad proteolítica fue influenciada por la temperatura y los valores cuadráticos de pH y temperatura (B, A^2, B^2); siendo, el valor p en todos los casos $< 0,0001$. La ecuación polinómica de segundo orden para los datos experimentales obtenidos fue:

$$\text{Actividad proteolítica} = -0,75 + 0,16 \text{ pH} + 4,5 \cdot 10^{-3} \text{ Temperatura} + 2,5 \cdot 10^{-5} \text{ pH Temperatura} - 0,010 \text{ pH}^2 - 3,7 \cdot 10^{-5} \text{ Temperatura}^2$$

El ajuste del modelo, evaluado mediante el R^2 , mostro un elevado nivel de credibilidad (98,85 %). El alto valor del coeficiente R^2 apoyó la aplicabilidad del modelo (Yetilmezsoy *et al.*, 2009). El coeficiente R^2 predicho indicó que el modelo predice la respuesta adecuadamente. El coeficiente de variación ($CV = 4,91$ %) fue relativamente bajo, lo que indica una alta fiabilidad en la precisión de los experimentos (He *et al.*, 2012). La máxima actividad proteolítica arrojada por la optimización numérica ($\Delta\text{Abs}/\text{min}/\text{mg-proteína}=0,056$) fue obtenida a pH 8,04 y 64,30 °C de temperatura. El valor de deseabilidad para esta solución fue 0,97. Asimismo, se evidenció una disminución de la actividad a pH 7 y 9 del 67 y 73 %, respectivamente. La naturaleza no lineal de la superficie de respuesta (Figura 1) para el valor de actividad proteolítica indicó que no existe una relación lineal directa entre las variables independientes seleccionadas. La proyección permite ver que los valores de pH y

temperatura superiores e inferiores al punto óptimo, tienen un efecto negativo sobre la actividad proteolítica del residuo de anchoíta, siendo la temperatura más significativa, como lo demuestra el valor del análisis de varianza del modelo. Los resultados de máxima actividad proteolítica encontrados en los residuos de *E. anchoíta* son consistentes con datos reportados en otras especies de la familia *Engraulidae*. Hernández- Herrero *et al.*, (1999) reportaron en *E. encrasicholus*, actividad proteolítica a 50 °C y pH 8,0. Siringan *et al.*, (2006) informaron un rango de pH óptimo de 8 a 9 y 60 °C en *Stolephorus indicus*. El mismo rango de pH óptimo fue encontrado en estudios realizados en *E. Japonica* por Heu *et al.*, (1995).

ACTIVIDAD PROTEOLÍTICA DE RESIDUOS DE MERLUZA

El contenido de proteína del extracto soluble de vísceras de merluza fue de $14,61 \pm 0,22$ mg/ml. Los resultados del análisis de varianza indican que el modelo fue significativo, (valor $F=27,95$) y que la actividad proteolítica fue significativamente influenciada por el pH, la temperatura, y los valores cuadráticos de pH y temperatura (A, B, A^2 , B^2) (Tabla 3). El valor obtenido para el coeficiente de regresión indica que el modelo es viable ($R^2= 0,96$). El coeficiente R^2 ajustado ($R^2= 0,93$) y el R^2 predicho= 0,77 indicaron que el modelo predice el valor de respuesta satisfactoriamente. El coeficiente de variación fue bajo ($CV=5,26\%$), lo que indica una buena precisión. La ecuación polinómica de segundo orden para los datos experimentales obtenidos fue:

$$\text{Actividad proteolítica} = -0,20 + 0,42 \text{ pH} + 1,70 \cdot 10^{-3} \text{ Temperatura} + 4,50 \cdot 10^{-5} \text{ pH Temperatura} - 2,40 \cdot 10^{-3} \text{ pH}^2 - 1,10 \cdot 10^{-5} \text{ Temperatura}^2$$

El valor máximo de actividad proteolítica arrojado por la optimización numérica ($\Delta\text{Abs}/\text{min}/\text{mg-proteína}=0,031$) fue a pH 8,32 y 62,97 °C de temperatura. El valor de deseabilidad obtenido para esta solución fue 0,98. Además, el extrato presentó actividad proteolítica en todo el rango de pH estudiado, siendo del 82 % a pH 7 y del 90 % a pH 9. El gráfico de superficie de respuesta para el valor de actividad proteolítica indicó que no existe una relación lineal directa entre las variables independientes seleccionadas (Figura 3). Los resultados encontrados en vísceras de merluza mostraron que los valores de pH y temperatura óptimos son similares a lo observado en otras especies pesqueras. Mazorra- Manzano *et al.*, (2008) estudiaron

proteasas del músculo de *Merluccius productus*, encontrando máxima actividad en rango de pH activo entre 6,75 a 8 a 60 °C. Sin embargo, al tratarse de un tejido diferente, el tipo y las características de las enzimas presentes pueden mostrar comportamientos disímiles. Además, factores externos, como alteraciones postmortem, pueden afectar las condiciones de reacción. Los valores de respuesta encontrados en el presente estudio, muestran que la actividad proteolítica de vísceras de merluza es estable en los rangos de pH y temperatura seleccionados, pero ambos factores tienen un efecto negativo cuando son inferiores al punto óptimo.

5. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos sugieren que las proteasas presentes de los residuos de merluza y anchoíta tienen alta actividad catalítica a valores de pH próximos a 8 y temperaturas que oscilan los 60 °C. El diseño experimental combinado con el análisis de varianza y la metodología de superficie de respuesta constituyeron una herramienta útil para evaluar y optimizar las condiciones óptimas de actividad proteolítica de los extractos enzimáticos. La extracción de proteasas de los residuos de ambas especies podría considerarse una alternativa válida no solo revalorizar estos subproductos pesqueros, sino también, para disminuir el impacto ambiental que los mismos ocasionan en zonas industriales pesqueras. En este sentido es importante destacar que la mayor parte de las enzimas utilizadas en distintos bioprocesos industriales son proteasas, y en muchos casos, su aplicación no requiere una purificación exhaustiva; con lo cual, una purificación parcial de bajo costo, hace económicamente rentable su extracción.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASHIE, A & Lanier, T. C. (2000). N.F Haard, B.K Simpson (Eds.), New York, NY 147–190.
- CASTILLO-YÁÑEZ F.J., Pacheco-Aguilar R, García-Carreño F.L., Navarrete-Del Toro M de L. (2005). *Comp Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Bio.* 140, 91-98.
- CASTRO CESEÑA, A. B., Sanchez Saavedra, M. P., Márquez Rocha, J. F. (2012). *Food Chem.* 135, 583-589.
- CHRISTENSEN, F. M. (1989). *Biotechnol. App. Biochem.* 11, 249–265.
- CZERNER M., (2011). Tesis doctoral UNMdP pp. 225.

- DIAZ-LOPEZ, M. & Garcia-Carreño, F.L. (2000). N.F Haard, B.K Simpson (Eds.), New York, NY pp. 571–618.
- GBOGOURI, G. A., Linder, M., Fanni, J., & Parmentier, M. (2004). *J. Food Sci.* 69, 615–622.
- GILDBERG, A., Simpson, B.K., Haard N.F. (2000). N.F Haard, B.K Simpson (Eds.), New York, NY 619–639.
- HE, W.S., Ma, Y., Pan, X.X., Li, J.J., Wang, M.G., Yang, Y.B., Jia, C.S., Zhang, X.M., Feng, B. (2012). *J. Agric. Food Chem.* 60, 9763–9769.
- HAARD, N.F., (1992). *J. Aquat. Food Prod. Technol.* 1 (1), 17–35.
- HEU, M. S., Kim, H. R., & Pyeun, J. H. (1995). *Comp. Biochem. Physiol Part B*, 112, 557–567.
- HERNANDEZ-HERRERO, M. M., Roig-Sagues, A. X., Lopez-Sabater, E. T., Rodriguez-Jerez, J. J., & Mora-Ventura, M. T. (1999). *J. Agric Food Chem.* 47, 3319–3324.
- ISHIDA, M., Sugiyama, N., Sato, M., & Nagayama, F. (1995). *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 59, 1107–1112.
- JOO H. S, Park G. C, Kim K. M, Paik S. R, Chang C. S. (2001). *Process Biochem.* 36, 893-900.
- KETNAWA, S., Benjakul, S., Ling, T.C., Martínez-Alvarez, O., Rawdkuen, S. (2013). *Chem. Cent. J.* 7, 79–88.
- KLOMKLAO, S., Benjakul, S., Visessanguan, W., Kishimura, H., & Simpson, B. K. (2006). *J. Agric. Food Chem.* 54, 5617–5622.
- LOWRY, O. H., Rosenbrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). *J. Biolog. Chem.* 193, 256–275.
- MASSA A.E., Manca, E. & Yeannes M. I., (2012). *Food Sci. Technol. Int.* 18, 339-35.
- MASSA A.E., Fernandez-Compás, A., Pennisi, C., Manca E, (2013). *Rev Invest. Desarr. Pesq.* 23, 161-174.
- MARTINEZ, A., & Gildberg, A. (1988). *IJFST's.* 23, 185–194.
- MAZORRA-MANZANO M. A, Pacheco-Aguilar R., Ramírez-Suárez J. C, Garcia-Sanchez G (2008). *Food Chem.* 107, 106-111.
- RASMUSSEN R. S, Morrissey M. T. (2007). *Adv. Food Nutr. Res.* 52, 237–292.
- SAHIDI & KAMIL. (2001). *Trends Food Sci. Technol.* 12, 435–464.
- SHI CY, MARSHALL SN, Simpson BK (2007). *J. Food Biochem* 31, 772–79.
- SIRINGAN, P., Raksakulthai, N., & Yongsawatdigul, J. (2006). *Food Chem.* 101, 82-89.
- TRINCONE A (2011) *Drugs.* 9, 478-99.
- YETILMEZSOY, K., Demirel, S., Vanderbei, R. J. (2009). *J. Hazard. Mater.* 171, 551–562.

7. TABLAS Y FIGURAS

TABLA 1. Niveles codificados y actuales para los factores ensayados en el diseño experimental

Factores	Símbolo	Niveles		
		-1	0	1
pH	A	7	8	9
Temperatura °C	B	40	60	80

TABLA 2. Análisis de varianza para actividad proteolítica de residuos de anchoíta

Parámetro	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media	Valor F	p-valor
Modelo	$2,3510^3$	5	$4,7 \cdot 10^{-5}$	120,63	< 0,0001
A-pH	$3,6610^{-6}$	1	$3,6 \cdot 10^{-3}$	0,94	0,3648
B-Temperatura	$3,2210^{-4}$	1	$3,2 \cdot 10^{-1}$	82,5	< 0,0001
AB	$1,0010^{-6}$	1	$1,0 \cdot 10^{-3}$	0,26	0,6282
A ²	$7,5310^{-4}$	1	$7,53 \cdot 10^{-3}$	192,87	< 0,0001
B ²	$1,5210^3$	1	$1,5 \cdot 10^{-1}$	389,24	< 0,0001
Residual	$2,7310^{-3}$	7	$3,9 \cdot 10^{-3}$		
Falta de ajuste	$2,0610^{-3}$	3	6,85	4,06	0,1046
Error	$6,7510^{-6}$	4	1,69		
Cor Total	$2,3810^{-3}$	12			

TABLA 3. Análisis de varianza para actividad proteolítica de residuos de merluza

Parámetro	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media	Valor F	p-valor
Modelo	$2,0610^4$	5	$4,110^5$	32,64	0,0001
A-pH	$2,1610^{-5}$	1	$2,1610^{-5}$	17,09	0,0044
B-Temperatura	$2,0810^{-5}$	1	$2,0810^{-5}$	16,46	0,0048
AB	$3,210^{-6}$	1	$3,210^{-6}$	2,56	0,1532
A 2	$3,910^{-5}$	1	$3,910^{-5}$	31,13	0,008
B 2	$1,4210^4$	1	$1,4210^4$	109,01	< 0,0001
Residual	$8,910^{-6}$	7	$1,310^{-6}$		
Falta de ajuste	$6,410^{-6}$	3	$1,310^{-6}$	3,40	0,1341
Error	$2,510^{-6}$	4	$2,110^{-6}$	32,64	
Cor Total	$2,110^{-4}$	12	$6,210^{-7}$	17,09	

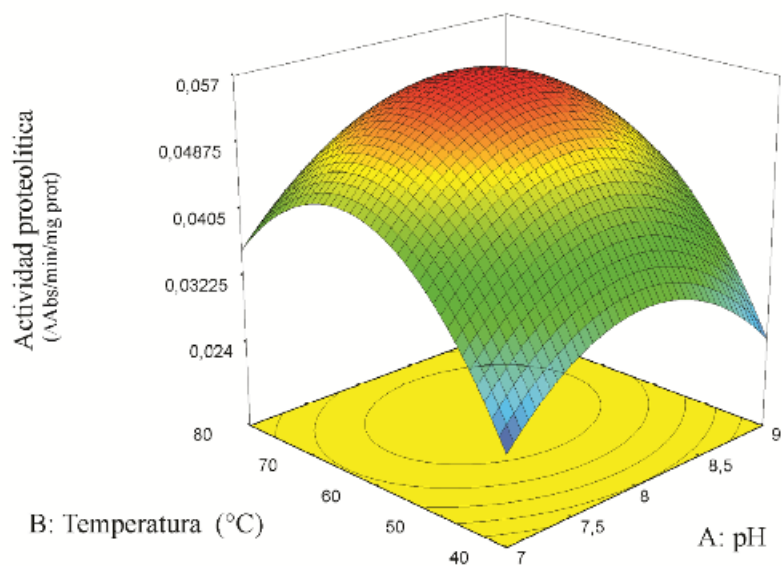


FIGURA 1. Gráfica de Superficie de Respuesta para residuos de anchoíta con valores de temperatura y pH fijos al punto óptimo

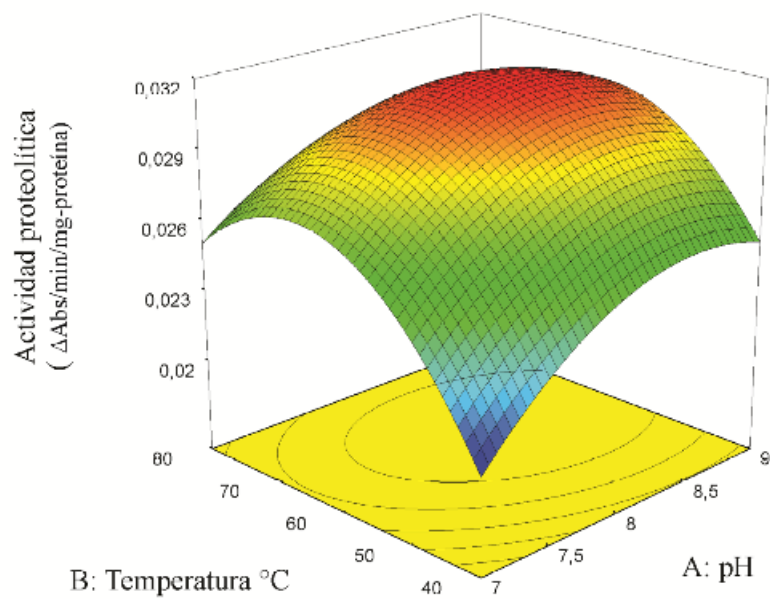


FIGURA 2. Gráfica de Superficie de Respuesta para vísceras de merluza con valores de temperatura y pH fijos al punto óptimo

PRODUCCIÓN DE METABOLITOS DEL CACAO POR MÉTODOS BIOTECNOLÓGICOS

Luisa Fernanda Rojas¹, Maria Isabel Restrepo², Carolina Flórez², Adriana Gallego², Rigoberto Ríos³, Lucía Atehortúa²

1. RESUMEN

En los últimos años, se ha investigado sobre los polifenoles del cacao y su producción por métodos biotecnológicos, como alternativa para suplementar sub-productos del cacao. Con el fin de evaluar la producción de biomasa, polifenoles y otros metabolitos de *T. cacao*, en biorreactor de tanque agitado de 7.5 L, se desarrollaron modelos empíricos del coeficiente de transferencia de oxígeno (k_La), en función de la velocidad de aireación y agitación para 4 configuraciones impulsor-difusor. Seguidamente, se evaluó el efecto del k_La dentro del intervalo 3,8 – 42,0 h⁻¹ para determinar el efecto de la oferta de oxígeno sobre el crecimiento (productividad volumétrica), la viabilidad celular y el contenido de polifenoles totales (CPT). Finalmente, para la mejor condición del k_La : 27,1 h⁻¹ (OTR_{max} de 4.32 KgO₂.m⁻³.día⁻¹), se determinó la cinética de crecimiento, el consumo de azúcares y la producción de polifenoles totales (CPT) en el tiempo. Al final del cultivo, se realizaron análisis bromatológicos, el perfil de ácidos grasos y de metales pesados, los cuales fueron comparados con semillas de cacao provenientes del ecotipo empleado para la obtención de biomasa.

CONTACTO: Luisa Fernanda Rojas lfernanda.rojas@udea.edu.co

1. Universidad de Antioquia, Grupo Biotecnología-Escuela de Microbiología, AA 1226 Medellín, Colombia.

2. Universidad de Antioquia, Grupo Biotecnología, AA 1226 Medellín, Colombia.

3. Universidad de Antioquia, Grupo de Bioprocesos, AA 1226 Medellín, Colombia.

2. INTRODUCCIÓN

Los cultivos celulares vegetales, hoy en día, son una tecnología promisoría para la producción de bioactivos de alto valor medicinal, ingredientes nutraceuticos y proteínas recombinantes (Davies & Deroles, 2014; Huang & McDonald, 2009; Parekh *et al.*, 2008). Aunque estos procesos biotecnológicos normalmente son costosos, permiten garantizar la uniformidad de los productos finales y las buenas prácticas de manufactura (BMP), requeridas en la industria farmacéutica, cosmética y alimenticia. Para el caso específico de los aditivos alimentarios, este proceso puede ser aplicado para ingredientes de alto costo y que además se encuentren presentes en baja proporción en la planta de origen (Davies & Deroles, 2014). En este caso en particular, frente a la problemática que actualmente enfrenta la producción de cacao a nivel nacional y mundial debido a la baja oferta frente a una demanda en constante crecimiento, la producción de polifenoles mediante cultivos celulares de *Theobroma cacao*, se convierte en una alternativa viable, que requiere de la evaluación de rendimientos y productividades en biorreactor de laboratorio, con el propósito de generar la información confiable que permita realizar estudios de factibilidad técnica y económica de su producción a escala industrial.

Una de las condiciones más importantes para alcanzar un alto rendimiento y productividad para el cultivo de cualquier especie vegetal en biorreactores, es la transferencia de oxígeno representada por el coeficiente de transferencia de masa, k_La , el cual es una función de las propiedades fisicoquímicas del sistema y el área de la interfase a (De Ory, Romero, & Cantero, 1999). El crecimiento y mantenimiento celular y la producción de metabolitos, requieren algunos nutrientes, en especial el oxígeno cuya escasez afecta los procesos de desarrollo (Calik, Yilgor, Ayhan, & Demir, 2004). Por esta razón es esencial, evaluar la transferencia de oxígeno, como variable inicial para el establecimiento de un cultivo a escala de biorreactor.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal. Para el establecimiento de los cultivos en biorreactor de 7.5 L, se empleó un inóculo de 3-4 días de edad, proveniente de un pre-cultivo en medio líquido, obtenido a partir de células de 30 días de la línea celular CB-1. El pre-inóculo fue establecido en matraces de 500 mL, y sub-cultivados cada 7 días con medio

líquido DKW suplementado con vitaminas MS, 1g.L⁻¹ de NZ amino A (Sigma), 30 g.L⁻¹ de sacarosa comercial, una relación NAA: Zeatina (Sigma). Los cultivos fueron incubados a 100 rpm, y una temperatura de 22 ± 2 °C.

Modelo de k_La . Para el estudio, se emplearon 2 tipos de impulsores de bajo esfuerzo de corte (*Pitched-blade* y propela marina) y 2 tipos de difusores de oxígeno (microburbujas y anillo perforado), con los cuales se desarrollaron, cuatro diseños de superficie de respuesta, 2² rotacionales con puntos en estrella. Cada experimento fue realizado con dos réplicas. Dichos modelos fueron validados experimentalmente y comparados con los valores predichos para determinar la validez del modelo.

Efecto del k_La (OTR_{max}) sobre el crecimiento y cinética. Se realizó un diseño unifactorial empleando como variable de estudio el k_La (OTR_{max}) al inicio del cultivo, determinado previamente bajo diferentes condiciones de velocidad de aireación y agitación. Finalmente, se determinó la cinética de producción de biomasa, consumo de azúcares y producción de polifenoles (CPT), durante 14 días de cultivo. Al final del cultivo, se realizaron análisis bromatológicos, el perfil de ácidos grasos y de metales pesados, los cuales fueron comparados con semillas de cacao provenientes del ecotipo empleado para la obtención de biomasa.

Análisis estadístico. Los datos tabulados son presentados como medias ± SD. La significancia estadística de las diferencias entre grupos se evaluó mediante ANOVA usando el paquete estadístico *StatGraphicsCenturion XV* versión 1.15.02 para Windows. Se valoraron las diferencias entre los tratamientos utilizando la prueba de medias *LSD*, o *Bonferroni* con un 95 % de confianza.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Modelo de k_La . Para las combinaciones *Pitched-blade* – Microburbujas, *Pitched-blade* – anillo perforado y Propela marina – Microburbujas, se observa que tanto la velocidad de agitación como la velocidad de aireación, así como su interacción, presentan un efecto estadísticamente significativo, sobre la transferencia de oxígeno. En los gráficos construidos con los modelos obtenidos, se observa que el difusor de microburbujas, arroja valores altos de k_La en el intervalo (9.14 - 40.26 h⁻¹) (figuras 1A, 1C), debido al pequeño diámetro de burbuja que genera un aumento en el área superficial disponible para la transferencia de oxígeno desde la burbuja de aire hacia el seno del líquido (Doran, 1995). Por otra parte el uso del impulsor *Pitched-blade*

promueve una distribución de flujo en sentido radial-axial, favoreciendo también el proceso de transferencia para bajas velocidades de agitación y disminuyendo a su vez el estrés mecánico y/o hidrodinámico que pueden experimentar las células al interior del biorreactor (Mirro & Voll, 2009). El difusor de anillo perforado, genera un tamaño de burbuja de menor área superficial, lo cual se ve representado en una reducción aproximada del 26 % del valor k_La máximo obtenido, comparado con la configuración *Pithed-blade*-Microburbujas, bajo las mismas condiciones de distribución de flujo (tipo de impulsor), velocidad de agitación (200 rpm) y velocidad de aireación (0.5 vvm) (Figura 1C). Este resultado indica, que bajo condiciones hidrodinámicas similares, es decir, la misma distribución del flujo garantizada con el tipo de impulsor, la velocidad de agitación y la velocidad de aireación, es posible favorecer la transferencia de oxígeno solo con el cambio de difusor. La configuración Propela marina – Anillo perforado, muestra que solamente la velocidad de aireación presenta un efecto estadísticamente significativo sobre la transferencia de oxígeno. En la Figura 1D, se observa una correlación positiva solo para la variable velocidad aireación con el coeficiente k_La , ya que un incremento en esta variable aumenta directamente la transferencia de oxígeno en el medio de cultivo.

Efecto del k_La sobre el crecimiento de *T. cacao* en biorreactor de tanque agitado. En la Figura 2, se observa que para k_La de $3.8 \pm 0.62 \text{ h}^{-1}$ (OTR_{max} de $0.605 \text{ KgO}_2 \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{día}^{-1}$) y $41.01 \pm 1.78 \text{ h}^{-1}$ (OTR_{max} de $6.525 \text{ KgO}_2 \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{día}^{-1}$), se obtienen los menores valores de productividad volumétrica y viabilidad, ($0.355 \pm 0.089 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{día}^{-1}$ - $41.8 \pm 2.4 \%$) y ($0.207 \pm 0.011 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{día}^{-1}$ - $24.7 \pm 6.2 \%$), respectivamente. Adicionalmente, se observa que en ambas condiciones, se presenta un bajo contenido de polifenoles totales (CPT), 15.320 ± 0.485 y $8.226 \pm 0.994 \text{ mgGAE} \cdot \text{g}^{-1}$, respectivamente. Probablemente, el nivel de oxígeno más bajo puede constituirse en un caso de estrés por falta de oxígeno, el cual inhibe tanto el crecimiento como la producción de polifenoles dada la incapacidad de las células de desarrollar de forma normal su proceso metabólico primario (Thanh *et al.*, 2006). Por otro lado, el nivel más alto de oxígeno, puede tratarse de un caso de exceso en la oferta de oxígeno, donde puede estarse incrementando la actividad de las oxidasas que conducen a la formación de productos de oxidación como quinonas o semiquinonas reducidas (Pierpoint, 2003). La condición de k_La de $14.86 \pm 1.09 \text{ h}^{-1}$ (OTR_{max} de $2.450 \text{ KgO}_2 \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{día}^{-1}$) a pesar de arrojar valores de productividad y viabilidad mayores que las obtenidas bajo condiciones extremas ($0.500 \pm 0.097 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{día}^{-1}$ - $68.9 \pm 3.3 \%$, respecti-

vamente), presenta un CPT de $13.013 \pm 0.814 \text{ mgGAE.g}^{-1}$. Esta disminución no parece estar asociada con un proceso de oxidación tan pronunciado, en tanto que la viabilidad no disminuye tan drásticamente como si sucede con los niveles de k_{La} extremos. Para el k_{La} de $37.47 \pm 1.15 \text{ h}^{-1}$ (OTR_{max} de $5.965 \text{ KgO}_2.\text{m}^{-3}.\text{día}^{-1}$) se obtuvo el mayor valor de productividad volumétrica ($1.034 \pm 0.038 \text{ g.L}^{-1}.\text{día}^{-1}$); sin embargo, la viabilidad celular y el contenido de polifenoles fueron bajos, $46.8 \pm 1.7 \%$ y $14.747 \pm 0.114 \text{ mgGAE.g}^{-1}$, respectivamente.

Para el k_{La} de $27.13 \pm 0.25 \text{ h}^{-1}$ (OTR_{max} de $4.32 \text{ KgO}_2.\text{m}^{-3}.\text{día}^{-1}$) si bien no se alcanzó el mayor crecimiento celular, se observa una menor disminución en la viabilidad celular al final del cultivo, y mayor producción de CPT, con valores de $0.835 \pm 0.034 \text{ g.L}^{-1}.\text{día}^{-1}$, $79.2 \pm 3.0 \%$ y $34.193 \pm 2.739 \text{ mgGAE.g}^{-1}$. Este valor se encuentra correlacionado con un mayor contenido de catequina y epicatequina, con valores de $34.193 \pm 2.739 \text{ mgGAE.g}^{-1}$, $0.55 \pm 0.07 \text{ mg.g}^{-1}$ y $3.23 \pm 0.44 \text{ mg.g}^{-1}$, respectivamente (Tabla 1). Adicionalmente, se observa para esta condición un mayor contenido de ácido palmítico (16:0) y linolénico (18:3) (Figura 3). A excepción del ácido oleico (18:1), la producción de metabolitos antioxidantes (Figura 2, Tabla 1) y ácidos grasos saturados (palmítico y esteárico) y poliinsaturados (linolénico), es menor cuando oferta de oxígeno es mayor. De igual manera, se observa una disminución en el contenido de metabolitos antioxidantes y así como de ácido palmítico y linolénico, cuando los niveles de k_{La} , son inferiores al valor óptimo. La variación en los perfiles de ácidos grasos mostrada en este estudio, se encuentra completamente influenciada por la oferta de oxígeno, dada su importancia en desarrollo de las células y en general para el metabolismo (Han & Zhong, 2003).

Cinética en biorreactor de tanque agitado. En la Figura 4, se muestra la cinética de producción de biomasa, consumo de azúcares y producción de polifenoles totales, durante 14 días de cultivo, operando con un k_{La} inicial de $27.13 \pm 0.25 \text{ h}^{-1}$. Bajo estas condiciones, la producción de biomasa máxima es alcanzada en el día 14 con un valor de $19.384 \pm 0.671 \text{ g.L}^{-1}$ (peso seco) y la velocidad específica de crecimiento (μ) es de $0.1130 \pm 0.011 \text{ días}^{-1}$, con un tiempo de duplicación de 6 días, de acuerdo al ajuste realizado al modelo de regresión exponencial ($r^2 = 0.9526$).

La viabilidad durante el cultivo, se mantuvo por encima del 86 %. Adicionalmente, se observa que la sacarosa es hidrolizada en sus monosacáridos glucosa y fructosa casi en un 95 % durante los primeros 4 días de cultivo; posteriormente, se observa un consumo simultáneo de estas hexosas, durante los siguientes 10 días de

cultivo, con velocidades de consumo de 0.764 ± 0.079 g glucosa.L⁻¹.día⁻¹ y 0.666 ± 0.083 g fructosa.L⁻¹.día⁻¹ (Figura 4).

El gráfico de los metabolitos producidos en la biomasa proveniente del biorreactor y las semillas de origen de la línea celular son mostrados en la Figura 5. En la biomasa se observa un mayor contenido de catequina, epicatequina, carbohidratos totales y proteínas totales que en la semilla, con valores promedio de 5.460 ± 0.750 µg.100g⁻¹, 32.305 ± 4.377 µg.100g⁻¹, 65.8 ± 1.8 % y 21.9 ± 0.3 %, respectivamente. En semillas de 4 meses de edad analizadas no se detectó catequina; los valores epicatequina, carbohidratos totales y proteínas encontrados fueron de 27.205 ± 0.530 µg.100g⁻¹, 49.8 % y 5.9 %, respectivamente. Con relación al contenido de grasa total, se observa que la semilla posee un porcentaje de 39.3 %, en tanto que la biomasa solo posee un 0.7 %. Si bien la semilla contiene un porcentaje importante de manteca cuya aplicación se extiende a la industrias de alimentos, farmacéutica y cosmética, es importante resaltar que en el caso de poder utilizar la biomasa obtenida por métodos biotecnológicos como suplemento rico en polifenoles, existe la ventaja de poder utilizar esta matriz alimentaria sin incrementar el porcentaje de grasa, cafeína o teobromina en el producto final. Adicionalmente, podría aportar componentes importantes como la vitamina C que también se encuentra en mayor proporción y mayor contenido de proteínas (Datos no mostrados). Por su alto contenido de carbohidratos, otra alternativa sería la utilización de la biomasa luego de extraer los metabolitos bioactivos (polifenoles), y biotransformarla posteriormente en azúcares que podrían servir como fuente de carbono para el mismo crecimiento celular, o para la obtención de celulosa nano y microcristalina, con aplicación en la industria química, cosmética, farmacéutica y alimentaria (Bhattacharya, Germinario, & Winter, 2008).

Otro aspecto importante a resaltar, es el bajo contenido de cadmio que posee la biomasa con relación a la semilla (2.99 ppb frente a 320 ppb, respectivamente), un metal neurotóxico que se bioacumula en las plantas translocándose con facilidad hasta los frutos, y que desafortunadamente se encuentra en altas concentraciones en los suelos colombianos, por el uso de fertilizantes y como consecuencia de la actividades minera y petrolera en regiones cercanas a los cultivos de cacao. El límite máximo permitido en frutos secos de 0.2 ppm (Unión Europea, 2006), por lo que la biomasa obtenida mediante esta tecnología, ofrece un producto que cumple con la normatividad europea en materia de metales pesados. Lo anterior es de suma importancia, ya que la demanda de alimentos funcionales se encuentra principalmente en los mercados europeos.

5. CONCLUSIONES

Se desarrolló un modelo para k_La , en función de la velocidad de agitación y aireación, para cuatro configuraciones de impulsor-difusor. De esta manera, se seleccionaron los modelos obtenidos para las configuraciones *Pitched-blade*—Anillo perforado y *Pitched-blade*—Microburbujas, para evaluar un rango amplio de k_La (entre 3.80 ± 0.62 y $41.01 \pm 1.78 \text{ h}^{-1}$), manteniendo las condiciones hidrodinámicas del cultivo, lo más homogéneas posibles.

A partir del estudio del efecto del k_La $27.13 \pm 0.25 \text{ h}^{-1}$, es la condición más apropiada para el cultivo de *Theobroma cacao* (Linea CB-1), en biorreactor de tanque agitado, para la cual se obtuvo una productividad volumétrica de $0.835 \pm 0.034 \text{ g.LDW}^{-1}.\text{día}^{-1}$, con una viabilidad de $79.2 \pm 3.0 \%$ y un contenido de polifenoles totales (CPT) de $34.193 \pm 2.739 \text{ mgGAE.g}^{-1}$.

La producción de polifenoles totales durante el cultivo en biorreactor, fue de $41.753 \pm 0.901 \text{ mgGAE.g}^{-1}$, al final de la cinética de cultivo (14 días). Adicionalmente, se observa en la biomasa producida al final de la cinética en biorreactor un mayor contenido de catequina, epicatequina, carbohidratos totales y proteínas totales que en la semilla, con valores promedio de $5.460 \pm 0.750 \mu\text{g}.100\text{g}^{-1}$, $32.305 \pm 4.377 \mu\text{g}.100\text{g}^{-1}$, $65.8 \pm 1.8 \%$ y $21.9 \pm 0.3 \%$, respectivamente.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Universidad de Antioquia, Compañía Nacional de Chocolates y Colciencias por el soporte técnico y financiero del proyecto 1115-502-27756, Número de contrato 718-2011, y a La División de Sostenibilidad del Comité para el Desarrollo de la Investigación (CODI)-Universidad de Antioquia (Estrategia de Sostenibilidad 2013-2014).

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BHATTACHARYA, D., Germinario, L., & Winter, W. T. (2008). Isolation, preparation and characterization of cellulose microfibers obtained from bagasse. *Carbohydrate Polymers*, 73(3), 371–377. doi:10.1016/j.carbpol.2007.12.005
- CALIK, P., Yilgor, P., Ayhan, P., & Demir, A. (2004). Oxygen transfer Effects on recombinant benzaldehyde lyase production. *Chemical Engineering Science*, 59, 5075–5083.

- CHISTI, Y. (2004). Biorreactors. *Encyclopedia of Physical Science and Technology*, 247–271.
- DAVIES, K. M., & Deroles, S. C. (2014). Prospects for the use of plant cell cultures in food biotechnology. *Current Opinion in Biotechnology*, 26C, 133–140. doi:10.1016/j.copbio.2013.12.010
- DE ORY, I., Romero, L. E., & Cantero, D. (1999). Laboratory scale equipment for determination of kLa in bioreactors. *Bioprocess Engineering*, 20, 73–75.
- DORAN, P. (1995). *Bioprocess Engineering Principles* (p. 439).
- HAN, J., & Zhong, J.-J. (2003). Effects of oxygen partial pressure on cell growth and ginsenoside and polysaccharide production in high density cell cultures of *Panax notoginseng*. *Enzyme and Microbial Technology*, 32(3-4), 498–503. doi:10.1016/S0141-0229(02)00337-X
- HUANG, T.-K., & McDonald, K. a. (2009). Bioreactor engineering for recombinant protein production in plant cell suspension cultures. *Biochemical Engineering Journal*, 45(3), 168–184. doi:10.1016/j.bej.2009.02.008
- MIRRO, R., & Voll, K. (2009). Which impeller is right for your cell line. *BioProcess Int*, 7(1), 52–57. Retrieved from <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Which+Impeller+Is+Right+for+Your+Cell+Line?#o>
- PAREKH, S., Srinivasan, V., & Horn, M. (2008). Bioprocessing Using Novel Cell Culture system. *Advances in Applied Microbiology*, 63, 106–140.
- PIERPOINT, W. (2003). The Extraction of Enzymes from Plant Tissues Rich Phenolic Compounds. In *Methods in molecular Biology: Protein Purification Protocols* (p. 244).
- THANH, N. T., Murthy, H. N., Yu, K.-W., Seung Jeong, C., Hahn, E.-J., & Paek, K.-Y. (2006). Effect of oxygen supply on cell growth and saponin production in bioreactor cultures of *Panax ginseng*. *Journal of Plant Physiology*, 163(12), 1337–41. doi:10.1016/j.jplph.2005.08.014
- UNIÓN EUROPEA, D. O. (2006). Reglamento (CE) No 1881/2006 de la Comisión de 19 de Diciembre de 2006.
- ZHONG, J.-J., Pan, Z.-W., Wang, Z.-Y., Wu, J., Chen, F., Takagi, M., & Yoshida, T. (2002). Effect of mixing time on taxoid production using suspension cultures of *Taxus chinensis* in a centrifugal impeller bioreactor. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 94(3), 244–250. doi:10.1016/S1389-1723(02)80157-8

7. TABLAS Y FIGURAS

TABLA 1. Acumulación de catequinas al final de la cinética de *Theobroma cacao* en biorreactor de tanque agitado, para las diferentes condiciones de oferta de oxígeno evaluadas

OTR _{max} (kg O ₂ ·m ⁻³ ·dia ⁻¹)	Catequinas	
	(+)-Catequina (mg·g ⁻¹)	(-)-Epicatequina (mg·g ⁻¹)
0,605	0,03 ± 0,00 ^c	0,07 ± 0,00 ^c
2,450	0,49 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^d
4,320	0,55 ± 0,07 ^a	3,23 ± 0,44 ^a
5,965	0,04 ± 0,00 ^b	0,41 ± 0,52 ^b
6,525	0,00 ± 0,00 ^d	0,00 ± 0,00 ^d

Letras diferentes entre columnas denotan diferencia estadística con $p < 0.05$. Los valores corresponden a las media ± SD (n=2)

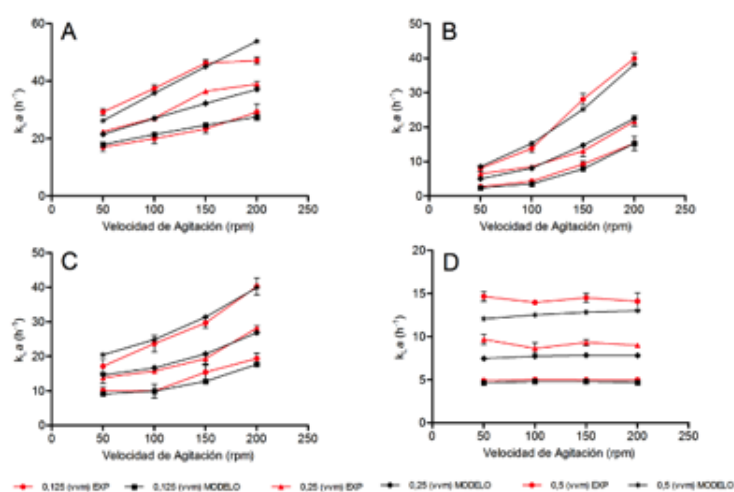


FIGURA 1. Variación del k_{La} con respecto a la velocidad de agitación para diferentes valores de velocidad de aireación A. Configuración *Pitched-blade* – Microburbujas. B. Configuración *Pitched-blade* – Anillo perforado C. Configuración *Propela marina*– Microburbujas. D. Configuración *Propela marina* – Anillo perforado

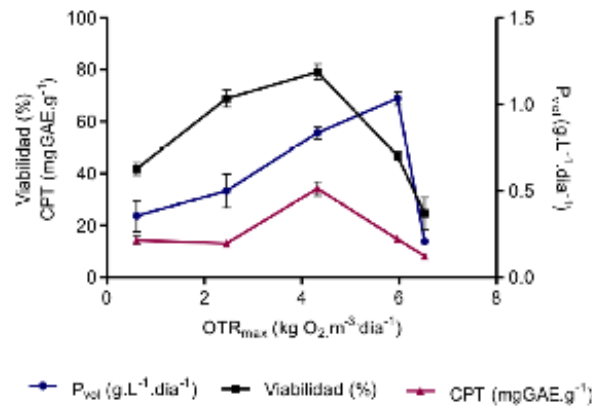


FIGURA 2. Efecto desobres la productividad volumétrica, la viabilidad y el contenido de polifenoles totales (CPT), para las células de cacao en biorreactor de tanque agitado de 7.5 L

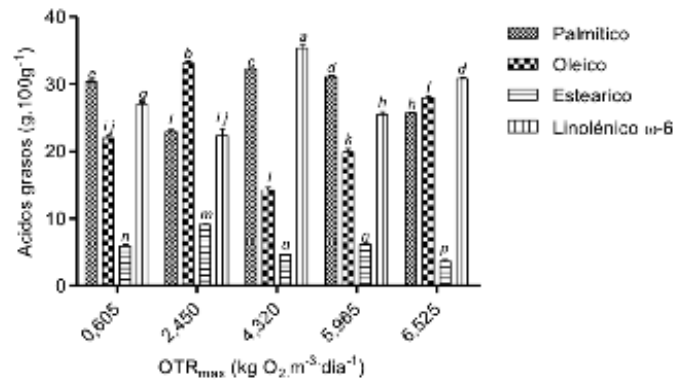


FIGURA 3. Perfiles de ácidos grasos típicos de las manteca de cacao obtenidos a partir de biomasa de CB-1 bajo diferentes condiciones de k_La (OTR_{max})

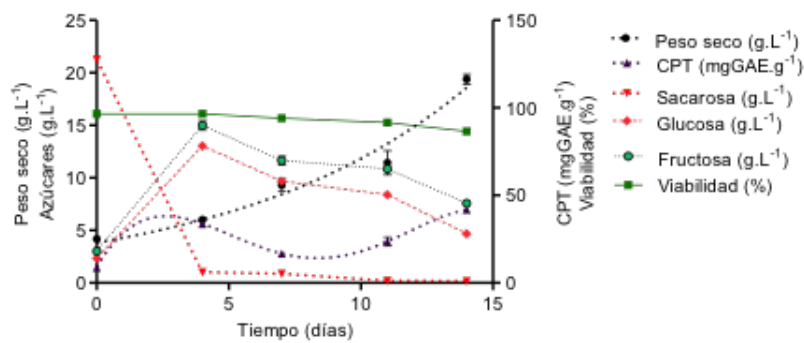


FIGURA 4. Cinética de crecimiento celular, consumo de azúcares y producción de polifenoles totales para las células de *Theobroma cacao* bajo las mejores condiciones de cultivo en biorreactor de tanque agitado de 7.5 L

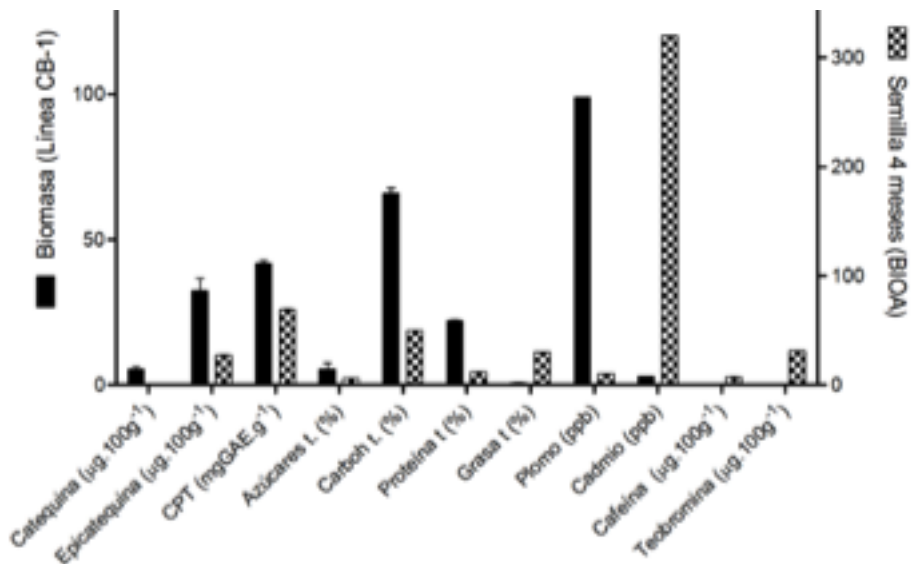


FIGURA 5. Análisis químico comparativo entre la biomasa producida en biorreactor de tanque agitado de 7.5 L, después de 14 días de cultivo y la semilla de cacao proveniente del ecotipo BIOA.

PROPIEDADES FÍSICAS Y MECÁNICAS DE CEREZAS DESHIDRATADAS Y PRETRATADAS MEDIANTE DESHIDRATACIÓN OSMÓTICA

Lorena Franceschinis¹, Casandra Rojas¹, Natalia Sosa^{3,4}, Daniela Salvatori^{1,4},
Carolina Schebor^{2,4}

1. RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue analizar el efecto de la aplicación de distintos métodos de deshidratación (secado en corriente de aire y liofilización) con y sin pretratamiento de ósmosis, sobre las isothermas de sorción de agua, la temperatura de transición vítrea (T_g), la movilidad molecular y la textura de cerezas (var. Lapins). El método de deshidratación aplicado no tuvo efecto sobre las propiedades físicas, mientras que la incorporación de sacarosa (26 %) durante la infusión provocó una menor capacidad de adsorción de agua, una disminución de la T_g y una reducción de la movilidad molecular de las muestras. El secado en corriente de aire condujo a muestras de mayor dureza. El pretratamiento de infusión seca no influyó en muestras secadas, aunque en muestras liofilizadas la incorporación de azúcares produjo una disminución de la fuerza máxima. La incorporación de sacarosa resultó beneficiosa desde el punto de vista de la estabilidad durante el almacenamiento de las cerezas deshidratadas.

CONTACTO: Daniela Salvatori daniela.salvatori@probien.gob.ar

1. Instituto de Investigación y Desarrollo en Ingeniería de Procesos, Biotecnología y Energías alternativas, PROBIEN (CONICET-Universidad Nacional del Comahue), Neuquén, Argentina.
2. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires. C.A.B.A., Argentina.
3. LIPSA, Universidad Nacional de Entre Ríos, Argentina.
4. Members of CONICET, Argentina.

2. INTRODUCCIÓN

Las frutas son valiosos alimentos que contribuyen a una alimentación sana y variada de la población. La cereza debido a su estacionalidad se encuentra disponible durante periodos muy cortos de tiempo por lo que resulta necesario aplicar diferentes métodos de conservación que permitan obtener productos de larga vida útil, de gran calidad y novedosos para el consumidor. La deshidratación ha sido una de las técnicas más utilizadas para la conservación de los alimentos y se han estudiado una gran variedad de métodos, haciendo hincapié en la calidad de los productos obtenidos (Barbosa-Cánovas y Vega-Mercado, 2000, Vega-Galvez y col., 2011). El secado por aire caliente es el método de deshidratación más comúnmente utilizado; sin embargo el tratamiento térmico afecta la calidad en forma sustancial (Maskan, 2001). Por otro lado, la liofilización a pesar de implicar costos y tiempos mayores al secado convencional, permite obtener alimentos de mayor calidad (Khalloufi y Ratti, 2003). La deshidratación osmótica como pretratamiento produce la eliminación parcial del agua de los tejidos conjuntamente con la entrada de solutos (Montserrat y Wet, 2003), con la consecuente disminución de los tiempos de deshidratación posteriores, conduciendo a productos más estables y de mayor calidad (Fito y Chiralt, 2003). La textura global de un alimento está determinada por las propiedades físicas y geométricas. Los conceptos de actividad de agua (a_w) y de transición vítrea (T_g) resultan herramientas útiles para interpretar la relación de las propiedades de los materiales y los cambios físico-químicos en los alimentos (Venir y col., 2007). Los alimentos de baja humedad pueden ser considerados como “soluciones sólidas” cuyos componentes se han “inmovilizado” en un estado vítreo, como resultado de la eliminación de agua en forma rápida (del Valle, 1998). El aumento en la concentración de agua (plastificante) produce una disminución de la T_g , facilitando los cambios físicos y químicos dependientes de la temperatura que son responsables de las pérdidas de calidad durante el procesamiento y almacenamiento de alimentos (Roos, 1992). La evaluación de las propiedades mecánicas de partículas sólidas a granel es importante, ya que están estrechamente relacionadas con la forma en que se rompen durante la masticación (Lucas, 2004, Sandoval y col. 2008). Para ello se emplea la celda de Kramer que es un dispositivo de cizallado que mide la fuerza necesaria de varias cuchillas para atravesar el alimento en

“bulk”, donde la fuerza máxima registrada se asume a menudo como una medición de dureza, firmeza o fibrosidad (Kilcast, 2004). El objetivo del presente trabajo fue analizar el efecto de la aplicación de distintos métodos de deshidratación, con y sin pretratamiento de ósmosis, sobre algunas propiedades físicas y la textura de trozos de cereza.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS

Se utilizaron cerezas (*Prunus avium*, Var. *Lapins*) cultivadas en Colonia Valentina Sur, Neuquén, Patagonia Argentina. Se realizó una caracterización de la fruta acorde a los métodos de AOAC: contenido de agua $77,5 \pm 1,8$ %, sólidos solubles 20 ± 2 Brix, acidez $0,82 \pm 0,06$ g % ácido cítrico, pH $3,54 \pm 0,07$, cenizas $0,499 \pm 0,009$ %. La fruta fue lavada, secada, descarozada y cortada en octavos. La ósmosis se llevó a cabo mediante infusión seca con sacarosa (IS) y también se preparó un control C (sin ósmosis). El pretratamiento IS consistió en colocar los trozos de cerezas en una mezcla de sacarosa comercial y preservativos ($1000 \mu\text{g/g}$ de sorbato de potasio y $150 \mu\text{g/g}$ de bisulfito de sodio). La preparación se agitó suavemente dos veces diarias hasta verificar la equilibración del sistema (15 días), $a_w @ 0,86$ para la fruta y el jarabe. Los trozos pretratados y los control se sometieron a una deshidratación por secado en corriente de aire (S) y liofilización (L) hasta obtener una $a_w @ 0,33$. El secado se realizó en estufa de convección ($T = 60$ °C y HR = 10 %) durante 24 h y la liofilización (L) se realizó durante 48 h, con -84 °C de temperatura en la placa condensadora y presión en la cámara de 0,04 mbar. Las muestras a liofilizar fueron previamente congeladas utilizando nitrógeno líquido y almacenadas a -18 °C por 48 h hasta el proceso de liofilización.

MÉTODOS

Humidificación: las cerezas deshidratadas se almacenaron en desecadores en presencia de soluciones saturadas de sales en un rango de 11 a 90 %HR (Greenspan, 1977).

Actividad acuosa: se determinó a 25 ± 1 °C mediante un higrómetro de punto de rocío AquaLab (modelo 3TE).

Contenido de agua: se determinó gravimétricamente utilizando una estufa de vacío a 60 °C en presencia de un agente desecante.

Transiciones térmicas: se determinaron utilizando un calorímetro diferencial de barrido (DSC) Metter Toledo 822e (Schwerzenbach, Suiza) y los termogramas se evaluaron empleando un software para análisis térmico Star^e. Se informó un valor promedio de al menos dos réplicas.

Movilidad molecular: Se empleó un equipo de resonancia magnética nuclear (¹H RMN) Bruker Minispec mq20 (20 MHz) (Bruker Biospin GmbH, Rheinstetten, Alemania). Los tiempos de relajación espín-espín (T_2) se obtuvieron utilizando el método de decaimiento libre de la inducción (FID) luego de aplicar un pulso de 90°. Las curvas se ajustaron a un comportamiento mono-exponencial para obtener los valores de T_2 .

Propiedades mecánicas: se realizaron ensayos de cizallamiento en una máquina de ensayos universales Instron Modelo 3344 (Instron Corporation, Canton, MA, USA), utilizando una celda de Kramer. Se utilizó una celda de carga de 50N, y una velocidad de avance del cabezal o una velocidad de deformación de 100 mm/min. De las curvas de compresión obtenidas (fuerza vs desplazamiento), se analizaron la fuerza máxima o dureza (F_{max} , N), la deformación o distancia a la cual se produce la fuerza máxima (ΔF_{max} , mm), la pendiente máxima de la curva antes de la F_{max} , (Sl_{max} , N/mm), y la energía o el área bajo la curva hasta la F_{max} (W , J). Se llevaron a cabo 10 repeticiones para cada condición experimental ($n=10$).

Azúcares totales: Se determinaron por el método de antrona/sulfúrico (Southgate, 1976). Se realizó una curva de calibración con glucosa como patrón.

Análisis Estadístico: El diseño de experimentos corresponde a un diseño completamente aleatorizado (DCA) y a un modelo de dos factores: “método de deshidratación” y “pretratamiento”. Todos los resultados fueron expresados en términos de la media y su desvío estándar y se analizaron mediante el software estadístico STATISTICA versión 8.0. (StatSoft, Inc.2007) a través de un análisis de la varianza (ANOVA) multifactor. Para evaluar las diferencias entre tratamientos se aplicó un test de comparaciones múltiples (test de Tukey) con un nivel de significancia de 5 % ($p < 0,05$).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las isotermas de sorción de agua a 25 °C de las cerezas deshidratadas se muestran en la Figura 1. Las isotermas presentan un forma sigmoïdal con un incremento en el contenido de agua con el aumento de la actividad acuosa típico de las isotermas de sorción descriptas para muchas frutas (Iglesias y Chirife, 1982). Se observó un efecto del pretratamiento, sin embargo no se observaron diferencias en las isotermas debidas al método de deshidratación aplicado. La incorporación de sacarosa durante la infusión representó un incremento del 26 % de azúcares totales con respecto a la cereza fresca. La presencia de este soluto en la matriz provocó una menor capacidad de adsorción de agua (32 %) en comparación a su respectivo control, particularmente en el rango de a_w de 0,25 a 0,8.

En la Figura 2 se observan las temperaturas de transición vítrea a diferentes contenidos de agua de cerezas liofilizadas a) y secadas en corriente de aire b). Todas las muestras se encontraron en estado sobreenfriado a temperatura ambiente ($T = 20$ °C). No se observaron diferencias en los valores de T_g debidas al método de secado. Si bien las muestras IS presentaron menores contenidos de agua que las muestras control (Figura 1), este comportamiento no se vio reflejado en valores de T_g más elevados. De hecho, para igual contenido de agua, los valores de T_g observados para las muestras control fueron aproximadamente 3 °C mayores que los correspondientes a las muestras IS hasta un contenido de agua de $\gg 50$ %.

En la Tabla 1 se presentan los tiempos de relajación transversal (espín-espín) T_2 de las cerezas deshidratadas a la salida del proceso ($a_w=0,33$) y equilibradas a 11 y 22 %HR, a 25 °C. Los valores de T_2 se atribuyen a la relajación de los protones presentes en los sólidos y a las moléculas de agua asociadas fuertemente a la matriz sólida (Ruan y col., 1999). A mayor HR se observaron incrementos en T_2 , aumentando hasta en un orden al pasar de 22 a 33 %HR. En general, las cerezas liofilizadas presentaron mayor movilidad que las secadas en corriente de aire y se observó que la incorporación de sacarosa redujo la movilidad molecular, probablemente debido al menor contenido de agua de las muestras.

En la Figura 3 se observan las curvas fuerza-desplazamiento obtenidas durante los ensayos de textura de las diferentes cerezas deshidratadas. El patrón de comportamiento fue similar en todas las condiciones experimentales: una fase inicial que corresponde a un periodo de reordenamiento de las partículas durante los primeros

momentos del ensayo, que se traduce como baja resistencia de las muestras al cizallamiento y se incrementa una vez que las partículas alcanzan un empaquetamiento máximo llegando a la fuerza máxima que corresponde al momento en donde las cuchillas atraviesan por completo la muestra. Luego decae la resistencia en forma bastante simétrica hasta llegar a valores aproximados de un tercio de la fuerza máxima donde se aleja de la simetría probablemente por la adhesión de las cerezas a las cuchillas. Las cerezas liofilizadas presentaron una fase de reordenamiento de las partículas mayor que las secadas en corriente de aire. La incorporación de azúcares para ambos métodos de secado produjo un periodo de acomodamiento más corto y menor adherencia a las cuchillas en la meseta final. En la Tabla 2 se observan los diferentes parámetros obtenidos del análisis de las curvas. El secado en corriente de aire condujo a muestras de mayor dureza ($> F_{\text{máx}}$) y mayor $Sl_{\text{máx}}$ debido en parte a la mayor compactación sufrida por el tejido durante el proceso. El pretratamiento IS no influyó en muestras secadas, aunque en muestras liofilizadas la incorporación de azúcares produjo una disminución de la fuerza máxima. El trabajo o energía requerida para la deformación de la muestra fue afectado sustancialmente por el método de deshidratación aplicado y las diferencias observadas entre muestras liofilizadas y secadas responden principalmente a las diferencias en las características estructurales de las matrices obtenidas. Las muestras liofilizadas presentaron una menor $F_{\text{máx}}$ y una menor energía de deformación probablemente debido a la estructura porosa en la pulpa mientras que las secadas poseen una estructura más compacta que se traduce en un producto de mayor dureza. No se observaron diferencias significativas entre la energía de las muestras con pretratamiento IS y su respectivo control. El comportamiento mecánico de las frutas con IS en muestras liofilizadas parecería estar más asociado a los cambios estructurales producidos, fundamentalmente durante la ósmosis, que a las diferencias observadas en las temperaturas de transición vítrea que corresponde en todos los casos a un estado sobreenfriado. En el caso de tejidos deshidratados de frutas, que son materiales complejos que consisten de muchos componentes y fases, suele ocurrir que sus propiedades no cambien en los tiempos predichos por la teoría de la transición vítrea. Es por ello que en este caso, la información aportada por la temperatura de transición vítrea no resultó suficiente para poder interpretar las diferencias observadas en la textura de los productos estudiados.

5. CONCLUSIONES

El pretratamiento de infusión seca produjo una disminución del contenido de agua de las muestras, y redujo la movilidad molecular sin afectar en manera muy marcada la textura de las cerezas deshidratadas. Por lo tanto, se puede concluir que la incorporación de sacarosa resultó beneficiosa desde el punto de vista de la estabilidad durante el almacenamiento de las cerezas deshidratadas. Estos productos, que presentan valores de temperatura de transición vítrea muy bajos y una textura blanda y gomosa, tienen características apropiadas como para incorporarse como ingredientes en elaboración de alimentos compuestos como barras de cereales, galletitas, o turrone.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). (1990). Official Methods of Analysis, 15th ed.; Association of Official Analytical Chemists, Inc.: Arlington, VA,
- BARBOSA-CÁNOVAS, G.V., Vega-Mercado, H. (2000). Deshidratación de Alimentos. Editorial ACRIBIA, S.A. Zaragoza (España),
- DEL VALLE, J. M.; Cuadros, T. R. M., Aguilera, J. M. (1998). Glass transitions and shrinkage during drying and storage of osmosed apple pieces. *Food Research International*, 31, (3): 191-204.
- FITO, P., Chiralt, A. (2003). Food matrix engineering: the use of the water structure functionality ensemble in dried food. *Food Science and Technology International*, 9: 151-156.
- GREENSPAN, L. (1977). Humidity fixed points of binary saturated aqueous solutions. *Journal of research*, 8: 89-96.
- IGLESIAS, H. A., Chirife, J. (1982). Handbook of food isotherms. New York: Academic Press: 170-175.
- KHALLOUFI, S., Ratti, C. (2003). Quality deterioration of freeze-dried foods as explained by their glass transition temperature and internal structure. *Journal of Food Science*, 68: 892-903.
- KILCAST, D. (2004). Measuring consumer perceptions of texture: an overview. In *Texture in food*. Volume 2: Solid foods. David Kilcast Ed. CRC Press. London
- LUCAS, P.W. (2004). *Dental Functional Morphology, How Teeth Work*, University Press, Cambridge, UK: 355.

- MASKAN, M. (2001). Drying, shrinkage and rehydration characteristics of kiwifruits during hot air and microwave drying. *Journal of Food Engineering*, 48:177–182.
- MONTERRAT, F., Wet, S. (2003). Effect of osmotic stress on microstructure and mass transfer in onion and strawberry tissue. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83: 951–953.
- ROOS, Y. (1992) Phase transitions and transformations in food systems. In *Handbook of Food Engineering*, eds. D. R. Heldman and D. B. Lund. Marcel Dekker, New York.
- RUAN, R., Wang, X., Chen, P. L., Fulcher, R. G., Pescheck, P., Chakrabarti, S. (1999). Study of water in dough using nuclear magnetic resonance. *Cereal Chemistry*, 76(2): 231–235.
- SANDOVAL, A.J., Chaunier, L., Courcoux, P., Della Valle, G. (2008). Bulk mechanical behavior of commercial particle food foams. *Journal of Texture Studies*, 39: 405–425.
- SOUTHGATE, D. (1976). *Determination of Food Carbohydrates*, London, UK: Applied Science Publishers.
- VEGA-GÁLVEZ, A.; Miranda, M.; Clavería, R.; Quispe, I.; Vergara, J.; Uribe, E.; Paez H. y Di Scala, K. (2011). Effect of air temperature on drying kinetics and quality characteristics of osmo-treated jumbo squid (*Dosidicus gigas*). *LWT - Food Science and Technology*, 44: 16-23.
- VENIR, E., Munari, M., Tonizzo, A., Maltini, E. (2007). Structure related changes during moistening of freeze dried apple tissue. *Journal of Food Engineering*, 81: 27–32.

7. TABLAS Y FIGURAS

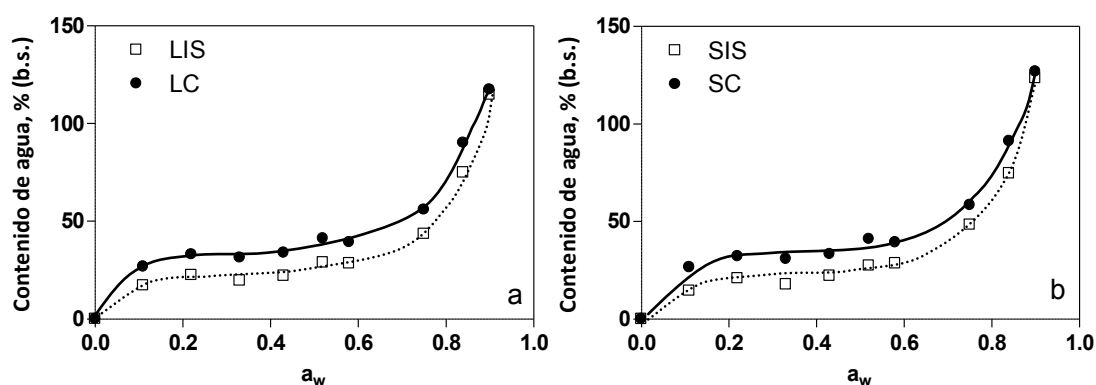


FIGURA 1. Isothermas de sorción de agua de cerezas liofilizadas (a) y secadas en corriente de aire (b) con pretratamiento de deshidratación osmótica (IS) y sin pretratamiento (C)

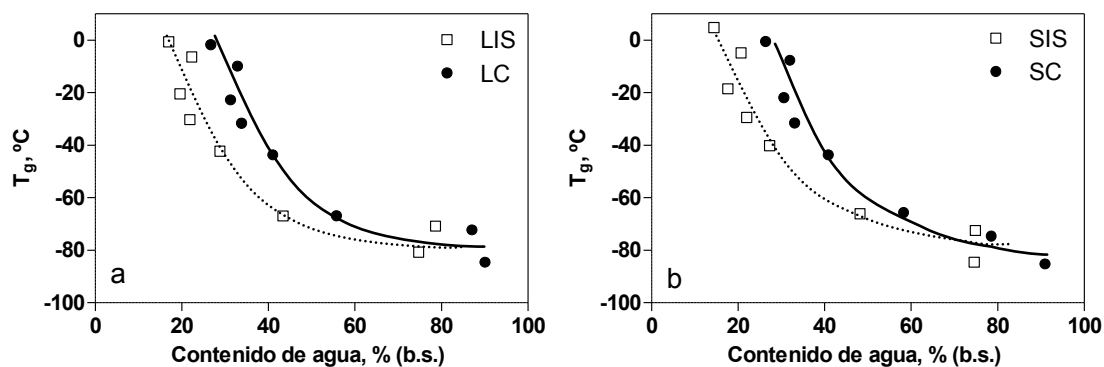


FIGURA 2. Temperatura de transición vítrea vs contenido de agua de cerezas en trozos liofilizadas (a) y secadas en corriente de aire (b) con pretratamiento de deshidratación osmótica (IS) y sin pretratamiento (C)

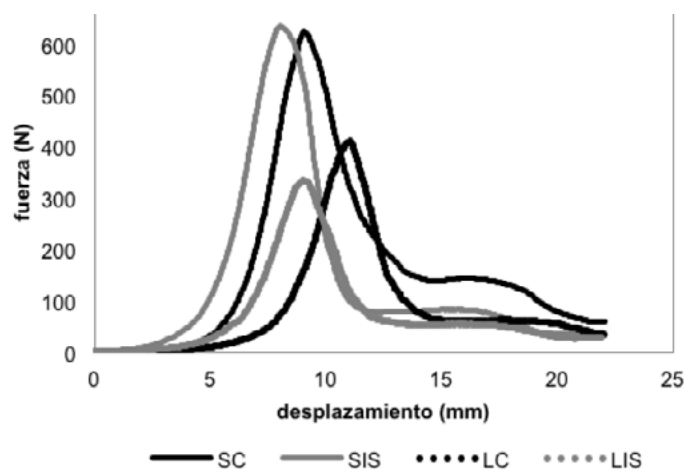


FIGURA 3. Curvas fuerza-desplazamiento obtenidas durante la compresión de cerezas deshidratadas y pretratadas osmóticamente utilizando una celda de Kramer.

TABLA 1. Tiempos de relajación T_2 obtenidos por 1H RMN en muestras de cereza deshidratadas equilibradas a diferentes humedades relativas a 25 °C

MUESTRAS	FACTORES		HR%		
	PRET.	DESH.	11	22	33
SC	C	S	8,01 ± 0,07 ^{A,a}	10,08±0,13 ^{b,c}	199±5 ^{A,a}
SIS	IS	S	7,27 ± 0,17 ^{A,b}	8,3±0,3 ^a	140,6±1,9 ^{A,b}
LC	C	L	8,4 ± 0,4 ^{B,a}	10,16±0,05 ^c	235±8 ^{B,a}
LIS	IS	L	7,92±0,16 ^{B,b}	9,6±0,2 ^b	184,4±1,7 ^{B,b}
Pretratamiento x Deshidratación *			N. Sig.	Sig.	N. Sig.

*Interacción entre factores: Sig. (significativo); N.Sig. (no significativo). Medias con el mismo superíndice no presentan diferencias significativas ($p < 0,05$). Las letras mayúsculas y minúsculas representan efectos principales de los factores "métodos de deshidratación" y "pretratamiento" respectivamente.

TABLA 2. variables obtenidas de las curvas fuerza vs desplazamiento, F_{\max} , ΔF_{\max} , Sl_{\max} , y W , para las cerezas deshidratadas con o sin pretratamiento.

Mues- tras	Factores		F_{\max}	ΔF_{\max}	Sl_{\max}	W
	Pret.	Desh.	(N)	(mm)	(N/mm)	(J)
SC	C	S	627 ± 19^c	$9,3 \pm 0,2^a$	238 ± 8^{Bb}	$1,22 \pm 0,06^b$
SIS	IS	S	633 ± 18^c	$8,9 \pm 0,3^a$	224 ± 11^{Ba}	$1,30 \pm 0,05^b$
LC	C	L	419 ± 9^b	$10,7 \pm 0,3^b$	161 ± 7^{Ab}	$0,78 \pm 0,03^a$
LIS	IS	L	337 ± 13^a	$8,4 \pm 0,2^a$	122 ± 5^{Aa}	$0,64 \pm 0,04^a$
Pretratamiento x Deshidratación *			Sig.	Sig.	N. Sig.	Sig.

*Interacción entre factores: Sig. (significativo); N.Sig. (no significativo). Medias con el mismo superíndice no presentan diferencias significativas ($p < 0,05$). Las letras mayúsculas y minúsculas representan efectos principales de los factores “métodos de deshidratación” y “pretratamiento” respectivamente.

PROPIEDADES BARRERA AL VAPOR DE AGUA DE PELÍCULAS BIODEGRADABLES. INFLUENCIA DEL TIPO DE POLÍMERO Y TENSOACTIVO

Anna Marín, Lorena Atarés, Amparo Chiralt, Maite Cháfer

1. RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue la caracterización, en términos de espesor, PVA y contenido en humedad, de películas biodegradables a base de distintos biopolímeros (HPMC, AM, NaC y PG), con y sin la incorporación de tres tensoactivos seleccionados en base a su BHL. Los tensoactivos seleccionados fueron ácido oleico (OA), Span 80 (S80) y Tween 85 (T85) con valores de BHL de 1.0, 4.3 y 11.0 respectivamente. Se obtuvieron películas a base de cuatro biopolímeros - hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), almidón de maíz (AM), caseinato sódico (NaC) y proteína de guisante (PG)- con y sin la incorporación de tres tensoactivos - ácido oleico (OA), Span 80 (S80) y Tween 85 (T85). Se llevó a cabo la caracterización de las películas en términos de espesor, permeabilidad al vapor de agua (PVA) y contenido en agua. Para la determinación de la PVA se utilizó una modificación del método gravimétrico ASTM E96-95 para un gradiente de humedad relativa 53-100 % y una temperatura de 25 °C, mientras que el contenido de humedad se estimó gravimétricamente. El tipo de polímero, y la incorporación o no de tensoactivos, así como su naturaleza, influyeron en las propiedades analizadas de las películas. Las películas obtenidas a base de proteínas presentaron espesores más elevados, que en general aumentaron por la presencia de tensoactivos. Los mayores valores de espesor se obtuvieron en las películas de NaC con S80 ($65 \pm 2 \mu\text{m}$). Las películas de HPMC presentaron los menores contenidos en agua (del orden de 0.040 mg agua/g película seca) y menos valores PVA (en torno a $65 \text{ g} \cdot \text{Pa}^{-1} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-1} \times 10^{11}$). En general, la presencia de tensoactivos dio lugar a

CONTACTO: Amparo Chiralt dchiralt@tal.upv.es

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

descensos significativos en el contenido en agua de las películas en todas las matrices, independientemente del tipo de lípido. La naturaleza del tensoactivo influyó de forma significativa en la PVA de las películas. En general, el OA mejoró las propiedades barrera de las películas, obteniéndose los valores más bajos de permeabilidad al vapor de agua en las películas de HPMC con este tensoactivo. S80 y T85 produjeron el efecto contrario en la PVA de las películas, probablemente debido a la falta de integración del tensoactivo en el seno de la matriz.

2. INTRODUCCIÓN

Las películas comestibles han sido ampliamente estudiadas para su aplicación en alimentos por su potencial para ofrecer una barrera frente a daños, actuar como portadoras de ingredientes activos y mejorar su integridad mecánica (Pérez-Gago *et al.*, 2006). Uno de sus principales campos de aplicación son productos frescos como las frutas.

Existe un amplio espectro de biopolímeros que pueden utilizarse para la obtención de películas comestibles. Los derivados de la celulosa, como la hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) se presentan como una buena opción, y el almidón de maíz (AM) se está utilizando ampliamente por su alta disponibilidad y bajo coste (Mali y Grossmann, 2003; Rodríguez *et al.*, 2006). Las proteínas de origen lácteo, como el caseinato sódico (NaC), y vegetal, como la proteína de guisante (PG) son también interesantes como matrices formadoras de películas (Sánchez-González *et al.*, 2013; Choi y Han 2001). Las propiedades de las películas biodegradables pueden modificarse incorporando aditivos como los tensoactivos, cuyo balance hidrófilo-lipófilo (BHL) influye en su comportamiento. Diversos estudios han demostrado que la incorporación de estos componentes tiene influencia en las propiedades de películas obtenidas a base de distintos polímeros (Villalobos *et al.*, 2006; Rodríguez *et al.*, 2006; Ortega-Toro *et al.*, 2014).

La permeabilidad al vapor de agua (PVA) es uno de los parámetros más importantes en la definición de la funcionalidad de las películas y recubrimientos comestibles. Esta propiedad cuantifica su efectividad frente al intercambio de humedad entre el alimento y el entorno, el cual afecta a su firmeza y apariencia. Por ello, son deseables valores bajos de PVA, con el fin de minimizar las pérdidas de peso en los productos recubiertos que afectan directamente a su calidad (Sánchez-González *et al.*, 2014).

El objetivo de este trabajo fue la caracterización, en términos de espesor, PVA y contenido en humedad, de películas biodegradables a base de distintos biopolímeros (HPMC, AM, NaC y PG), con y sin la incorporación de tres tensoactivos seleccionados en base a su BHL. Los tensoactivos seleccionados fueron ácido oleico (OA), Span 80 (S80) y Tween 85 (T85) con valores de BHL de 1.0, 4.3 y 11.0 respectivamente.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación de las películas

HPMC, NaC y los tres tensoactivos fueron adquiridos en Sigma-Aldrich (Madrid, España), y AM y PG en RoquetteLaisa España, S.A. (Valencia, España). El glicerol fue suministrado por Panreac Química S.L.U. (Barcelona, España).

HPMC (2 % p/p) se dispersó en agua desionizada y se calentó hasta 80 °C durante 10 minutos, tras los cuales se mantuvo en agitación toda la noche. AM (2 % p/p) se dispersó en agua desionizada, se calentó a 95 °C durante 30 minutos en un baño termostático, agitando cada 5 minutos, para promover su gelatinización, y se enfrió hasta temperatura ambiente. NaC y PG (4 % p/p) fueron dispersados en agua desionizada hasta su completa disolución.

En el caso de las dispersiones de AM y de proteínas, se añadió glicerol como plastificante en una proporción másica polímero:glicerol de 1:0.25. Los tensoactivos fueron añadidos en una proporción polímero:tensoactivo de 1:0.1. Las concentraciones de biopolímeros, así como las proporciones polímero:glicerol y polímero:tensoactivo, se seleccionaron en base estudios previos (Sánchez-González *et al.*, 2009, Jiménez *et al.*, 2012 y Sánchez-González *et al.*, 2013). Las dispersiones se homogeneizaron a 13600 rpm durante 4 minutos con un rotor stator ultraturax (DI25, Janke and Kunkel, Alemania), se esterilizaron para reducir su carga microbiana y se desgasificaron a vacío mediante una bomba (MZ 2C NT, Vacuubrand GMBH + CO KG, Wertheim, Alemania) a temperatura ambiente.

Las dispersiones se vertieron en placas de teflón de 15 cm de diámetro colocadas sobre una superficie nivelada. Se pesó la cantidad necesaria de cada formulación para conseguir una densidad superficial de sólidos constante (5.6 mg/cm²) en todas las películas. Éstas se despegaron de las placas tras un periodo de secado de 24 – 48 h a una humedad relativa de 45 %. Como paso previo a la caracterización,

las películas se acondicionaron en desecadores durante una semana a 25 °C y a un 53 % de humedad relativa, utilizando disoluciones sobresaturadas de $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ (Panreac química, S.A., Castellar del Vallés, Barcelona).

Caracterización de las películas

Se midió el espesor de las películas en seis puntos utilizando un micrómetro digital portátil (Electronic Digital Micrometer, Comecta S.A., Barcelona, España) con una sensibilidad de 0.001mm. Las medidas se tomaron en cuatro películas por formulación.

El contenido en humedad de las películas fue determinado gravimétricamente mediante una balanza analítica (ME36S, Sartorius, Alemania). Para ello, cuatro muestras por formulación fueron desecadas durante 24 h a 60 °C en una estufa de vacío y posteriormente almacenadas en desecadores con pentóxido de fósforo (Panreac Química S.L.U. Barcelona, España) hasta masa constante.

Para la determinación de la PVA se utilizó una modificación del método gravimétrico ASTM E96-95 (McHugh *et al.*, 1993) para un gradiente de humedad relativa 53-100 % y una temperatura de 25 °C. Esta determinación se llevó a cabo con cuatro películas por formulación. Se utilizaron copas de aluminio de 3.5 cm diámetro (Payne, ElcometerSPRL, Hermelle /s Argenteau, Bélgica) y se monitorizó su masa con una balanza analítica (ME36S Sartorius, Alemania) a intervalos de 1.5 horas durante un periodo de tiempo de 24h.

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos fueron analizados estadísticamente por medio de análisis de varianza (ANOVA), utilizando Statgraphics Centurion XVI versión 16.1.17 (Manugistics Corp., Rockville, Md.).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores del espesor de las películas se muestran en la Tabla 1. El espesor de todas las películas obtenidas estuvo en torno a $52 \pm 7 \mu\text{m}$. Como puede observarse en la Figura 1, los mayores espesores se dieron en las películas de ambas proteínas, lo que podría atribuirse a un mayor grado de empaquetamiento de las cadenas de polisacáridos en las películas de HPMC y AM, que dio lugar a menores espesores.

Las películas sin tensoactivos presentaron los espesores más bajos, seguidas por aquéllas con OA. Por otro lado, las películas que contenían S80 y T85 como tensoactivos fueron significativamente más gruesas.

Los resultados del contenido en humedad se muestran en la Tabla 1. Las formulaciones a base de HPMC presentaron un contenido en agua significativamente menor que las películas obtenidas con las otras matrices (Figura 2). No se observaron diferencias significativas entre las películas obtenidas a base de proteínas, mientras que las películas de AM presentaron cierta tendencia hacia valores de humedad más elevados.

La presencia de tensoactivos produjo un descenso significativo ($p < 0.05$) de la humedad de todos los polímeros en coherencia con estudios anteriores (Ortega-Toro *et al.*, 2014). Esto podría deberse a que la incorporación de los tensoactivos reduce la capacidad de las cadenas de hidrocoloides para unirse con moléculas de agua. El establecimiento de puentes de hidrógeno entre las cadenas de hidrocoloides y grupos polares de los tensoactivos reduciría el número de grupos polares disponibles para interactuar con el agua (Villalobos *et al.*, 2006). No se observaron diferencias significativas en el contenido en humedad en función del tensoactivo empleado.

Como puede observarse en la Figura 3, las películas obtenidas con HPMC presentaron mejores propiedades barrera frente al vapor de agua, con valores similares a los obtenidos por Sánchez-González *et al.* (2011). Esto es probablemente debido al menor contenido en agua de estas películas, que se encontrarían menos plastificadas que el resto. Por el contrario, las películas obtenidas con NaC presentaron una mayor PVA. No se observaron diferencias significativas entre los films de AM y PP, que presentaron valores intermedios.

La incorporación de tensoactivos tuvo un efecto significativo en la PVA en función de sus características y el tipo de polímero. En general, la incorporación de OA indujo descensos significativos ($p < 0.05$) en la PVA, probablemente debido a su hidrofobicidad, excepto en el caso de las películas de AM (Fabra *et al.* 2008). Por su parte, salvo en las películas de PG, la incorporación de S80 y T85 produjo incrementos significativos ($p < 0.05$) en la PVA, respecto a las películas sin tensoactivo. Este diferente efecto de los tensoactivos sobre las matrices puede estar relacionado con las diferentes interacciones matriz-tensoactivo que introducen diferencias estructurales en las películas obtenidas en cada caso. La adición de S80 y T85 pudo

ocasionar interrupciones en el empaquetamiento de las cadenas de hidrocoloides, lo cual dio lugar a películas menos homogéneas. Esto pudo suponer una estructura más abierta a través de la cual las moléculas de agua podrían difundir más fácilmente (Ortega-Toro *et al.* 2014).

5. CONCLUSIONES

Tanto el tipo de polímero como la presencia de tensoactivos y su naturaleza tuvieron efectos en las propiedades de las películas estudiadas. Aquéllas obtenidas a base de proteínas presentaron los espesores más elevados. En términos generales, la presencia de tensoactivos indujo incrementos en el grosor. Las películas de HPMC presentaron los menores contenidos en agua, lo cual se tradujo en mejores propiedades barrera frente al vapor de agua. La presencia de tensoactivos dio lugar a descensos significativos en el contenido en humedad de las películas con todas las matrices, independientemente del tipo de lípido. No obstante, la naturaleza del tensoactivo sí fue determinante en la PVA de las películas. En términos generales, el OA produjo mejoras en las propiedades barrera, mientras que S80 y T85 produjeron el efecto contrario, probablemente debido a una mayor heterogeneidad de la estructura matriz-tensoactivo.

AGRADECIMIENTOS

Las autoras desean expresar su agradecimiento al Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA) por su financiación en el proyecto RTA20120067-C02-02 y a la Generalitat Valenciana por la beca del Programa VALi+d 2013.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CHOI, W. & Han, J. H. (2001). Physical and mechanical properties of pea-protein based edible films. *Journal of Food Science*, 66(2), 319-322.
- JIMÉNEZ, A., Fabra, M. J., Talens, P., & Chiralt, A. (2012). Effect of re-crystallization on tensile, optical and water vapour barrier properties of corn starch films containing fatty acids. *Food Hydrocolloids*, 26(1), 302-310.

- MALI, S., & Grossmann, M. V. E. (2003). Effects of yam starch films on storability and quality of fresh strawberries (*fragariaananassa*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(24), 7005-7011.
- McHUGH, T. H., Avena-Bustillos, R., & Krochta, J. M. (1993). Hydrophilic edible films: Modified procedure for water vapor permeability and explanation of thickness effects. *Journal of Food Science*, 58(4), 899-903.
- ORTEGA-TORO, R., Jiménez, A., Talens, P., & Chiralt, A. (2014). Effect of the incorporation of surfactants on the physical properties of corn starch films. *Food Hydrocolloids*, 38(0), 66-75.
- PÉREZ-GAGO, M. B., Nadaud, P., & Krochta, J. M. (1999). Water vapor permeability, solubility, and tensile properties of heat-denatured versus native whey protein films. *Journal of Food Science*, 64(6), 1034-1037.
- RODRÍGUEZ, M., Osés, J., Ziani, K., & Maté, J. I. (2006). Combined effect of plasticizers and surfactants on the physical properties of starch based edible films. *Food Research International*, 39(8), 840-846.
- SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L., Chiralt, A., González-Martínez, C., & Cháfer, M. (2011). Effect of essential oils on properties of film forming emulsions and films based on hydroxypropylmethylcellulose and chitosan. *Journal of Food Engineering*, 105(2), 246-253.
- SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L., Quintero Saavedra, J. I., & Chiralt, A. (2014). Antilisterial and physical properties of biopolymer films containing lactic acid bacteria. *Food Control*, 35(1), 200-206.
- SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L., Quintero Saavedra, J. I., & Chiralt, A. (2013). Physical properties and antilisterial activity of bioactive edible films containing *Lactobacillus plantarum*. *Food Hydrocolloids*, 33(1), 92-98.
- SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L., Vargas, M., González-Martínez, C., Chiralt, A., & Cháfer, M. (2009). Characterization of edible films based on hydroxypropylmethylcellulose and tea tree essential oil. *Food Hydrocolloids*, 23(8), 2102-2109.
- VILLALOBOS, R., Hernández-Muñoz, P., & Chiralt, A. (2006). Effect of surfactants on water sorption and barrier properties of hydroxypropyl methylcellulose films. *Food Hydrocolloids*, 20(4), 502-509.

7. TABLAS Y FIGURAS

TABLA 1. Valores de espesor, humedad y PVA de películas de distintos biopolímeros con y sin la incorporación de tensoactivos. Valores medios y desviaciones estándar entre paréntesis. (HPMC: hidroxipropilmetilcelulosa, AM: almidón, NaC: caseinato sódico, PG: proteína de guisante, ST: sin tensoactivo, OA: ácido oleico, S80: Span 80, T85: Tween 85)

	Espesor (μm)			
	HPMC	AM	NaC	PG
ST	43.8 (0.8) ^{a1}	42 (5) ^{a1}	62 (6) ^{ab1}	48 (3) ^{a1}
OA	48 (4) ^{ab12}	46.9 (0.8) ^{b12}	54 (6) ^{a12}	51 (9) ^{a12}
S80	52 (5) ^{b3}	59 (4) ^{c3}	65 (2) ^{b3}	54 (5) ^{a3}
T85	49 (4) ^{ab23}	46 (2) ^{ab23}	64 (7) ^{b23}	56 (8) ^{a23}
	Humedad (g agua/g película seca)			
	HPMC	AM	NaC	PG
ST	0.050 (0.013) ^{a1}	0.094 (0.008) ^{b1}	0.083 (0.005) ^{b1}	0.094 (0.005) ^{c1}
OA	0.036 (0.016) ^{a2}	0.083 (0.005) ^{a2}	0.080 (0.006) ^{b2}	0.067 (0.004) ^{a2}
S80	0.036 (0.004) ^{a2}	0.089 (0.007) ^{ab2}	0.070 (0.006) ^{a2}	0.069 (0.005) ^{a2}
T85	0.043 (0.015) ^{a2}	0.084 (0.008) ^{ab2}	0.062 (0.005) ^{a2}	0.085 (0.004) ^{b2}
	Permeabilidad ($\text{g}\cdot\text{Pa}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-1}$)* 10^{11}			
	HPMC	AM	NaC	PG
ST	62 (17) ^{ab2}	121 (7) ^{a2}	196 (14) ^{b2}	171 (5) ^{ab2}
OA	49 (3) ^{a1}	152 (8) ^{b1}	145 (17) ^{a1}	131 (28) ^{a1}
S80	81 (13) ^{b3}	178 (9) ^{c3}	201 (14) ^{b3}	156 (14) ^{ab3}
T85	68 (13) ^{ab3}	163 (29) ^{bc3}	211 (8) ^{b3}	180 (47) ^{b3}

Diferentes superíndices (abc) en una misma columna indican diferencias significativas ($p < 0.05$) debidas o no al tensoactivo, para un mismo polímero. Diferentes superíndices (123) en una misma columna indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre polímeros, sin tensoactivo y para cada tensoactivo.

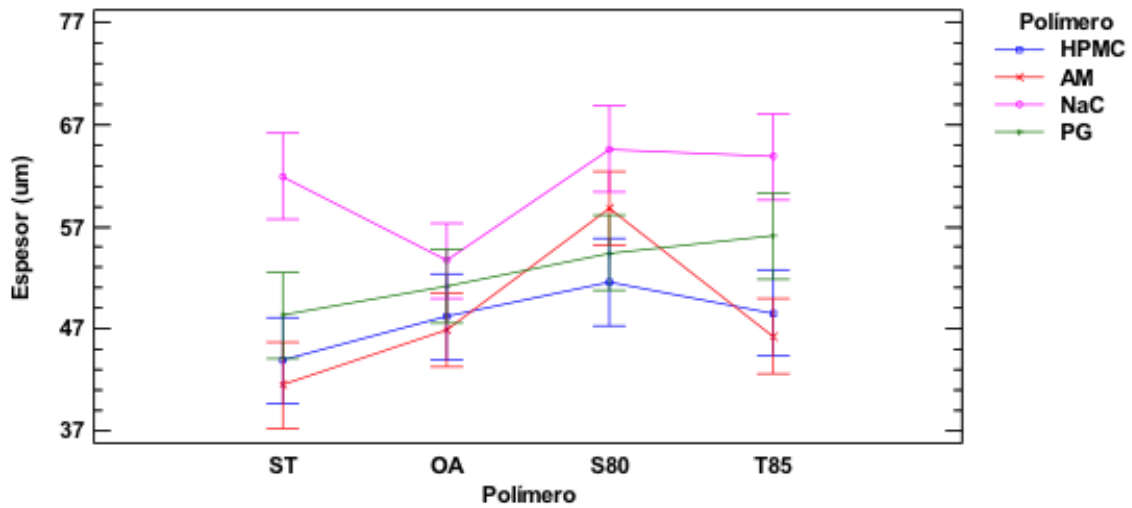


FIGURA 1. Gráfico de interacción con intervalos LSD ($p < 0.05$) del espesor de las películas de los distintos biopolímeros con y sin tensoactivos (HPMC: hidroxipropilmetilcelulosa, AM: almidón, NaC: caseinato sódico, PG: proteína de guisante, ST: sin tensoactivo, OA: ácido oleico, S80: Span 80, T85: Tween 85)

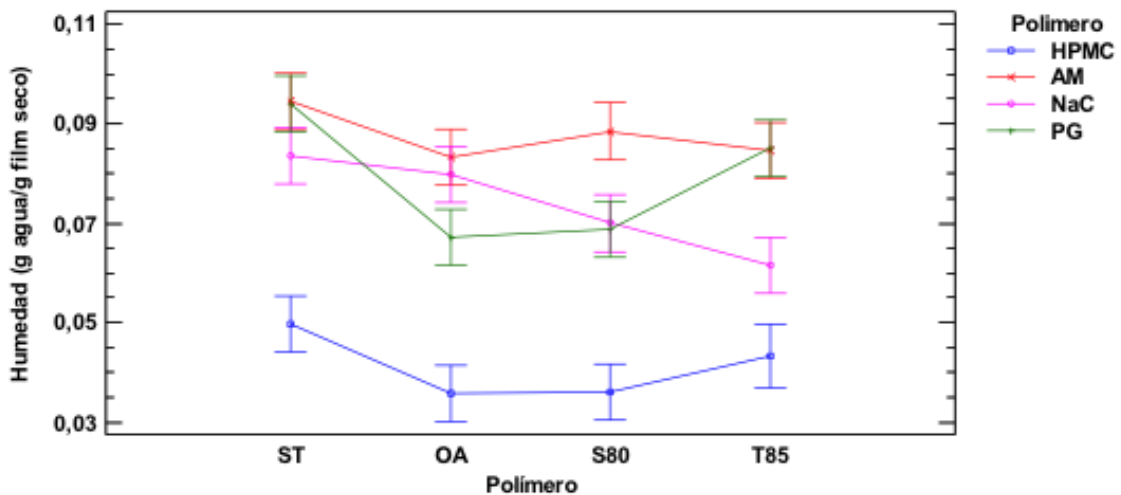


FIGURA 2. Gráfico de interacción con intervalos LSD ($p < 0.05$) del contenido en humedad de las películas de los distintos biopolímeros con y sin tensoactivos. (HPMC: hidroxipropilmetilcelulosa, AM: almidón, NaC: caseinato sódico, PG: proteína de guisante, ST: sin tensoactivo, OA: ácido oleico, S80: Span 80, T85: Tween 85)

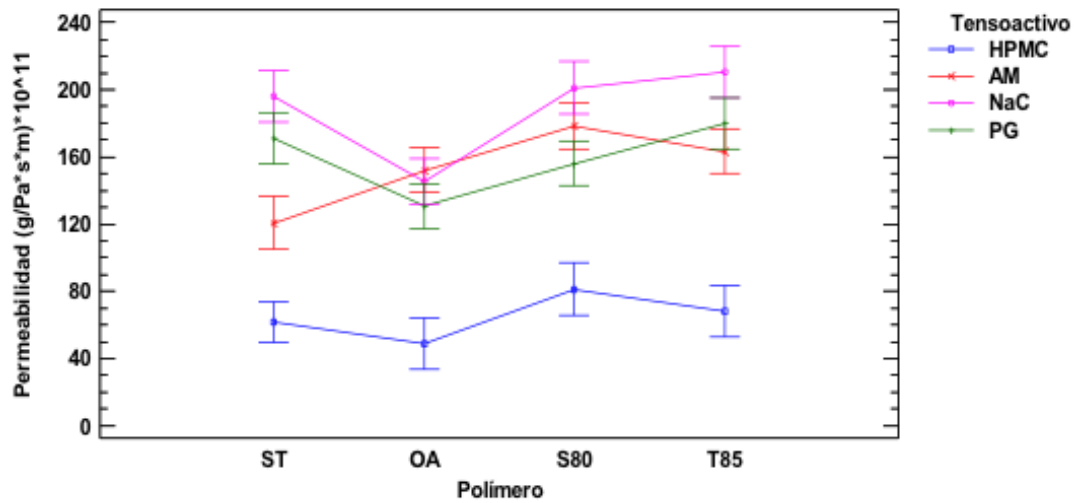


FIGURA 3. Gráfico de interacción con intervalos LSD ($p < 0.05$) de la PVA de las películas de los distintos biopolímeros con y sin tensoactivos. (HPMC: hidroxipropilmetilcelulosa, AM: almidón, NaC: caseinato sódico, PG: proteína de guisante, ST: sin tensoactivo, OA: ácido oleico, S80: Span 80, T85: Tween 85)

RHEOLOGICAL, TEXTURE AND NUTRITIONAL PROPERTIES OF GLUTEN-FREE PUFF PASTRY ENRICHED WITH BEAN, CHICKPEA OR BUCKWHEAT FLOURS WITH DIFFERENT HYDROCOLLOIDS

Cláudia Silva¹, Rita Pinheiro^{1,2}

1. ABSTRACT

In the present study pulse crops of chickpea or bean flours and a pseudocereal, buckwheat, were added to a gluten-free puff pastry formulation using a range of hydrocolloids (0.25 %): xanthan, guar and locust bean gums. This work focused on texture, rheological, colour, moisture and nutritional properties of gluten-free puff pastry. Results showed that moisture content of puff pastry with xanthan gum was 4-fold higher than the formulations with guar or locust bean gums. Adding xanthan or locust bean gum to the formulation decreased the viscosity of dough. Results indicated that the replacement of 30 % of rice flour for chickpea flour increased 2.5 % the protein and 1.4 % the fibre content when compared to the control (without any pulse crop). The addition of 30 % of buckwheat flour to the formulation caused a darkening of pastry colour (L/b*), making it similar to the commercial gluten puff pastry. With texture results it was possible to conclude that with buckwheat flour the pastry was crunchier and it was possible to distinguish more layers than the others. Regarding rheological aspects, it was observed that dough with chickpea flour had less viscosity than bean and buckwheat formulations. From this work it was concluded that pulses can be added to gluten-free puff pastry with positive impact on its nutritional, texture and colour properties.

CONTACTO: Rita Pinheiro ritapinheiro@estg.ipv.pt

1. UIDICTA, Escola Superior de Tecnologia e Gestão, Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Viana do Castelo, Portugal.

2. CEB, Centro de Engenharia Biológica, Universidade do Minho, Braga, Portugal.

2. INTRODUCTION

Celiac disease is an autoimmune disorder triggered in susceptible individuals by the ingestion of a protein classified as gluten, which is found in wheat, barley, rye and oats. Most of the cereal products are made with these cereals, becoming undesirable for celiac patients, which only treatment is a strict adherence to a 100 % gluten-free diet (Gallagher *et al.*, 2003; Gallagher *et al.*, 2004). The biggest concern in this diet is the nutritional aspect, often characterized by an excessive consumption of energy and a reduced intake of fibre, minerals and complex carbohydrates, resulting in a malnourishment. Replacing the cereals with gluten, mainly for rice flour, it can be obtained a satisfactory result, but most of those products are tasteless, with pour mouth feel, and low fibre content (Sabanis *et al.*, 2009; Mandala and Kapsokefalou, 2011). Some recent advances were taken in order to improve quality of life of celiac patients, developing gluten-free cereal products, diversifying their choice. Gluten is the protein responsible for the elastic and extensible properties needed to produce good quality cereal products, such as puff-pastry (Gallagher *et al.* 2003). Without it the dough does not turn, and does not form layers, resulting in a dry pastry, with no acceptance. To mimic the viscoelastic properties of gluten, hydrocolloids are often used in food technology (Rosell *et al.*, 2001; Lazaridou *et al.* 2007). They help to improve food texture by water retention and retarding starch retrogradation, enlarging overall the final quality of gluten-free cereal products and during their storage. They can produce very viscous solutions affecting the moisture content and texture (Rojas *et al.*, 1999; Rosell *et al.*, 2001; Guarda *et al.*, 2004; Kohajdová and Karovičová, 2009). Mixing other cereal flours besides rice flour in gluten-free formulas, could nutritionally enrich them. The inclusion of pulse crops is an interesting choice, they are an important source of food proteins, fibres, minerals and vitamins, and are also recommended by health organizations and dieticians (Boye *et al.*, 2010). Pulse crops also have functional properties in formulation and process, such as water and fat binding capacity, solubility, gelatinisation and foaming, which play a crucial role in structure formation and mouth feel of finished products (Kiosseoglou *et al.*, 2011). Chickpea, bean and buckwheat despite being rich nutritionally, their compounds have biological activities of cholesterol-lowering effects, antihypertensive effects, and improving the constipation and obesity conditions (Wood, 2009; Roy, 2010). The aim of the present study was to investi-

gate the effect of different hydrocolloids (xanthan, guar and locust bean gums) and different pulse crops flours: chickpea (*Cicer arietinum*L.), bean (*Ceratonia siliqua* L.) and buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) on rheological, texture and nutritional properties of a gluten-free puff pastry.

3. MATERIALS AND METHODS

The chickpea, bean and buckwheat flours were obtained in laboratory by grinding the dry grains in a grain mill Adagroinox (M6L60). The modified rice starch used (waxy rice with chemical modification-E1414) was gently offered by Beneo. Pea isolate and all the hydrocolloids were obtained from Formulab and the other ingredients were bought on the local market. The composition of the dough was: 31.4 % butter shortening (without lactose), 26.5 % rice flour, 14,0 % potato starch, 14,0 % water, 10.5 % modified rice starch, 1,0 % pea isolate, 1.5 % HPMC (Hydroxypropyl Methycellulose), 0.45 % dextrose, 0.1 % salt, and 1.5 % hydrocolloids: xanthan, guar or locust bean gums. For the evaluation of the effect of pulse crops addition, different types of flours were used: 30 % of the rice flour was replaced by chickpea, bean or buckwheat flours (all these trials were made with 1.5 % of xanthan gum). The experiment made with 1.5 % of xanthan gum and without rice flour replacement was used as control. According to the production process flow, the puff pastry mixture was prepared with the homogenization of all dry ingredients for 20 second at 90 rpm. After that, the dough was involved in transparent film and left to rest at 4 °C during 45 min. The resultant dough was laminated in floured surface into rectangle shape and folded using the *three-fold* method witch was repeated three times. After another 30 min rest period at 4 °C, the paste was laminated again and folded using once the *four-fold* method. The paste was sliced in small rectangles (3cm×7cm) and baked in a laboratory oven with air circulation at the temperature of 180 °C for 17 min. The puff pastry rectangles were removed from the oven and cooled at room temperature.

The texture of puff-pastry was measured using a TA-XT2i Texture Analyser (Stable Micro Systems Ltd, Surrey, UK). Pastry slices were subjected to deformation for a single compression cycle at room temperature (25 °C) with acylindrical probe (P/35) that punched into the pastry with a constant crosshead velocity of 2 mm/s.

The hardness measured is defined as the peak force observed during the compression cycle. Texture properties were determined 2 hours after baking and storage at room temperature. Rheological properties were characterized at 25 °C using a Viscometer (Haake PK100D, Germany). Samples were examined using a conical-plate system (PK5), which consisted of a 50 mm diameter probe. Pastry colour was measured using a Minolta spectrophotometer CN-508i (Minolta, Co., LTD., Japan). Results were expressed in the CIE L*a*b* colour. L*/b* was also calculated. For the determination of carbohydrates, the procedure was performed according to the one described on the book Analytical Chemistry of Foods. Total fiber was calculated using the AOAC (1995) 963.06, and total protein by the method of the NP-1996 of 1982. Fat content was determined by Soxhlet method. The determination of moisture was made by gravimetric method. Results were analysed using one-way analysis of variance (ANOVA) to make a comparison test ($p < 0.05$) and LSD (Fisher's Least Significant Difference) to determine the significant differences between the starches studied.

4. RESULTS AND DISCUSSION

The effect of different hydrocolloids on carbohydrates, protein, fiber and fat content is shown on Figure 1. Results show that fibre content is slightly higher in locust bean gum experiment than in the other two experiments ($p < 0.05$). However, there were no significant differences between carbohydrates, protein, and fat content results for the experiments made with xanthan, guar and locust bean gums ($p > 0.05$).

Regarding puff pastry hardness (Figure 2), it can be seen that the experiment with guar gum presents the highest hardness of all experiments ($p < 0.05$). On the contrary, pastry with xanthan gum was less hard than the others. According to Lazaridou *et al.* (2007) the inclusion of xanthan or guar gums on bread batter can result in an increase of crumb firmness.

Table 1 shows the moisture content of the experiments made with different hydrocolloids. The results indicate that the inclusion of xanthan gum increased 3 to 4-fold the pastry moisture content ($p < 0.05$) when comparing to guar and locust bean gums. This indicates that the addition of xanthan showed great capacity for moisture retention. This could be related to the decrease in hardness of the pastry in

the texture analysis (Figure 2). According to Rosell *et al.* (2001) the water activity as well as the moisture retention is due to the higher water holding capacity of some hydrocolloids.

The effect of hydrocolloid incorporation on the appearance of puffpastry and on the number of layers is illustrated on Figure 3. The volume and the number of layers increased with the addition of xanthan gum when compared with guar and locust bean gums. All the results showed that the most suitable hydrocolloid to incorporate in puff pastry formulation was xanthan gum.

The effect of bean, chickpea and buckwheat flour addition on nutritional properties of gluten-free puff pastry is shown on Figure 4 (the control with xanthan gum and without addition of pulse flour is shown on Figure 1). The partial replacement (30 %) of rice flour by chickpea flour induced a significant increase ($p < 0.05$), almost 2-fold, in the fibre content of pastry compared to the control. The same behaviour was found in carbohydrates content the values were substantially increased by buckwheat addition. Also, when compared to the control, results indicated that the replacement of 30 % of rice flour for chickpea flour increased 2.5 % the protein and 1.4 % the fibre content.

The influence of flours on puff pastry hardness can be observed in Figure 5. With the exception of chickpea experiment, the addition of the other flours gave a harder pastry than the control, with xanthan gum. With buckwheat flour addition the pastry was crunchier and it was possible to distinguish more layers than the others (data not shown).

Colour is an important characteristic for baked products because, it together with texture and aroma, contributes to consumer preference. It depends on physicochemical characteristic of the dough (water content, pH, reducing sugars and amino acid content) and on the operating conditions applied during baking (Gallagher *et al.*, 2003). The colour parameters for puff pastry are summarized on Table 2. The addition of 30 % of buckwheat flour to the formulation caused a darkening of pastry colour, lower L^* values, than the experiments with hydrocolloids ($p < 0.05$), making it similar to the commercial gluten puff pastry. Also, puff pastry made with buckwheat presented the lowest L^* values of all. Pastry colour (L^*/b^*) was also influenced and the pseudocereal-containing puff pastry was characterized by a significantly darker pastry colour in comparison with the other experiments.

All the experiments containing different hydrocolloids (Figura 6) and different type of flours (Figure 7) showed shear thinning (pseudoplastic) behavior, which means that apparent viscosity decreases as the shear rate increases. Significant reduction of dough viscosity was found for xanthan and locust bean gums experiments when compared with guar gum. According to Turabi *et al.* (2008) guar gum has a higher molecular weight than locust and xanthan gums, therefore, its dough showed a higher viscosity than the others. It was also observed that dough with chickpea flour had less viscosity than bean and buckwheat formulations.

5. CONCLUSIONS

Hydrocolloids are able to modify gluten-free puff pastry properties, mainly affecting texture characteristics and moisture content. With the results obtained it was possible to conclude that xanthan gum led to better texture properties on puff pastry than guar or locust bean gums. Moreover, there were no significant differences on the nutritional content between the hydrocolloids studied. On the contrary, the incorporation of 30 % of chickpea flour increased 2.5 % the protein and 1.4 % the fibre content when compared to the control (without any pulse crop). Puff pastry made with buckwheat flour caused a darkening of pastry colour (L/b^*), making it similar to the commercial gluten puff pastry. Regarding texture characteristics it was possible to conclude that with buckwheat flour the pastry was crunchier. From this work it was concluded that pulses can be added to gluten-free puff pastry with positive impact on its nutritional, texture and colour properties.

6. REFERENCES

- BOYE J., Zare F., Pletch A. (2010) Pulse proteins: Processing, characterization, functional properties. *Food Research International*. 43. 414-431.
- GALLAGHER E., Gormley T.R., Arendt E.K (2003) Crust and crumb characteristics of gluten-free breads. *Journal of Food Engineering*. 56. 153-161.
- GALLAGHER E., Gormley T.R., Arendt E.K. (2004) Recent advances in the formulation of gluten-free cereal-based products. *Trends in Food Science & Technology*. 15. 143-152.
- GUARDA, A.; Rosell, C., M.; Benedito, C.; Galotto, M., J. (2004) Different hydrocolloids as bread improvers and antistaling agents. *Food Hydrocolloids*. 18. 241-247.

- KIOSSEOGLU, V. & Paraskevopoulo, A. (2011) Functional and physicochemical properties of pulse proteins. In Tiwari, B., K.; Gowen, A.; McKenna, B. (Eds), *Pulse Foods: Processing, Quality and Nutraceutical Applications*. (pp. 57-90) Elsevier, UK.
- KOHAJDOVÁ, Z., Karovičová, J. (2009) Application of hydrocolloids as baking improvers. *Chemical Papers* 63 (1). 26-38.
- LAZARIDOU, A., Duta, D., Papageorgiou, M., Belc, N., Biliaderis, C.G. (2007) Effects of hydrocolloids on dough rheology and bread quality parameters in gluten-free formulations, *Journal of Food Engineering*. 70. 1033-1047.
- MANDALA, I.; Kapsokefalou, M. (2011) Gluten-free bread: sensory, physicochemical, and nutritional aspects. In Preedy, V., R.; Watson, R., R.; Patel, V., B. (Eds), *Flour and breads and their fortification in health and disease prevention*. (pp. 161-169) Elsevier, London.
- ROSELL, C., M.; Rojas, J. A.; Berber, C. B. (2001) Influence of hydrocolloids on dough rheology and bread quality. *Food Hydrocolloids*. 15. 75-81.
- ROJAS, J., A.; Rosell, C., M.; Barber, C., B. (1999) Pasting Properties of different wheat flour-hydrocolloid systems. *Food Hydrocolloids*. 13. 27-33.
- ROY, F.; Boye, J., L.; Simpson, B., K. (2010) Bioactive proteins and peptides in pulse crops: Pea, chickpea and lentil. *Food Research International*. 43. 432-442.
- SABANIS D., Lebesi D., Tzia C. (2009) Effect of dietary fibre enrichment on selected properties of gluten-free bread. *LWT - Food Science and Technology*. 42. 1380-1389.
- TURABI, E., Summ, G., Sahin, S. (2008) Rheological, properties and quality of rice cakes formulated with different gums and an emulsifier blend. *Food hydrocolloids*. 22. 305-312.
- WOOD J.A. (2009) Texture, processing and organoleptic properties of chickpea-fortified spaghetti with insights to the underlying mechanisms of traditional durum pasta quality. *Journal of Cereal Science*. 49. 128-133.

7. TABLES AND FIGURES

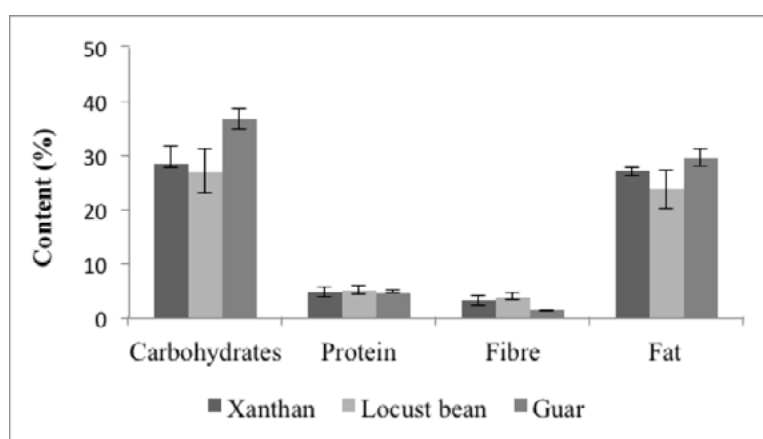


FIGURE 1. Effect of hydrocolloid on gluten-free puff pastry carbohydrates, protein, fiber and fat content. The values are expressed as mean \pm standard deviation of 3 replicates.

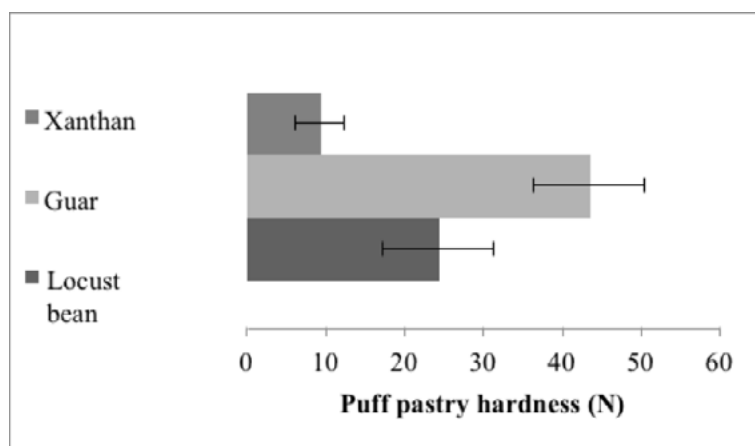


FIGURE 2. Effect of hydrocolloid on gluten-free puff pastry hardness. The values are expressed as mean \pm standard deviation of 10 replicates.

TABLE 1. Effect of hydrocolloids and flour type on moisture content. The values are expressed as mean \pm standard deviation of 2 replicates.

Hydrocolloid	Moisture (%) \pm SD	Flour Type	Moisture (%) \pm SD
Xanthan	12,37 \pm 1,40	Buckwheat	14,10 \pm 3,4
Locust bean	2,81 \pm 0,01	Chickpea	5,00 \pm 0,51
Guar	3,68 \pm 0,21	Bean	10,66 \pm 3,48

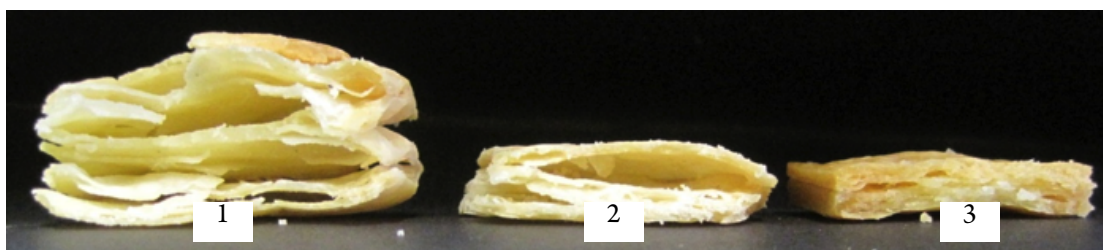


FIGURE 3. Effect of hydrocolloid addition on external appearance of puff pastry: (1) xanthan gum (2) locust bean gum (3) guar gum.

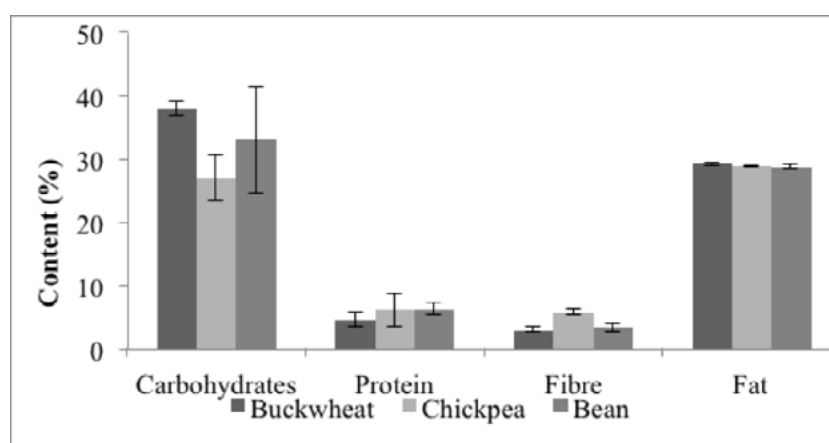


FIGURE 4. Effect of flour type on gluten-free puff pastry carbohydrates, protein, fibre and fat content. The values are expressed as mean \pm standard deviation of 3 replicates.

TABLE 2. Effect of hydrocolloids and flour type on crumb colour parameters, L^* , a^* , b^* and L^*/b^* . The values are expressed as mean \pm standard deviation of 10 replicates.

	L^*	a^*	b^*	L^*/b^*
Xanthan	69,37 \pm 3,42	6,73 \pm 1,21	25,81 \pm 2,67	2,71 \pm 0,30
Locust bean	65,19 \pm 3,23	7,77 \pm 1,40	26,79 \pm 2,44	2,44 \pm 0,15
Guar	66,62 \pm 0,71	7,92 \pm 0,78	28,93 \pm 0,80	2,30 \pm 0,89
Buckwheat	57,68 \pm 0,56	10,54 \pm 0,75	28,52 \pm 1,48	2,02 \pm 0,10
Chickpea	61,34 \pm 3,92	8,91 \pm 1,34	24,99 \pm 1,70	2,46 \pm 0,17
Bean	62,25 \pm 1,75	11,31 \pm 1,04	28,35 \pm 1,32	2,20 \pm 0,13

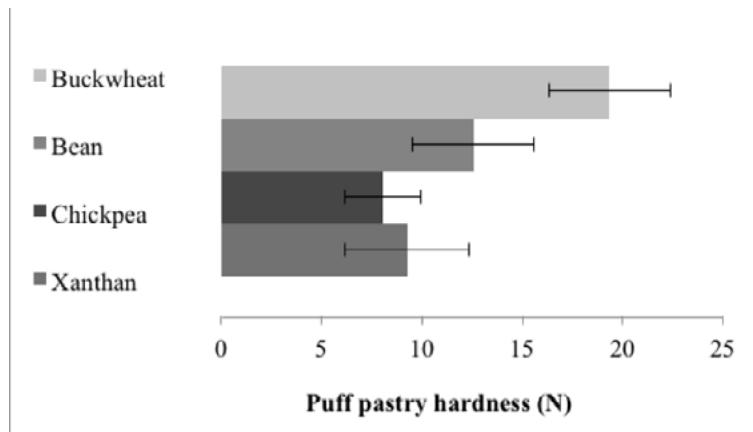


FIGURE 5. Effect of flour type on gluten-free puff pastry hardness. The experiment with xanthan is the control. The values are expressed as mean \pm standard deviation of 10 replicates.

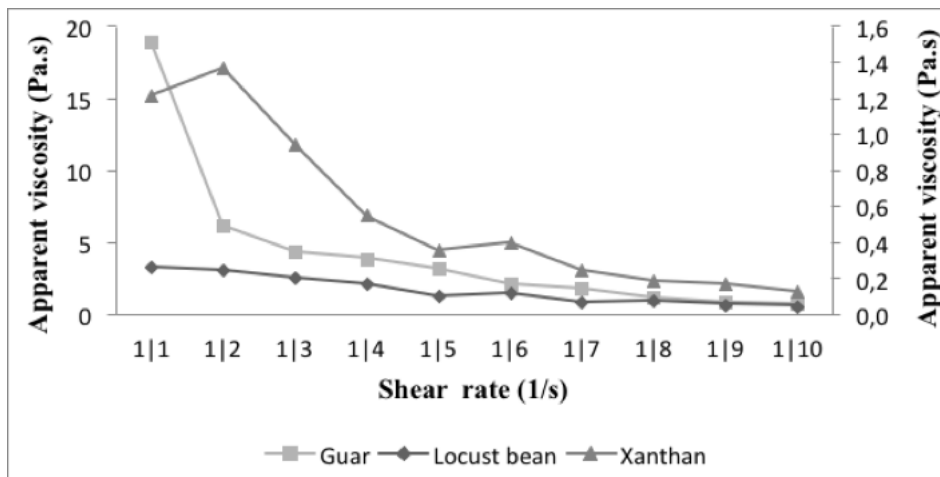


FIGURE 6. Effect of hydrocolloid addition on gluten-free dough apparent viscosity (Guar gum on primary axis; xanthan and locust bean in the secondary axis).

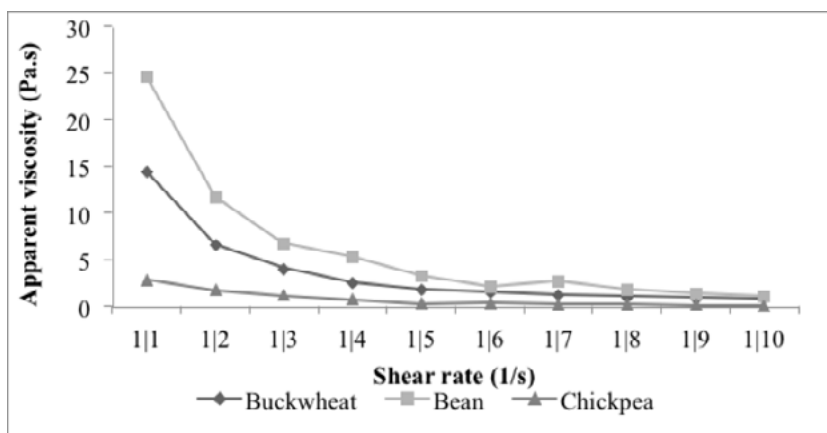


FIGURE 7. Effect of flour type addition on gluten-free dough apparent viscosity.

EFFECT OF DIFFERENT MODIFIED STARCHES ON THE PROPERTIES OF A GLUTEN-FREE BREAD MIX

Núria Reis¹, Rita Pinheiro^{1,2}

1. ABSTRACT

The purpose of this study was to analyze the effect of different modified and native rice starches on the rheological, texture and colour properties, and moisture content of a gluten-free dough and bread crumb. Five trials with different formulations were studied. At the same formulation base of gluten-free dry mix (rice flour, dextrose, guar gum, locust bean gum and corn starch) different rice starches, with different concentrations (0.5 %, 1 %, 2.5 %, 5 % and 10 %) were added: waxy (100 % amylopectin) rice starch with low swollen granulate strength (WDR), waxy rice starch with pre-gelatinization (WP), regular rice with coarse grain (RC) and waxy rice with chemical modification (WCM). After adding water, fresh yeast and salt to the dry mix, the dough was baked. A trial without addition of any rice starch was also made (control). Results showed that dough with WDR had the highest hardness regardless of the starch concentration. On the contrary, dough with WP presented the lowest hardness values. Significant reduction of dough viscosity was found for WP, WCM and RC experiments when compared with WDR and control. Regarding bread crumb texture characteristics, experiments with WP had lower hardness and higher specific volume than the others. Also, increasing starch concentration did not increase significantly the hardness value. WP starch showed great capacity for moisture retention and the content increases with starch concentration. Color, L/b^* , analysis showed no significant differences between the experiments. From

CONTACTO: Rita Pinheiro ritapinheiro@estg.ipv.pt

1. UIDICTA, Escola Superior de Tecnologia e Gestão, Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Av. do Atlântico, 4900-348 Viana do Castelo, Portugal.

2. CEB, Centro de Engenharia Biológica, Universidade do Minho, Braga, Portugal.

this work it was concluded that dough and crumb bread were greatly influenced by the type of rice modified starch used and the starch that was pre-gelatinized, WP, improved gluten-free texture properties.

2. INTRODUCTION

Celiac disease is an autoimmune disorder caused by intolerance to gluten, which is found in wheat and similar proteins in barley, rye and oats. This disorder is characterized by the inability to digest a protein fraction, classified as gluten. A person with this syndrome, which appears usually in early age, cannot consume a number of cereal products, particularly pasta and bread derivatives, and the acceptable treatment is a strict adherence to a 100 % gluten-free diet for life (Gallagher *et al.*, 2003; Gallagher *et al.*, 2004). The only effective treatment for celiac disease is to maintain a strict gluten-free diet, which leads to recovery of the intestinal mucosa (Farrell and Kelly, 2002). Some of the problems that persons with CD have to face are a lack of gluten-free bakery products, the poor quality (poor crust characteristics, rapid staling and poor mouth feeling and flavour) of the ones that do exist (Gallagher *et al.*, 2004) and the high price of gluten-free products (Arendt *et al.*, 2008). Wheat-gluten plays an essential role in bread-making, as it is responsible for the formation of cohesive, extensible and elastic dough that is able to retain the gas produced during fermentation (Singh and MacRitchie, 2001). This fact makes it difficult to achieve high-quality bread without the presence of gluten, and different approaches have therefore been investigated in attempts to improve the quality of gluten-free bread (Hera *et al.*, 2013). First, it is essential to incorporate hydrocolloids as they act as gluten-substitutes, leading some authors to try to improve bread characteristics by comparing the effect of different hydrocolloids in gluten-free bread formulations (Lazaridou *et al.*, 2007). Starch is one of the most important polysaccharides. Native starches, although widely used in food industry, have limited resistance to physical conditions used by modern food processing (Tharanathan, 2005). They are characterized by low thermal stability, susceptibility to extreme pH conditions, and shear forces, as well as inappropriate rheological characteristics of pastes and gels. In addition, they exhibit tendency to retrogradation and syneresis and low stability in freezing cycles (Singh *et al.*, 2007; Tharanathan, 2005). Starch modification processes allow not only to eliminate some of the adverse physical and chemical

characteristics of native starch, but also to give them a new and specific product characteristics. Starches modified by chemical reaction have the status of food additives and their use is subject to certain laws. Starch can be chemically modified by oxidation, esterification or etherification (Singh *et al.*, 2007; Tharanathan, 2005). The stabilization of the rheological properties of native starch can be carried out by crosslinking, i.e. chemical modification using bifunctional reagents such as adipic acid or phosphate groups. The purpose of this action is to fortify the structure of starch granules due to the strengthening of intermolecular hydrogen bonds with covalent bonds. Starch granules are therefore more resistant to factors such as high and variable temperature, shear, or low pH values. Crosslinking of starch however reduces the strength of the formed gel, resulting in lowered resistance to freeze/thaw cycles. This difficulty can be overcome by the introduction of monofunctional chemical groups in the C6 position of anhydroglucosidic units of starch. Stabilized cross-linked starches obtained in this way form gels with a stable texture, resistant to freezing and thawing processes, and improve the structure and texture of the products to which they are introduced (Singh *et al.*, 2007; Tharanathan, 2005). Another way of modifying the starch is a manipulation of amylose to amylopectin ratio by appropriate crossing of starchy plants or their genetic modification. Change in the amount of amylose in the starch significantly affects its physicochemical properties and ability to form pastes and gels (Case *et al.*, 1998).

3. MATERIALS AND METHODS

The raw materials used for the elaboration of gluten-free bread consisted of: rice flour (Globo), dextrose (Formulab), guar gum (Formulab), locust bean gum (Formulab), corn starch (Maizena), shortening (Vaqueiro), fresh gluten-free yeast (Levital), salt (Vatel) and modified rice starches (Beneo). Part of those ingredients was bought on the local market. The gluten-free bread formula consisted of two step preparation: first the preparation of dry ingredients *mix* (60 %), and second the regeneration with the liquid part (40 %). The composition of the dry mix was: 50 % rice flour, 9 % dextrose, 0.5 % guar gum, 0.5 % locust bean gum and 30 %-39.5 % corn starch, and different rice starches with different concentrations (0.5 %, 1 %, 2.5 %, 5 % and 10 %): waxy (100 % amylopectin) rice starch with low swollen granulate strength (WDR), waxy rice starch with pre-gelatinization (WP), regular

rice with coarse grain (RC) and waxy rice with chemical modification (WCM). And the liquid mixture was: 87 % water, 4 % fresh yeast, 6 % shortening and 3 % salt. A trial without addition of any rice starch was also made (control). According to the production process flow, the bread mixture was prepared with the homogenization of all dry ingredients for 2 min at 90 rpm. The yeast was dissolved in warm water (35 °C) and the resulted solution was added to the dry ingredients and finally the salt, the fat and the rest of the water was added. The mixture was blended for 5 min by 180 rpm. The resultant dough was placed in aluminium baking pans and fermented at an incubation chamber set at 35 °C±2 °C for 40 min. Baking was conducted in a laboratory oven with air circulation at the temperature of 200 °C for 30 min. The loaves were removed from the pans and cooled at room temperature. The dough and crumb texture was determined using a TA-XT2i Texture Analyser (Stable Micro Systems Ltd, Surrey, UK). Dough was subjected to deformation for single compression cycle at room temperature (25 °C) with a conical probe (P/60) was punched into the bread with a constant crosshead velocity of 2 mm/s. Crumb slices were analysed with a TPA test with a cylindrical probe (P/4) with a constant crosshead velocity of 5 mm/s. For both measurements the hardness measured is defined as the peak force observed during the compression cycle. Texture properties were determined 2 hours after baking and storage at room temperature. Dough rheological properties were characterized at 25 °C using a Viscometer (Haake PK100D, Germany). Samples were examined using a conical-plate system (PK5), which consisted of a 35 mm diameter probe. Crumb colour was measured using a Minolta spectrophotometer CN-508i (Minolta, Co., LTD., Japan). Results were expressed in the CIE L*a*b* colour. L*/b* was also calculated. Bread crumb moisture content was determined by gravimetric method. Results were analysed using one-way analysis of variance (ANOVA) to make a comparison test (p<0.05) and LSD (Fisher's Least Significant Difference) to determine the significant differences between the starches studied.

3. RESULTS AND DISCUSSION

The effect of different rice starch on gluten-free dough hardness is showed on Figure 1. The resistance of bread dough and crumb to deformation is the textural attribute referred to as hardness and it is an important factor in bakery products since it

is strongly correlated with consumers perception of bread freshness (Sabanis *et al.*, 2009). Results show that dough with WDR had the highest hardness mainly for the highest starch concentration studied ($p < 0.05$). On the contrary, for lower starch concentrations, dough with WP presented the lowest hardness values ($p < 0.05$). With the exception of the experiment with WDR and for concentrations of starch above 2.5 %, all other experiments have lower hardness than the control ($p < 0.05$). This indicates that the dough becomes softer with the addition of modified rice starch RC, WCM or WP with the increase of starch concentration.

All the experiments containing different starches showed shear thinning (pseudoplastic) behavior, which means that apparent viscosity decreases as the shear rate increases (Figure 2). Significant reduction of dough viscosity was found for WP, WCM and RC experiments when compared with WDR and control with the increase of the starch concentration.

Regarding bread crumb texture characteristics, represented on Figure 3, experiments with WP and WCM had lower hardness and higher specific volume (data not shown) than the others. Also, increasing starch concentration did not increase significantly the hardness value. The addition of any modified starch studied in gluten-free bread resulted in much more softer crumb than the control, regardless of the concentration added ($p < 0.05$). The control was denser and had a tightly packed crumb structure resulting in higher crumb hardness values. On the contrary, the experiments with the addition of starch WDR, RC, WCM or WP presented a soft crumb. According to Sabanis *et al.* (2009) a possible explanation for the increase of bread crumb is the thickening of the walls surrounding the air bubbles in the crumb.

Figure 4 shows the effect of different rice starch on moisture content of bread crumb. The results indicate that the inclusion of any modified starch increases moisture content ($p < 0.05$). In particular, the addition of WP starch showed great capacity for moisture retention and its content increases with starch concentration. The pre-gelatinization of rice starch seems to promote the water-binding in the bread crumb matrix and thus minimized moisture migration. This is related to the decrease in hardness of the crumb and dough found in the texture analysis (Figure 3).

Colour is an important characteristic for baked products because, it together with texture and aroma, contributes to consumer preference. It depends on physicochemical characteristic of the dough (water content, pH, reducing sugars and aminoacid content) and on the operating conditions applied during baking (Ga-

llagher *et al*, 2003). The colour parameter L^* for crumb bread is summarized on Table 1. Analysis of all the experiments indicated that WP addition had a darker crumb colour (lower L^* values) ($p < 0.05$) when compared with other experiments. According to Gómez *et al.* (2008) the colour of bread crumb and crust is more associated to Maillard and caramelization reactions than to the ingredients content. On the other hand, this behavior may be related to the increased porosity of the bread crumb with WP which caused the brightness decreased.

Although crumb color, L^*/b^* (white/yellow ratio) results (Figure 5) showed no significant differences between the experiments ($p > 0.05$), it seems that the bread with WP has a higher L^*/b^* value than the others.

5. CONCLUSIONS

From this work it was concluded that dough and crumb gluten-free bread were greatly influenced by the type of modified rice starch used and the starch that was pre-gelatinized, WP, improved gluten-free texture properties, mainly for the highest rice starch concentrations studied.

6. REFERENCES

- ARENDR, E. K., Morrissey, A., Moore, M. M., Dal Bello, F. (2008). Gluten-free breads. In E. K. Arendt, & F. Dal Bello (Eds.). *Gluten-free cereal products and beverages* (pp. 289-311). Minnesota, USA. Academic Press.
- CASE, S. E., Capitani, T., Whaley, J. K., Shi, Y. C., Trzasko, P., Jeffcoat, R. (1998). Physical properties and gelation behavior of a low-amylopectin maize starch and other high-amylose maize starches. *Journal of Cereal Science*. 27. 301-314.
- FARRELL, R. J., Kelly, C. P. (2002). Celiac sprue. *New England Journal of Medicine*. 346. 180-188.
- GALLAGHER, E., Gormley, T.R., Arendt, E.K. (2003). Crust and crumb characteristics of gluten free breads. *Journal of Food Engineering*. 56. 153-161.
- GALLAGHER, E., Gormley, T.R., Arendt, E.K. (2004). Recent advances in the formulation of gluten-free cereal-based products. *Trends in Food Science & Technology*. 15. 143-152.
- GÓMEZ, M., Oliete, B., Pando, V., Ronda, F., Caballero, P. A. (2008). Effect of fermentation conditions on bread staling kinetics. *European Food Research and Technology*. 226. 1379-1387.

- HERA, E., Martinez, M., Gómez, M. (2013). Influence of flour particle size on quality of gluten-free rice bread. *LWT-Food Science and Technology*. 54. 199-206.
- LAZARIDOU, A., Duta, D., Papageorgiou, M., Belc, N., Biliaderis, C.G. (2007). Effects of hydrocolloids on dough rheology and bread quality parameters in gluten-free formulations, *Journal of Food Engineering*. 70. 1033-1047.
- SABANIS, D., Lebesi., D., Tzia, C. (2009). Effect of dietary fibre enrichment on selected properties of gluten-free bread. *LWT-Food Science and Technology*. 42. 1380-1389.
- SINGH, J., Kaur, L., McCarthy, O. J. (2007). Factors influencing the physicochemical, morphological, thermal and rheological properties of some chemically modified starches for food applications e a review. *Food Hydrocolloids*. 21. 1-22.
- SINGH, H., MacRitchie, F. (2001). Application of polymer science to properties of gluten Source. *Journal of Cereal Science*. 33. 231-243
- THARANATHAN, R. N. (2005). Starch e value addition by modification. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 45. 371-384.

7. TABLES AND FIGURES

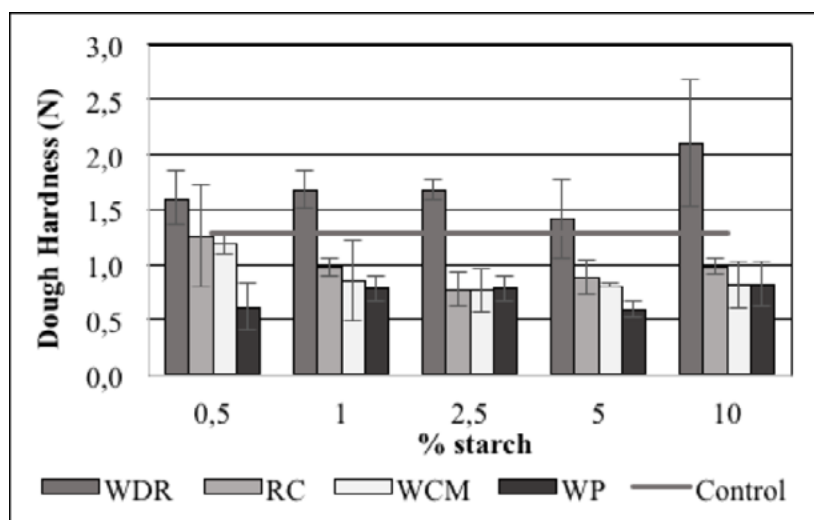


FIGURE 1. Effect of rice starch on gluten-free dough hardness for different concentrations of starch. The values are expressed as mean \pm standard deviation of 10 replicates

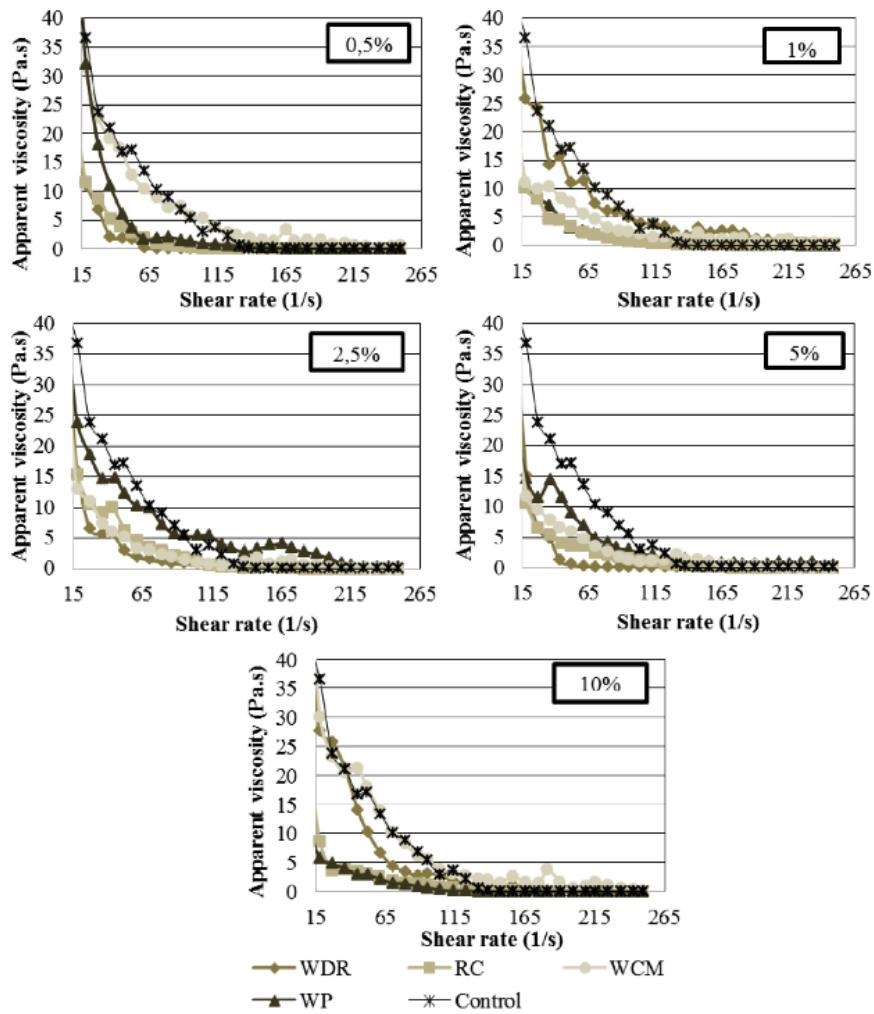


FIGURE 2. Effect of rice starch on gluten-free dough apparent viscosity for different concentrations of starch, 0.5 %, 1 %, 2.5 %, 5 % and 10 %

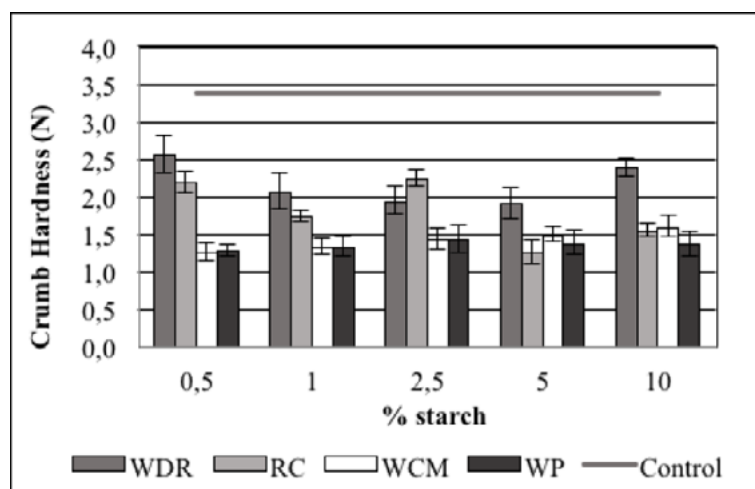


FIGURE 3. Effect of rice starch on gluten-free bread crumb hardness for different concentrations of starch. The values are expressed as mean \pm standard deviation of 10 replicates

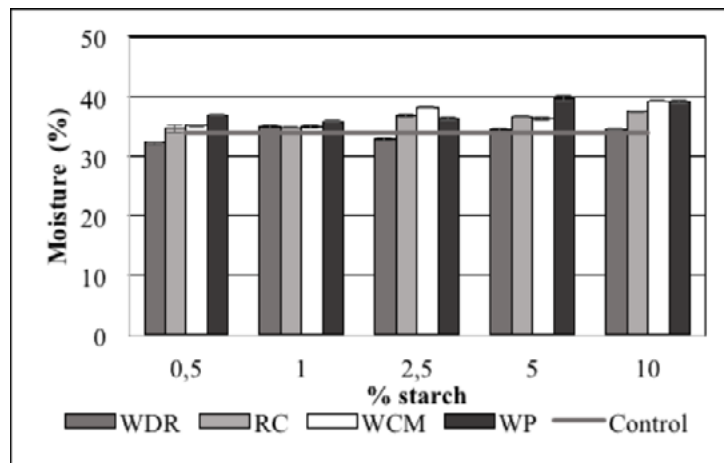


FIGURE 4. Effect of rice starch on gluten-free bread moisture for different concentrations of starch. The values are expressed as mean \pm standard deviation of 3 replicates

TABLE 1. Effect of rice starch on gluten-free bread crumb colour, L^* , for different concentrations of starch. The values are expressed as mean \pm standard deviation of 10 replicates

	Starch percentage											
	0 %		0,5 %		1 %		2,5 %		5 %		10 %	
Control	74,29	$\pm 0,55$										
WDR	L^*		73,93	$\pm 0,42$	74,90	$\pm 0,56$	73,90	$\pm 0,54$	72,90	$\pm 0,86$	74,10	$\pm 1,07$
RC			77,88	$\pm 0,29$	75,14	$\pm 0,53$	76,89	$\pm 0,51$	72,92	$\pm 1,70$	75,73	$\pm 0,69$
WCM			75,78	$\pm 0,65$	74,18	$\pm 0,49$	75,58	$\pm 0,68$	74,89	$\pm 0,66$	73,96	$\pm 0,95$
WP			71,84	$\pm 0,96$	72,57	$\pm 0,92$	70,19	$\pm 0,96$	72,21	$\pm 0,62$	71,96	$\pm 1,16$

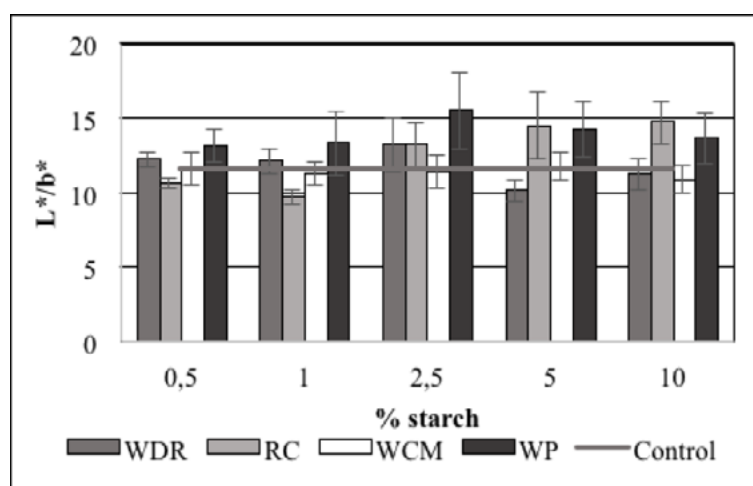


FIGURE 5. Effect of rice starch on gluten-free bread crumb colour, L/b^* , for different concentrations of starch. The values are expressed as mean \pm standard deviation of 10 replicates

EVALUACIÓN COMO ADITIVO ALIMENTARIO DEL ACEITE ESENCIAL OBTENIDO DE LAUREL AGRONÓMICAMENTE ADAPTADO EN EL PARTIDO DE AZUL, BUENOS AIRES

Estefanía Lamique¹, Gastón Barreto¹, Liliana Tanoni², Guillermo Manrique¹

1. RESUMEN

El laurel (*Laurusnobilis L.*) es una especie nativa de la región mediterránea que se cultiva en muchos países con clima templado y subtropical. Sus hojas se han utilizado como hierba medicinal ya que tienen acción farmacológica que incluye: actividad antibacteriana, antifúngica, antidiabetes y efectos antiinflamatorios. La actividad de los aceites esenciales (AEs) derivados de dicha especie depende de la composición química de los mismos, la cual se ve afectada por las características regionales de la zona de cultivo. Atendiendo a esto, se realizó la identificación del perfil de volátiles del AE obtenido mediante Cromatografía Gaseosa acoplada a Espectrometría de Masas. El análisis permitió identificar 7 compuestos mayoritarios presentes también en resultados publicados por otros autores en otras regiones. También se evaluó la actividad antioxidante en un proceso de oxidación acelerada de aceite de girasol tradicional mostrando resultados promisorios en este sentido.

2. INTRODUCCIÓN

La industria alimentaria representa uno de los rubros más importantes de la economía mundial, teniendo un rol central en el procesamiento de materias primas agrícolas y en el suministro de alimentos. Por otro lado, y en comparación con otros sectores industriales, el rubro alimentario ha sido considerado por décadas de bajo nivel de innovación, debido en parte a los limitados recursos disponibles para inves-

CONTACTO: Gastón Barreto gbarreto@fio.unicen.edu.ar

1. Facultad de Ingeniería, CIFICEN-UNCPBA-CONICET. Avda. del Valle 5737, Olavarría, Buenos Aires, Argentina.

2. Facultad de Agronomía, UNCPBA. República de Italia 780, Azul, Buenos Aires, Argentina.

tigación y desarrollo en el área (Bigliardia, 2013). Afortunadamente, en la actualidad esta realidad se va revirtiendo y paulatinamente las empresas alimentarias aplican la innovación en la creación de nuevos productos, procesos o servicios, como una estrategia esencial para sostener un alto nivel de competencia en el mercado, satisfaciendo a su vez, las expectativas del consumidor. En relación a este último aspecto, la selectividad de los consumidores por alimentos saludables ha aumentado de manera sostenida en los últimos años, consecuencia directa del conocimiento ya instalado en la sociedad actual sobre la relación entre alimentación y salud (Mollet, 2002). Así, es práctica cada vez más difundida en la población, la selección de los alimentos basada no solamente en su valor de proveer nutrientes, sino también por su capacidad de prevenir enfermedades relacionadas con la dieta y de mejorar el bienestar psicofísico (Menrad, 2003).

Los aceites esenciales (AE) son mezclas de componentes volátiles provenientes del metabolismo secundario de las plantas. La composición química de los mismos incluye hidrocarburos de la familia de los terpenos y compuestos oxigenados de bajo peso molecular, tales como alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres y ácidos, que son los que los responsables del aroma característico de cada AE (Bandoni, 2000 y Stashenko, 1998).

Numerosos estudios han demostrado la capacidad antioxidante y/o antimicrobiana de los AE y de sus fracciones, provenientes de especies vegetales aromáticas, la que está vinculada a la presencia de componentes específicos, incluyendo derivados fenólicos (Hamdani, 2014; Alves-Silva, 2013 y Mongay, 2011).

Dado que la síntesis de cada componente de los AE suele estar restringida a estados específicos del desarrollo de cada tipo de órgano de la planta, células especializadas y periodos de estrés causados por la deficiencia de nutrientes, la composición química de los mismos suele variar para una misma especie y está condicionada por las características de la región donde se desarrolla y cultiva la planta (Sellami, 2011 y Di Leo, 2009).

En el presente estudio se analizó la composición de volátiles del AE obtenido mediante hidrodestilación a partir de las hojas de laurel agronómicamente adaptado con el fin de poder comparar dicho perfil con el obtenido por otros autores en otras regiones. Por otro lado, se analizó la aplicabilidad del AE como potencial aditivo conservante capaz de proteger contra la oxidación, empleando como matriz aceite de girasol tradicional.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

ESPECIES AROMÁTICAS Y ACONDICIONAMIENTO

El laurel (*Laurus nobilis*) fue cultivado en parcelas experimentales ubicadas en el establecimiento Skúa, Paraje La Colorada, Azul, Provincia de Buenos Aires (36° 47'LS, 59°54' LW, 145 m.s.n.m). Las plantas, luego de cosechadas, se secaron a temperatura ambiente hasta peso seco constante, y luego se separaron las hojas y se envasaron en bolsas de papel. Finalmente, los materiales se almacenaron en lugar fresco y seco hasta su posterior uso.

EXTRACCIÓN DE AE

El AE se extrajo utilizando un destilador por arrastre de vapor de escala laboratorio (Figmay, Argentina), compuesto de cámara de extracción de vidrio de borosilicato de 5,6 litros de capacidad, con junta plana esmerilada y vela calefactora de cuarzo de 1500 W.

ANÁLISIS DEL PERFIL DE VOLÁTILES DE LOS ACEITES ESENCIALES

La caracterización del perfil de compuestos volátiles de los AE y sus fracciones se realizó mediante Cromatografía gaseosa acoplada a Espectrometría de masas (CG-EM). El equipo a empleado (Thermo Quest Trace modelo 2000) cuenta con una columna capilar Rtx-5MS (5 % bifenilo, 95 % polidimetilsiloxano), de 30 m de longitud, 0,32 mm de diámetro interno y 0,25 micrones de espesor de fase estacionaria) y se utilizó helio como gas portador. El detector de masas acoplado está equipado con un analizador tipo trampa de iones (Finnigan Polaris). Para la identificación se los componentes mayoritarios se analizan los espectros de masas obtenidos, complementando con la determinación de índices de retención cromatográfica empleando una serie de alcanos C8 - C24. La cuantificación porcentual relativa se llevó a cabo atendiendo a las áreas de los cromatogramas correspondientes, considerando un factor de respuesta igual en todos los casos.

ENSAYOS DE APLICACIÓN DE AE COMO ADITIVOS EN ALIMENTOS

El AE se ensayó como potencial aditivo conservantes capaz de proteger contra la oxidación, secuestrando radicales libres. En este sentido se realizó la adición del

AE 0,5 % (v/v) a un aceite vegetal comestible (aceite de girasol tradicional con alto contenido de ácido linoléico) y se sometieron las muestras a un proceso de envejecimiento acelerado en una estufa a 70 °C. Con el objetivo de evaluar el deterioro se extrajeron muestras a distintos tiempos de termostatación y se determinó acidez e índice de peróxido (IP). A los fines comparativos se evaluó, en las mismas condiciones experimentales, otra muestra pero a la cual se le adicionó un antioxidante sintético comercial, butilhidroxitolueno (BHT).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La obtención de AE derivado de laurel (hojas) agrónomicamente adaptado proveniente del establecimiento Skúa, Paraje La Colorada, Partido de Azul, Provincia de Buenos Aires presentó un rendimiento de 1,28 mL de AE/ 100 g hojas (b.s.). Otros autores han reportado rendimientos en el rango de 0,3 a 1,2 mL AE /100 g hojas, los cuales fueron dependientes del momento fenológico de la planta (Di Leo, 2009).

La caracterización de volátiles de AE obtenido de hojas de laurel mediante CG-EM permitió detectar 11 compuestos e identificar 7 de ellos (Figura 1 y Tabla 1). En la Figura 1 se presenta el cromatograma de iones totales con la separación de los compuestos derivados del AE y un estándar interno. La identificación de los compuestos se llevó a cabo mediante el análisis de los espectros de masas de los compuestos eluidos y su comparación con los presentes en una biblioteca de espectros (NIST 2002). Debido a la conocida similitud estructural entre las especies químicas, la identificación de las mismas se hace compleja y resulta de suma utilidad para este fin la determinación de los índices de retención cromatográfica de cada compuesto a temperatura programada y su comparación con los publicados en la bibliografía (Al-Kalaldehy, 2010; Sellami, 2011 y Di Leo, 2009). Así, empleando de forma complementaria la información derivada de los índices de retención y los espectros de masas, es posible realizar la caracterización de volátiles del aceite. Cabe mencionar que algunas especies no fueron identificadas (Tabla 1), debido a que se requiere de mayor información experimental para asegurar su asignación. En particular, los compuestos eluidos antes de los 4 min requieren de los datos complementarios utilizando la serie de referencia de alcanos (C6 y C8), no disponible a la fecha.

Comparando los resultados de la cuantificación relativa con datos publicados por otros autores (Tabla 1) puede observarse que los contenidos de sabineno y 1,8-cineol son comparables, mientras que los resultados difieren para los otros 5 compuestos identificados: linalool, terpinen-4-ol, α -terpineol, eugenol y metil-eugenol (Di Leo, 2009). Estas diferencias pueden ser debidas a múltiples factores, entre ellos, el momento fenológico de la planta en el cual se realizó la cosecha, la incidencia del ambiente donde se realizó el cultivo, etc. Sin embargo, cabe resaltar que los componentes mayoritarios encontrados en el presente estudio resultaron los mismos que los identificados y cuantificados en la bibliografía mencionada.

5. CONCLUSIONES

El AE obtenido a partir de hojas de laurel cultivado en el partido de Azul presentó un perfil de compuestos volátiles mayoritarios cualitativamente similar al obtenido para AE de laurel cultivado en otras regiones del país. Sin embargo, el AE objeto del presente estudio presentó diferencias cuantitativas en dicha composición, las que pueden resultar diferenciales para el mismo en cuanto a sus propiedades antioxidantes y antimicrobianas.

Por otro lado, los valores de índice de acidez e índice de peróxidos obtenidos en muestras de aceite de girasol aditivadas con AE de laurel y sometidas a una oxidación inducida térmicamente a distintos tiempos, mostraron un efecto protector del AE sobre el aceite de girasol frente a la oxidación. Este efecto queda en evidencia al comparar dichos valores con los correspondientes, obtenidos bajo las mismas condiciones experimentales, para muestras de aceite sin aditivar. En particular, los valores de índice de peróxidos reflejan dicho efecto protector, el cual resultó comparable al ejercido por el antioxidante sintético BHT en la misma matriz alimentaria.

En vista del rendimiento de AE obtenido a partir del laurel agronómicamente adaptado al partido de Azul y los resultados preliminares obtenidos en ensayos de oxidación inducida, se puede considerar a dicho AE como un potencial aditivo antioxidante de uso alimentario. Actualmente se estudia la dosis mínima necesaria para lograr el efecto antioxidante deseado en matrices alimentarias, como así también se analiza su acción antimicrobiana *in vitro*.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AL-KALALDEH JZ, Abu-Dahab R, Afifi FU. Volatile oil composition and antiproliferative activity of *Laurusnobilis*, *Origanumsyriacum*, *Origanumvulgare*, and *Salvia triloba* against human breast adenocarcinoma cells. *NutritionResearch*. 2010;30(4):271-8.
- ALVES-SILVA J. M., Dias dos Santos S. M., Pintado M. E., Pérez-Álvarez J. A., Fernández-López J., Viuda-Martos M. (2013). Chemical composition and in vitro antimicrobial, antifungal and antioxidant properties of essential oils obtained from some herbs widely used in Portugal. *Food Control*, 32, 371-378.
- BANDONI A. (2000). Los recursos vegetales aromáticos en Latinoamérica. Su aprovechamiento industrial para la producción de aromas y sabores. 1ª Ed, Editorial U. Nacional de la Plata, La Plata, 13-42.
- BIGLIARDIA B., Galatib F. (2013). Innovation trends in the food industry: The case of functional foods. *Trends Food Sci Tech*, 31, 118-129.
- DI LEO LIRA P, Retta D, Tkacik E, Ringuelet J, Coussio JD, van Baren C, *et al*. Essential oil and by-products of distillation of bayleaves (*Laurusnobilis* L.) from Argentina. *IndustrialCrops and Products*. 2009;30(2):259-64.
- HAMDANI I, Bouyanzer A., Hammouti, B., Majidi L., Costa J., Paolini J., Chetouani A. (2014). Chemical composition and antioxidant activity of essential oils of *Thymus broussonetii* Boiss. and *Thymus algeriensis* Boiss. from Morocco. *AsianPac. J. Trop. Dis.*, 4, 281-286.
- MENRAD K. (2003). Market and marketing of functional food in Europe. *J Food Eng*, 56, 181-188. *Chem*, 91, 213-219.
- MOLLET B., Rowland I. (2002). Functional foods: at the frontier between food and pharma. *CurrOpinBiotech*, 13, 483-485.
- MONGAY V., Tanoni L. y Manrique G. D. (2011). "Aceite esencial de hojas y de frutos de *Laurusnobilis* L. cultivado en Azul, Buenos Aires. Rendimiento y características físicas y químicas" XXXIV. Congreso Argentino de Horticultura. II Simposio de Aromáticas, Medicinales y Condimenticias. Ciudad de Buenos Aires. 27 al 30 de septiembre.
- SELLAMI IH, Wannes WA, Bettaieb I, Berrima S, Chahed T, Marzouk B, *et al*. Qualitative and quantitative changes in the essential oil of *Laurusnobilis* L. leaves as affected by different drying methods. *FoodChemistry*. 2011;126(2):691-7.
- STASHENKO E.E; Combariza J.; Puertas M. Aceites esenciales: Técnicas de extracción y análisis. Laboratorio de Cromatografía, UIS, 1998, 30 p.

7. TABLAS Y FIGURAS

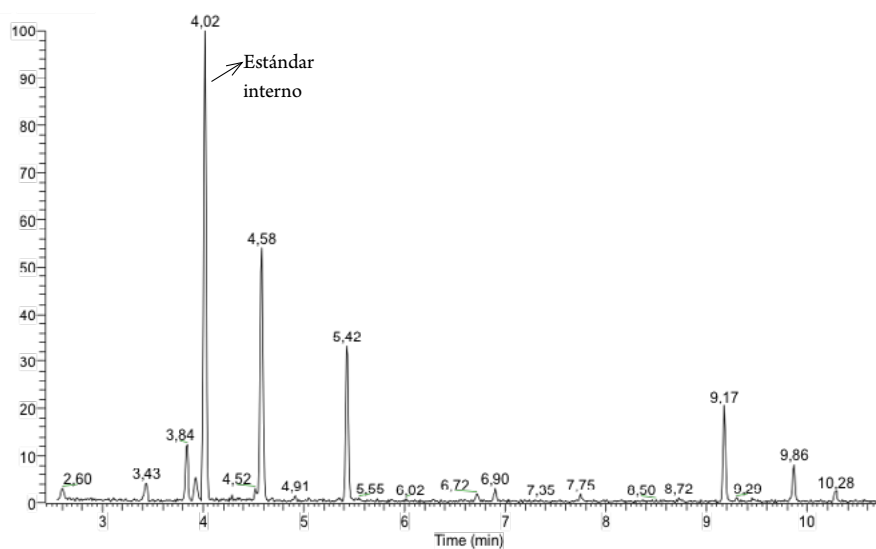


FIGURA 1. Cromatograma de iones totales correspondientes a los componentes volátiles del AE de laurel

TABLA 1. Composición relativa porcentual de volátiles identificados en AE obtenido de hojas de laurel

Compuesto	Tiempo de retención, min	Índice de retención ^a	Índice de retención tabulado. (Al-Kalaldehy, 2010; Sellami, 2011 y Di Leo, 2009)	Porcentaje relativo	Porcentaje relativo publicado (Di Leo, 2009) ^b
	2,6	-	-	1,4	-
	3,43	-	-	2,8	-
Sabineno	3,84	-	969	8,6	9,3
	3,93	-	-	3,6	-
1,8-Cineol	4,58	1036,08	1033, 1026, 1037	41,7	45,1
Linalool	5,42	1093,81	1095	21,9	11,9
Terpinen-4-ol	6,72	1183,50	1174, 1180	0,6	1,7
a-Terpineol	6,9	1195,53	1186, 1192	1,5	3,0
Eugenol	9,17	1352,59	1351, 1356	11,9	0,7
Metil-eugenol	9,86	1400,39	1403, 1409	4,4	2,8
	10,28	1433,53	-	1,4	-

^aLos índices de retención fueron determinados a partir de los tiempos de retención promedio, derivados de réplicas independientes.

^bFecha de cosecha Febrero de 2006.

TABLA 2. Variación del Índice de peróxido y acidéz en función del tiempo de termostatación a 70 °C

Tiempo, h	Sin aditivo		Con AE 0,5 %		Con BHT 0,05 %	
	Acidéz, % ác. oleico	Índice de peróxido, meq de oxígeno/ Kg aceite	Acidéz, % ác. oleico	IP, meq de oxígeno/Kg aceite	Acidéz, % ác. oleico	IP, meq de oxígeno/Kg aceite
0	0,45	1,44	0,54	2,02	0,51	2,05
16	0,56	12,93	0,54	14,48	0,55	9,85
23,16	0,61	23,77	0,61	18,81	0,54	14,68
40	0,68	32,84	0,50	25,03	0,55	25,37
63,5	0,83	48,91	0,62	29,62	0,67	34,21

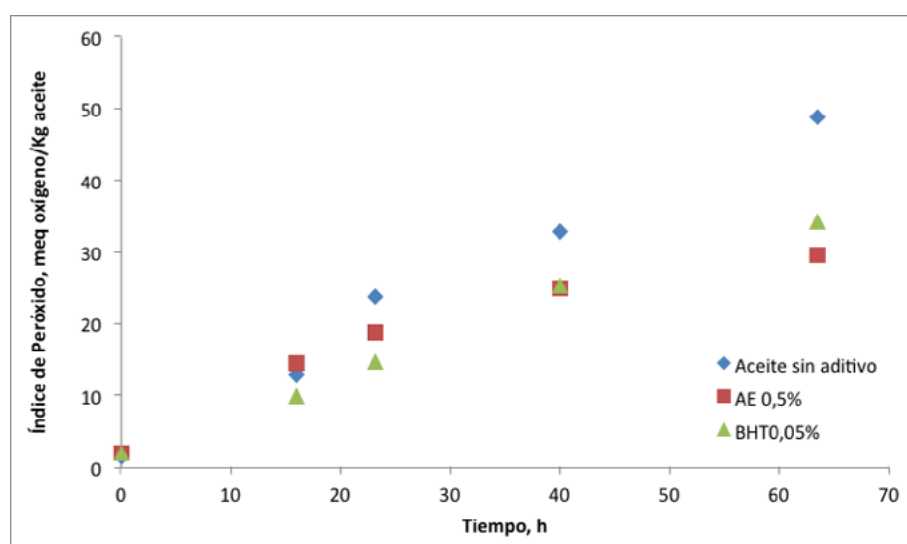


FIGURA 2. Variación del Índice de peróxido con el tiempo de termostatación a 70 °C

CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DE QUESOS SEMICOCIDOS ELABORADOS A PARTIR DE LECHE DE BÚFALA

Silvina Rebechi¹, Dante Baroni³, Nora Sabbag², Mario Candiotti¹, Carlos Meinardi¹

1. RESUMEN

La producción mundial de leche de búfala ha sido la de mayor crecimiento durante los últimos 30 años, posicionándose actualmente en el segundo lugar. Más del 90 % de la misma se produce y consume como leche y cuajadas frescas en India, Pakistán y China.

En nuestro país, la producción de leche de búfala se inició en 1992 incrementándose en forma constante. La leche bufalina resulta muy adecuada para su transformación a queso por su elevada concentración en componentes de interés caseario (grasas, proteínas y calcio coloidal). Asimismo, es importante destacar que la materia grasa aporta menos colesterol y más ácidos grasos poli-insaturados comparándola con grasa láctea bovina, lo cual permite lograr productos más saludables. En este contexto, el Instituto de Lactología Industrial desarrolló una tecnología para producir queso semicocido de leche de búfala. La materia prima (150 L/elaboración), provista por la Escuela de Agricultura, Ganadería y Granja de la UNL, fue pasteurizada a 65 °C durante 20 minutos y enfriada a 35 °C. Luego se adicionó CaCl₂, el fermento (mezcla comercial de cepas de *Streptococcus thermophilus* y *mesófilos*) y el coagulante. Cuando la cuajada alcanzó la consistencia adecuada, se la cortó obteniendo cubos de 1 cm de arista aproximadamente. El suero y la cuajada se agitaron y calentaron lentamente hasta 45 °C. Logrado el nivel de secado deseado,

CONTACTO: Silvina Rebechi srebechi@fiq.unl.edu.ar

1. Instituto de Lactología Industrial (FIQ-UNL/CONICET)

Santiago del Estero 2829. Santa Fe. Argentina.

2. Instituto de Tecnología de Alimentos (FIQ- UNL) Santiago del Estero 2829. Santa Fe. Argentina.

3. Escuela de Agricultura, Ganadería y Granja (UNL) Esperanza, Santa Fe. Argentina.

se extrajo el suero y se moldeó y prensó la cuajada. Los quesos (800 g), se salaron por inmersión en salmuera a 12 °C durante 8 h, a los 10 días se envasaron al vacío y se maduraron durante 5 meses a 12 ± 1 °C. La leche de elaboración presentó una composición media de: sólidos totales 18,22 ± 0,19 %, proteínas 5,08 ± 0,11 %, materia grasa 7,88 % ± 0,37 % y pH 6,58 ± 0,07; los sueros, sólidos totales 7,64 ± 0,21 %, proteínas 1,38 ± 0,09 %, materia grasa 1,08 % ± 0,14 % y pH 6,50 ± 0,05; los quesos, humedad 44,95 ± 0,65 %, proteínas 23,50 ± 0,15 %, materia grasa 27,50 ± 0,19 % y pH 5,42 ± 0,04. A los 30 y 150 días, los quesos se sometieron a una evaluación sensorial con un panel entrenado quienes valoraron los siguientes atributos: olor, color, textura (dureza, elasticidad, cohesividad, masticabilidad), flavor global, sabor crema, gusto (salado, amargo, ácido) y astringencia. Los resultados indicaron que durante la maduración se produjo una disminución en la elasticidad, la cohesividad, y la masticabilidad, conjuntamente con un incremento en el olor. A su vez, no se detectaron variaciones significativas en el flavor global, sabor crema, gusto (salado, amargo, ácido) y astringencia. Los quesos presentaron una pasta homogénea, sin ojos y textura comparable a los elaborados con leche bovina, contrariamente a lo que afirma la bibliografía diciendo que éstos deberían ser duros y secos. Debido a que el flavor no evolucionó a lo largo de la maduración, las estrategias futuras están orientadas para incrementar este atributo.

2. INTRODUCCIÓN

Según informes de la FAO, la población bufalina es de 180,7 millones de cabezas de las cuales más del 96,4 % se encuentra en Asia, donde, además de ser destinada a la producción de leche, también se la destina a la obtención de carne, ejerciendo así un destacado rol en la economía rural (Cruz, 2010). La leche de búfala con un 12,8 %, es la segunda más producida en el mundo después de la bovina y fue la que más creció en los últimos 30 años. El 90 % de esta leche se produce en la India, Pakistán y China y se consume como leche fluida, productos fermentados y como cuajadas frescas (Sindhu & Arora, 2011; Cruz, 2007; Almiron, 2011; Teixeira y col., 2005).

En la mayoría de los países de América Latina y el Caribe, en los últimos 30 años la cantidad de búfalos ha tenido un sostenido crecimiento, y en particular, la Argentina cuenta con 100.000 animales lo que la posiciona después de Brasil y Venezuela (Bernardes, 2007; Patiño y col., 2011; Rébak y col., 2010; Crudeli, 2011).

En general, los búfalos han tenido una muy buena adaptación a nuestro entorno, especialmente en la zona húmeda subtropical ubicada en el noreste (NEA) donde predominan terrenos anegadizos y pastos de mediana y baja calidad. Hoy, en Argentina, predominan tres razas bufalinas (Mediterránea, Murrah y Jafarabadi) que, además de ser buenas productoras de leche, se caracterizan por su longevidad, mansedumbre y alta capacidad reproductiva. Si bien presentan una constitución anatómica similar a la del bovino, se distinguen por poseer una mayor resistencia a las enfermedades y una mejor adaptabilidad a ambientes hostiles con capacidad de transformar, eficientemente en carne y leche, pasturas de mediana y baja calidad (Valdés, 2011).

Si bien el principal destino de esta especie fue el aprovechamiento de la carne, a partir de 1992, se inició la producción de leche cuya envergadura se incrementa en forma constante. (Patiño, 2004; Almiron, 2011; Romero, 2006; Irurueta y col., 2010). Los principales establecimientos lecheros se encuentran en las provincias de Formosa, Misiones, Corrientes, Santa Fe, Tucumán y Buenos Aires, siendo la mayoría de ellos tambos-industrias, con productos pocos difundidos (Patiño, 2004; Almiron, 2011).

La leche bufalina se caracteriza por su coloración blanca opaca (debido a la ausencia de β -caroteno) y su marcado sabor dulce. En comparación a la leche de vaca posee 43,81 % más de sólidos totales, 43,60 % más de materia grasa, 41,54 % más de proteínas, 2,41 % más de lactosa, 15,30 % más de cenizas, 42,86 % más de fósforo y 42,10 % más de calcio (Sindhu & Arora, 2011; Hühn y col., 1982). Análogamente, cabe destacar que la leche de búfala posee un valor nutricional extraordinario; en efecto, sus proteínas contienen un 25,5 % más de aminoácidos esenciales que la leche de vaca (Verruma y Salgado 1994), y su materia grasa posee una mayor concentración de ácidos grasos poli-insaturados (especialmente los de 4 y 5 doble enlaces) y un menor tenor de colesterol (270 frente a 330 mg por 100 gramos de materia grasa), por lo cual se puede considerar que la leche de búfala es más saludable que la de vaca (Amaral, 2005).

Desde el punto de vista tecnológico, la elevada concentración en componentes de interés caseario (grasas, proteínas y calcio coloidal), sumada al tamaño de sus micelas, hacen de la leche bufalina una excelente materia prima para la elaboración de quesos, por cuanto permite lograr productos con mayor rendimiento y mejor calidad que con leche bovina. Cabe señalar, sin embargo, que algunos autores sostie-

nen que las tecnologías de procesamiento desarrolladas en los países occidentales para la leche de vaca, no son adecuadas para la de búfala ya que se obtienen quesos con un cuerpo duro, seco y de sabor neutro (Sindhu & Arora, 2011).

No obstante, en nuestro país, la principal transformación de la leche de búfala a productos lácteos, corresponde a la elaboración de quesos artesanales pero, como ya se indicó, están escasamente difundidos (Irurueta y col., 2010; Mignaqui, 2010; Patiño y col., 2005 y 2000). A efecto de revalorizar la leche bufalina, en el Instituto de Lactología Industrial (INLAIN) se han desarrollado tecnologías para producir quesos de leches no tradicionales como, por ejemplo, queso mozzarella a partir de leche de búfala (Rebecchi y col., 2012; Sánchez, 2012). Continuando con esta línea de investigación, para el presente trabajo se planteó el desarrollo de un protocolo de elaboración de un queso de pasta semicocida de mediana humedad, elaborado con leche de búfala, evaluándose su calidad a través de los parámetros fisicoquímicos que hacen a su composición global, y sus características sensoriales.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

MATERIA PRIMA E INSUMOS

Para todas las experiencias se empleó:

Leche cruda de búfala refrigerada a 5 ± 1 °C, proveniente del plantel de búfalos que posee la Escuela de Agricultura, Ganadería y Granja (EAGyG) de la UNL.

Fermento comercial de adición directa en tina (mezcla de *Streptococcus thermophilus* y mesófilos) DIAGRAMMA S. A. Argentina.

Cloruro de calcio de grado alimenticio.

Cuajo líquido (quimosina A producida por fermentación) AGROLAC PARANÁ.

TECNOLOGÍA DE ELABORACIÓN

En la planta piloto del INLAIN se realizaron tres (3) elaboraciones utilizando en cada de ellas 150 litros de leche cruda refrigerada. A su arribo la leche fue pasteurizada a 65 °C durante 20 minutos y enfriada a 35 °C. Luego se le adicionó 0,02 % de CaCl₂ y un fermento comercial de adición directa a razón de 1g/100 L de leche con el fin de tener en la leche de elaboración una concentración de 10⁸ células de fermento por mililitro. Transcurrido el tiempo necesario para asegurar la distribución homogénea del fermento en la leche (10 minutos), se procedió a la coagulación

mediante la incorporación del cuajo líquido en la cantidad necesaria (38 ml/100 L de leche) para lizar en 20-25 minutos. Cuando la cuajada adquirió la consistencia adecuada se procedió a cortar la cuajada con lira de manera de obtener cubos de aproximadamente 1 – 1,2 cm. de lado. Seguidamente, la mezcla se agitó suavemente con pala durante 15 – 20 minutos, y luego se comenzó un lentamente calentamiento hasta alcanzar una temperatura de 45 °C. Logrado el nivel de secado deseado, se suspendió la agitación y se extrajo el suero. La cuajada se colocó en moldes y se prensó hasta que alcanzó un pH $5,6 \pm 0,1$. Los quesos, de aproximadamente 800 gramos se salaron por inmersión en salmuera a 12 °C durante 8 horas y se maduraron a 12 ± 1 °C. A los 10 días se envasaron al vacío.

ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS DE COMPOSICIÓN GLOBAL

Tanto a la leche de elaboración y como a los sueros obtenidos, se les determinaron el pH y la composición global, según metodologías normalizadas, realizándose todos los análisis por duplicado. Los valores de pH se midieron según método APHA (Bradley y col., 1993) utilizando un pHmetro Orion (Orion Research Incorporated, USA) provisto con un electrodo combinado (vidrio y calomel). El residuo seco se obtuvo por secado en estufa a 102 ± 1 °C, de acuerdo a FIL-IDF, 1987. Los valores de proteína total y materia grasa fueron estimados según Norma FIL-IDF, 1993 y ISO /IDF, 2009 respectivamente.

El seguimiento de la maduración de los quesos se hizo extrayendo muestras de los mismos a los 2, 30 y 150 días de su elaboración (FIL-IDF, 1995), sobre las que se realizaron las siguientes determinaciones: pH (Bradley y col., 1993), contenido de humedad (FIL-IDF, 1982), proteína total (FIL-IDF, 1993), materia grasa (ISO/IDF, 2008) y grado de maduración (GM), definido como la relación porcentual entre la fracción de nitrógeno soluble a pH 4,6 (Ns pH-4,6) y nitrógeno total (Nt). La valoración de Ns pH-4,6 se realizaron según Bernal y col., 2001.

ANÁLISIS SENSORIAL

Con los quesos obtenidos de las 3 elaboraciones se realizaron encuestas de aceptabilidad ya que se trata de un producto poco conocido, y así de esta manera conocer la aceptabilidad del queso para su potencial comercialización. Para ello se confeccionaron encuestas (fichas) con escalas hedónicas del 1 al 5 desde muy bueno a muy malo para cada muestra (Curso Taller de Evaluación Sensorial de Alimentos, 2009).

Estas encuestas se realizaron en tres ferias provinciales: Fecol (Esperanza), Ovi-
na (EAGyG, Esperanza) y 1° Fiesta de los lácteos y ruta de la leche (Estación Bel-
grano, Santa Fe) en la que participó la EAGyG. Con el fin de conseguir una infor-
mación orientativa sobre la aceptabilidad del producto, a los encuestados, previa
explicación de lo que iban a degustar, se les ofreció un trozo de queso con 30 a 45
días de maduración para que emitieran su opinión.

Paralelamente, a los 30 y 150 días, mediante un panel compuesto por doce eva-
luadores entrenados, se realizó un Análisis Descriptivo Cuantitativo, en el que se
valoraron los siguientes atributos: olor, color, textura (dureza, elasticidad, cohesi-
vidad, masticabilidad), flavor global, sabor crema, gusto (salado, amargo, ácido),
astringencia.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La composición media de la leche de elaboración fue la siguiente: pH $6,58 \pm 0,07$, só-
lidos totales $18,22 \pm 0,19$ %, proteínas $5,08 \pm 0,11$ % y materia grasa $7,88 \pm 0,37$ %.

Los sueros tuvieron valores de pH $6,50 \pm 0,05$, sólidos totales $7,64 \pm 0,21$ %,
proteínas $1,38 \pm 0,09$ % y materia grasa $1,08 \pm 0,14$ %.

En la Tabla 1 se presentan los valores de pH y composición global de los quesos
a los 2 (ingreso de la cámara de maduración), 30 y 150 días de maduración.

Los valores de porcentaje de humedad se encuentran comprendidos dentro de
los rangos estipulados en el Código Alimentario Argentino (CAA) para los quesos
de pasta semidura (humedad entre 36,0 y 45,9 %). De acuerdo al contenido de
materia grasa del extracto seco se trataría de quesos semigrasos (25 – 44,9 %) (AN-
MAT, 2011).

En lo que respecta a la estructura, contrariamente a lo reportado por la biblio-
grafía, mediante la tecnología empleada, se pudieron obtener quesos, con una pasta
homogénea, sin ojos y una textura comparable a los quesos semicocidos elaborados
con leche de vaca, aunque con algo menos de sabor, lo que es coincidente con lo
informado por Sindhu & Arora, 2011.

Por otro lado, el resultado obtenido en base a la encuesta de consumidores lle-
vada a cabo en las tres ferias provinciales, reveló que para los 950 participantes que
accedieron a realizar la degustación, estos quesos fueron aceptables, y más del 75 %
de los mismos, los consideró como buenos o muy buenos.

Por último, la evaluación sensorial (Análisis Descriptivo Cuantitativo), realizada los 30 y 150 días, indicó que durante la maduración se produjo una disminución en la elasticidad, la cohesividad, y la masticabilidad, conjuntamente con un incremento en el olor. A su vez, no se detectaron variaciones significativas el flavor global, el sabor crema, el gusto (salado, amargo, ácido) y la astringencia.

Por el contrario, el flavor no evolucionó a lo largo de la maduración, lo que impele a seguir buscando estrategias para revertir este punto. En la Figura 1 se puede apreciar la evolución de los distintos atributos organolépticos evaluados.

5. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este trabajo demostraron que se puede elaborar el queso semiduro de búfala con tecnologías similares a las empleadas para leche de vaca. En efecto, además de lograrse un mayor rendimiento quesero, el producto obtenido tuvo una pasta homogénea, sin ojos y textura comparable a los elaborados con leche de vaca.

El queso con 30 - 45 días de maduración tuvo buena aceptación de los consumidores, y el análisis sensorial reveló que no se detectaron variaciones significativas en el flavor global, sabor crema, gusto (salado, amargo, ácido) y astringencia, entre los 30 y 150 días de maduración. Sin embargo, debido que durante este tiempo el flavor no evolucionó, se proyectan nuevas estrategias orientadas a incrementar este atributo.

No obstante, teniendo en cuenta que a los 30 - 45 días de maduración el queso contó con la aprobación de los consumidores, resulta sumamente interesante continuar trabajando en su caracterización, a fin de poder transferir la tecnología al sector socio-productivo, ampliando las alternativas que se presentan y potenciando el desarrollo de economías regionales. Dado que, como ya se mencionó, en nuestro país el uso de la leche de búfalo no tiene antecedentes, indudablemente esta transferencia constituirá un valioso aporte al sector productivo. Luego, el crecimiento de la industria lechera bufalina dependerá en gran medida de los mercados que puedan crearse en base a la calidad de los productos lácteos que se desarrollen, los cuales deberán responder a las exigencia de los consumidores y a la investigación que respalde a esta nueva rama de la industria láctea.

AGRADECIMIENTOS

Al panel de evaluación sensorial del Instituto de Tecnología de los Alimentos (ITA) Facultad de Ingeniería Química (UNL).

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMIRON, L.R. (2011). Aportes para el posicionamiento de la leche bubalina. (pp. 207-229). En: Bubalinocultura de las Américas. Patiño, E.M.; Crudeli, G.A.; Valdés, A.M.; Simplicio de Oliveira, J.F.; Gusmão Couto, A.; Jacobo, R.A.; Lopez, O.C.; Sanchez Negrette, M.; Rebak, G.I. Ed. Moglia SRL, Corrientes, Argentina.
- ANMAT (2011). Código Alimentario Argentino. Cap. VIII: Alimentos Lácteos. Actualizado a Junio de 2011. http://www.anmat.gov.ar/alimentos/codigoa/CAPITULO_VIII.pdf
- AMARAL, F.R.; Carvalho, L.B.; Da Silva, N.; Feitosa Brito, J.R. (2005). Qualidade do leite de búfalos: composição. *Revista Brasileira Reproducción Animal*. 29, (2): 106-110.
- BERNAL, S.; Palma, S.; Hynes, E.; Perotti, M. (2001) Determinación de fracciones nitrogenadas para el seguimiento de la maduración de quesos. *Revista Argentina de Lactología*, 20, 9-18.
- BERNARDES, O. (2007). Buffaloes breeding in Brasil. *Italian Journal Animal Science*. 6,(2): 162-167.
- BRADLEY R.L., Arnold E., Barbano D.M., Semerad R.G., Smith D.E. and Vines B.K. (1993). Standard methods for the examination of Dairy product (Ed.: Marshall, R.) American Public Health Association (APHA), Washington, USA, pág. 433 – 531
- CRUDELI, G.A. (2011). Fisiología reproductiva e inseminación artificial en la Búfala. (pp. 91-108). En: Bubalinocultura de las Américas. Patiño, E.M.; Crudeli, G.A.; Valdés, A.M.; Simplicio de Oliveira, J.F.; Gusmão Couto, A.; Jacobo, R.A.; Lopez, O.C.; Sanchez Negrette, M.; Rebak, G.I. Ed. Moglia SRL, Corrientes, Argentina.
- CRUZ, L.C. (2007). Trends in buffalo production in Asia. *Italian Journal Animal Science*. 6, (2): 9-24.
- CRUZ, L.C. (2010). Recent Developments in the Buffalo Industry of Asia. *Revista Veterinaria*. 21, (1): 7-19.
- CURSO Taller de Evaluación Sensorial de Alimentos. Instituto de Lactología Industrial 8 y 9 de Septiembre de 2009.
- FECOL FERIA de las Colonias 22 al 23 de Setiembre de 2012 Predio Ferial, Esperanza
- FIL-IDF 21B (1987) Milk, cream and evaporated milk. Determination of total solids content. (Reference method) International Dairy Federation, Bruselas, Bélgica

- FIL-IDF (1993) Latte. Determinazione del tenore in azoto. Metodo di riferimento. N° 20:B. International Dairy Federation, Bruselas, Bélgica, pág. 74 – 107
- FIL-IDF (1982) Formaggio e formaggio fuso. Determinazione della materia seca. Metodo di riferimento N° 4:A. International Dairy Federation, Bruselas, Bélgica, pág. 184 – 188
- FIL-IDF (1995) Milk and milk products. Methods of sampling. Standard 50C. International Dairy Federation, Bruselas, Bélgica.
- HÜHN, S.; Freitas Guimarães, M.C.; Barbosa do Nascimento, C.N.; Danin de Moura Carvalho, L.O.; Dias Moreira, E.; Brito Lourenço Junior, J. (1982). Estudo comparativo da composição química do leite de zebuinos e bubalinos. Boletim de pesquisa N°36. Embrapa, Centro de Pesquisa Agropecuaria do Trópico Úmido, Belem PA.
- IRURUETA, M., Cadoppi, A., Langman, L., Grigoni, G. y Carduza, F. (2010) Effect of Aging on Meat Characteristics from Water buffalo Grown in Delta del Paraná in Argentina. Memorias del IX World Buffalo Congress. Buenos Aires, Argentina. *Revista Veterinaria*, 21, (1): 503-507.
- ISO 11870/IDF 152 (2009) Milk and milk products. Determination of fat content. General guidance for the use of butyrometric methods. Geneva, Switzerland.
- ISO 3433/IDF 222 (2008) Cheese. Determination of the fat content Van Gulik method. Geneva, Switzerland.
- MIGNAQUY, E. T. 2010 - IX Congreso Mundial de Búfalos – BOLETÍN BUBALINO. Ministerio de agricultura, ganadería y pesca. Presidencia de la Nación. Argentina.
- PATIÑO, E. M.; Jacobo R. A.; Mendez, F.I.; Giorgi, E.J.; Cipolini, F.M.; Stamatti, G.M. y Guanziroli Stefani, M. C. 2000. Composición de Leche Bubalina (*Bubalus bubalis*) Obtenida en un Tambo de Corrientes (Argentina). *Rev. Argentina de Lactología* N° 19.
- PATIÑO, E.M. (2004). Factores que afectan las propiedades físicas y la composición química de la leche de búfalas (*Bubalus bubalis*) en Corrientes, Argentina. *Revista Veterinaria*. 15, (1): 21-25.
- PATIÑO, E. M.; Faisal, E.L.; Mendez, F.I.; Cedres, J .F. (2005). Queso de campo artesanal de leche de búfala. *Tecnología Láctea Latinoamericana* 35, 51-53
- PATIÑO, E.M.; Crudeli, G.A.; Mitat Valdés, A. (2011). El búfalo en América. (pp. 21-33). En: *Bubalinocultura de las Américas*. Simplicio de Oliveira, J.F.; Gusmão Couto, A.; Jacobo, R.A.; Lopez, O.C.; Sanchez Negrette, M.; Almirón, L.R.; Rebak, G.I.. Ed. Moglia SRL, Corrientes, Argentina.
- RÉBAK, G.; Capellari, A.; Ynsaurralde Rivolta, A.; Alarcón, A. (2010). Exploratory study of ultrasound on properties of meat in buffaloes in the northeast of Argentina. *Revista Veterinaria*. 21, (1): 512-514.

- REBECHI, S.; Sanchez, R.; Deseta, L. y Meinardi, C. Desarrollo de un protocolo para la elaboración regional de Mozzarella de Búfala. Trabajo completo publicado en acta del Congreso Latinoamericano de Ingeniería y Ciencias Aplicadas (CLICAP). 28 al 30 de marzo 2012. San Rafael. Mendoza. Argentina. ISBN 978-897-575-106-4.
- ROMERO, F. (2006) Situación del Búfalo en Argentina. Memorias del III Simposio Búfalos de las Américas. Medellín. pp. 35-38.
- SANCHEZ, Ramiro (2012) Mozzarella de Búfala: una Contribución a las Economías Regionales XVI Encuentro de Jóvenes Investigadores de la UNL. 18 y 19 de Setiembre de 2012 Santa Fe. Argentina
- SIMPLICIO DE OLIVEIRA, J.F. (2011). Crianza y manejo de búfalas. En: Bubalinocultura de las Américas Patiño, E.M.; Crudeli, G.A.; Mitat Valdés, A.; J.F.; Gusmão Couto, A.; Jacobo, R.A.; Lopez, O.C.; Sanchez Negrette, M.; Almirón, L.R.; Rebak, G.I. Ed. Moglia SRL, Corrientes, Argentina.
- SINDHU, J. and Arora, S. 2011 Buffalo Milk. En Encyclopedia of Dairy Sciences. Fuquay John W., Fox, Patrick F., McSweeney Paul L.H. Ed. Academic Press, San Diego, United States. ISBN: 978-0-12-374407-4, Electronic ISBN: 978-0-12-374407-4, pp. 503-511.
- TEIXEIRA, L.; Bastianetto, E. ; Oliveira, D. (2005). Leite de búfala na indústria de produtos lácteos. *Revista Brasileira Reproducción Animal*. 29, (2): 96-100.
- VALDÉS, A.M. (2011). Biodiversidad Bubalina. (pp. 35-40). En: Bubalinocultura de las Américas. Patiño, E.M.; Crudeli, G.A.; Simplicio de Oliveira, J.F.; Gusmão Couto, A.; Jacobo, R.A.; Lopez, O.C.; Sanchez Negrette, M.; Almirón, L.R.; Rebak, G.I. Ed. Moglia SRL, Corrientes, Argentina.
- VERRUMA, M.R.; Salgado, J.M. (1994). Análise química do leite de Búfala em comparação ao leite de vaca. *Scientia Agricola*. 51, (1): 131-137.

7. TABLAS Y FIGURAS

TABLA 1. Valores determinados en los quesos a la entrada de la cámara, a los 30 y a los 150 días de maduración

Tiempo de maduración	pH	Humedad (%)	Materia Grasa (% base húmeda)	Proteína Total (%)	Ns a pH 4,6	GM
2 días	5,42 ± 0,04	44,95 ± 0,65	27,50 ± 0,19	23,50± 0,15	0,18 ± 0,03	5,5 ± 0,17
30 días	5,48 ± 0,07	39,80 ± 0,40	28,80 ± 0,40	22,49±0,39	0,24 ± 0,01	6,7 ± 0,09
150 días	5,51 ± 0,02	39,66 ± 0,08	27,95 ± 0,36	22,93 ± 0,39	0,25 ± 0,04	7,0 ± 0,11

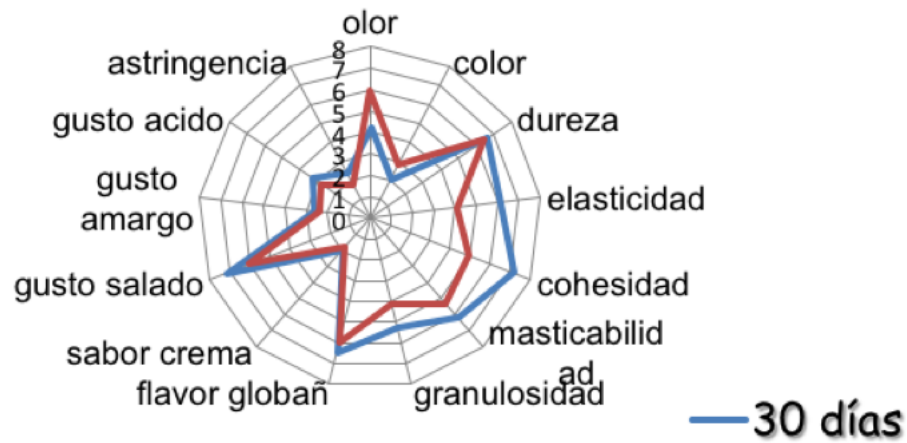


FIGURA 1. Evaluación sensorial (Análisis Descriptivo Cuantitativo) promedio de doce evaluadores entrenados que evaluaron: olor, color, textura (dureza, elasticidad, cohesividad, masticabilidad), flavor global, sabor crema, gusto (salado, amargo, ácido), astringencia a los 30 y 150 días de maduración

PRODUCCIÓN DE QUESO FRESCO DE PASTA HILADA A PARTIR DE LECHE DE BÚFALA

Silvina Rebechi¹, Nora Sabbag², Mario Candiotti¹, Carlos Meinardi¹

1. RESUMEN

Las condiciones climáticas y ambientales del nordeste argentino han propiciado la difusión del ganado bufalino, de mayor resistencia a estos factores que el ganado bovino. Con el objetivo de incrementar la rentabilidad del sector, la Escuela de Agricultura, Ganadería y Granja de la UNL ha adaptado un rebaño de ocho búfalas provenientes de estas zonas a la producción de leche y en la planta piloto del Instituto de Lactología Industrial (INLAIN) se desarrolló un queso fresco de pasta hilada con características similares a la mozzarella italiana.

En cada elaboración se usaron 120 L de leche cruda provenientes del ordeño de dos días y refrigerada a 6 °C. La leche se pasteurizó a 65 °C durante 20 minutos y se ajustó la temperatura a 40 °C. Como fermento se usó una cepa comercial de *Streptococcus thermophilus* de adición directa a tina y la coagulación se llevó a cabo con una renina producida por fermentación. Una vez que la cuajada adquirió la consistencia adecuada se procedió al lirado obteniendo cubos de aproximadamente 2 cm. de lado. Cuando el suero cubrió la superficie de la cuajada, se agitó suavemente con pala durante tres ciclos espaciados por 10 minutos. La cuajada se mantuvo en reposo bajo suero hasta que alcanzó un pH de 5,45. Se extrajo el suero y se colocó la cuajada en la mesa de moldeo continuando la acidificación hasta pH 4,95. En este valor, la capacidad de hilado fue la adecuada; se cortó la cuajada en láminas de unos 0,5 cm. de espesor y los trozos se sumergieron a 85 °C. Luego se procedió al hilado de la pasta y al formado manual de hormas. Cada horma (250 - 300 g.) se sumergió en salmuera fría

CONTACTO: Silvina Rebechi srebechi@fiq.unl.edu.ar

1. Instituto de Lactología Industrial FIQ-UNL-CONICET.
Santiago del Estero 2829. Santa Fe (Argentina).

2. Instituto de Tecnología de Alimentos, FIQ- UNL. Santiago del Estero 2829. Santa Fe (Argentina).

(2,5 % de ClNa p/v, 4 - 6 °C) durante 24 horas. Finalmente se las escurrió y se las envasó al vacío. Luego de 48 horas de la elaboración, el pH de la mozzarella fue de $5,50 \pm 0,05$, la humedad $47,63 \pm 0,59$, las proteínas totales $42,91 \pm 0,29$ % y la materia grasa $50,51 \pm 0,49$ % ambos valores expresados en base seca. La relación proteína/grasa fue de 0,862, sensiblemente mayor a los 0,684 que posee *Mozzarella de búfala Campana*, queso italiano con Denominación de Origen Controlado.

Una encuesta de aceptabilidad, en la que participaron entre 100 y 150 personas, con una escala hedónica de 9 puntos, con distintos grado de gusto se realizó semanalmente. Los resultados mostraron una aceptabilidad positiva del 91 % a la primer semana, del 98 % en la segunda que luego cayó al 95 % a los 28 días. Estos ensayos demuestran la factibilidad de la elaboración de un queso no tradicional, con menor tenor de materia grasa que la mozzarella italiana, que podría ser el motivo de pequeños emprendimientos productivos.

2. INTRODUCCIÓN

Los quesos de pasta hilada se distinguen por la estructura de su pasta que deriva de una tecnología de producción especial. La característica más distintiva de esta tecnología es la etapa de hilado que consiste en el amasado de una cuajada acidificada sumergida en agua muy caliente. La mayoría de los quesos de pasta hilada han tenido su origen en Italia, entre los más representativos se pueden citar el provolone, la provoleta, el cacciocavallo, la scamorza y la mozzarella. Este último, el más popular de estos productos, difiere de los anteriores fundamentalmente en su mayor contenido de humedad, lo que la hace más perecedera y por lo tanto de rápido consumo (Citro, 1981).

Si bien los orígenes de la mozzarella se remontan al siglo VII, cuando se introduce el ganado bufalino en el sur de Italia, recién en el año 1979 se le da el reconocimiento de queso típico y en el año 1993 adquiere, bajo el nombre de *Mozzarella de búfala campana*, la categoría producto con denominación de origen (DOC 10/05/93). En su elaboración se utiliza leche de búfala cruda proveniente de las regiones de Campania y Lazio, fermento natural (cizza) y coagulante de ternero. El hilado de la cuajada se realiza manualmente con formas muy originales como trenzas y cintas. Es de pasta blanca, mantecosa, dulce y se la utiliza en la elaboración de platos fríos (Zicarelli L., 2001).

La Argentina posee la tercera población bufalina de América del Sur que se distribuye principalmente en el noreste argentino (NEA) (Mignaqui, 2010). En esta región, el principal destino que se le da a esta especie es el aprovechamiento de su carne, por lo que la leche de búfala está muy poco difundida en nuestro país, pero en términos de producción mundial constituye más del 12 %, ocupando así el segundo lugar, seguida por la ovina y la caprina (Sindhu & Arora, 2011; Patiño y col., 2005 y 2002). La misma se caracteriza por tener un importante valor nutritivo ya que posee una mayor concentración de materia grasa y de proteínas cuando se compara con la leche de vaca. Desde el punto de vista tecnológico es una materia prima excelente para preparar derivados lácteos, alcanzando rendimientos óptimos en la elaboración de los mismos. (Sindhu & Arora, 2011; Hühn y col., 1982).

En nuestro país donde la comercialización de leche de búfala es prácticamente inexistente se utiliza el término mozzarella para los quesos de pasta hilada elaborados con leche bovina que en su mayoría se destina a la elaboración de pizzas y comidas gratinadas. Las características de estos quesos está reglamentadas por el Art. N° 618 del Código Alimentario Argentino (CAA) (ANMAT, 2011) que define con el nombre de Queso Mozzarella al queso que se obtiene por hilado de una masa acidificada (producto intermedio obtenido por coagulación de la leche por medio de cuajo y/u otras enzimas coagulantes apropiadas), complementada o no por la acción de bacterias lácticas específicas. Se lo presenta en barras o cilindros de 4 a 6 kg de peso y debe satisfacer las exigencias requeridas por las pizzerías que es su principal destino.

La Escuela de Agricultura, Ganadería y Granja (EAGyG) de la Universidad Nacional del Litoral (UNL), con el fin de incrementar la productividad, ha adaptado un plantel de búfalas provenientes del NEA a la producción de leche. Partiendo de la disponibilidad de dicha materia prima, en el presente trabajo se planteó el desarrollo de un protocolo de elaboración regional de mozzarella de búfala, producto poco difundido en Argentina, como así también caracterizar el producto obtenido mediante su composición global y evaluar su aceptabilidad en el mercado de consumo.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

MATERIA PRIMA

Leche cruda y refrigerada a 6 ± 2 °C provenientes del ordeño de dos días del plantel de búfalas ubicado en la EAGyG de la UNL, situada en la ciudad de Esperanza, provincia de Santa Fe.

Como fermento se utilizó un cultivo liofilizado de inoculación directa en tina constituido de cepas de *Streptococcus thermophilus* (ST-B01, Chr. Hansen, Argentina).

Para la coagulación se empleó una quimosina producida por fermentación líquida (Chymax, Chr. Hansen, Argentina).

TECNOLOGÍA DE ELABORACIÓN

Se realizaron tres elaboraciones en la planta piloto del Instituto de Lactología Industrial (INLAIN – UNL / CONICET). En cada una de ellas se utilizaron 120 L de leche fluida refrigerada. A su llegada a la planta, la leche se pasteurizó en la tina de elaboración a 65 °C durante 20 minutos. Finalizada la misma se enfrió a 40 °C, se adicionó el fermento en una cantidad superior al 20 %, dosis aconsejada por el proveedor cuando se procesa leche bovina. Luego de 10 minutos se agregó la cantidad necesaria de cuajo (38 ml/100 l de leche) a fin de producir la coagulación en 10 ± 1 minutos y lograr la consistencia de lirado en 25 ± 5 minutos. Adquirida la consistencia adecuada la cuajada se trozó con una lira de manera de obtener trozos grandes (cubos de más de 2 cm arista). Cuando el suero cubrió la superficie se agitó la cuajada suavemente con pala de madera en tres períodos espaciadas por 10 minutos, de manera de facilitar el desuerado e incrementar la consistencia del coagulo sin reducir demasiado el tamaño del grano de cuajada (figuras 1 y 2). Luego se dejó en reposo bajo suero. No se actuó sobre la temperatura, la misma que evolucionó libremente se mantuvo cercana a los 40 °C.

Cuando el pH alcanzó un valor de $5,45 \pm 0,05$ se extrajo el suero y la cuajada se colocó sobre la mesa de moldeo para que continúe su acidificación (Figura 3). La misma se presentó como una cuajada húmeda, blanda y su aroma (producto de la actividad de las bacterias lácteas del fermento) se percibió suave y agradable.

Cuando el pH llegó a 4,90 - 4,95 se comprobó a través de una prueba empírica que la capacidad de hilado era la adecuada. La misma consistió en sumergir un trozo de cuajada en agua a 85 °C, amasarla suavemente, extraerla y se estirarla. Si

se forma un hilo fino o una superficie sutil y homogénea la cuajada está en condiciones para hilarse.

A continuación la cuajada se cortó en láminas de aproximadamente 0,5 cm de espesor (Figura 4) y se sumergieron en agua caliente a 85 °C y con la pala se agitaron suavemente para unificar y estirar de manera de obtener una masa texturizada y elástica (Figura 5).

Cuando la cuajada tomo las características adecuadas se procedió al formado de las hormas de manera manual, para ello se tomó una porción de la masa con la mano y se le dio la forma oval y posteriormente se cortó con la presión de los dedos (Figura 6). Las mismas presentaron una superficie lisa, suave y brillante (Figura 7). Cada horma de unos 250 - 300 gramos de peso se sumergieron en salmuera (2,5 % de ClNa p/v) fría con agregado de hielo (4 - 6 °C) durante 24 horas (Figura 8).

Finalmente las hormas de mozzarella se escurrieron, se envasaron al vacío y se conservaron a 4 ± 1 °C para realizar las determinaciones analíticas, estimar su vida útil y evaluar su aceptabilidad.

MUESTREO Y ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS

En cada elaboración se tomaron una muestra de leche cruda y muestras de queso mozzarella. A la leche de elaboración y a los quesos se les efectuaron por duplicado los análisis físicoquímicos de composición global y pH.

El muestreo de los quesos se realizó a las 48 horas de su elaboración según norma de la Federación Internacional de Lechería (FIL-IDF, 1995).

El pH se efectuó según método APHA (Bradley y col., 1993). El contenido de humedad, residuo seco y proteínas se determinaron según metodologías normalizadas de la Federación Internacional de Lechería (FIL-IDF 1982, 1987 y 1993 respectivamente). El contenido de materia grasa de la leche se determinó según metodología normalizada (ISO/IDF, 2009) y el de los quesos según el método de Gerber-van Gulik (ISO/IDF, 2008).

ENCUESTA DE ACEPTABILIDAD

Con las mozzarellas obtenidas de las 3 elaboraciones se planteó la posibilidad de realizar una encuesta de aceptabilidad ya que se trata de un producto poco conocido, y así de esta manera conocer la aceptabilidad del queso para su potencial comercialización.

Para ello se confeccionaron encuestas (fichas) que presentan escalas hedónicas del 1 al 9 desde muy bueno a muy malo para cada muestra.

Estas encuestas se realizaron con grupos reducidos los que consistían en personas no entrenadas (consumidores frecuentes de quesos y otros productos lácteos), con el fin de conseguir una información orientativa sobre la aceptabilidad del producto (Curso Taller de Evaluación Sensorial de Alimentos, 2009).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se presentan los valores promedio obtenidos para los parámetros de composición global y pH de la leche cruda y en la Tabla 2 los valores obtenidos para las muestras de queso mozzarella.

Los valores de composición de la leche de búfala son coincidentes con los reportados en bibliografía por otros autores en nuestro país (Patiño, 2009; Patiño y col., 2000).

La leche mostró buenas características a la coagulación y a la sinéresis, lo que la haría idónea para la producción de quesos.

Comparada con la bibliografía surge que el pH es ligeramente menor que el reportado por Tripaldi y col., 2002 y coincidente con Matassino y col., 1991. El contenido de materia grasa fue sensiblemente inferior al de las leches italianas que oscila alrededor del 6,7 al 8,2 % (Zicarelli, 2004).

El pH de hilado fue 4,95, coincidente con Zicarelli, L. 2004 y considerablemente menor al de la leche bovina.

A las 48 horas los valores de humedad y materia grasa en el extracto seco de las mozzarellas oscilaron entre 47 y 49 % y 49 % y 50 % respectivamente. Estos parámetros se encuentran comprendidos en los valores dado por el CAA para el queso mozzarella (humedad máx 60 % y materia grasa en extracto seco mín 35 %) (ANMAT, 2011).

La relación proteína/grasa de las mozzarella elaborada en la planta piloto del IN-LAIN es de 0,862, mientras que la relación de la *Mozzarella de búfala Campana* es 0,684 (Ministerio de Políticas Agrícolas, Alimentarias y Forestales de Italia, 2010).

El resultado de la prueba de aceptabilidad sobre un total de 150 personas encuestadas indicó que el 91 % de los evaluadores aceptaron positivamente la mozzarella en la primer semana de su elaboración, incrementándose este resultado positivo al 98 % en la segunda semana. A los 28 días la aceptabilidad disminuyó al 95 %.

5. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este trabajo demuestran la factibilidad de transformar la leche de búfala en un producto no tradicional de alto valor agregado. Además se puede destacar que la mozzarella obtenida tiene menor tenor de materia grasa que la mozzarella italiana.

Si bien nuestro país prácticamente no tiene antecedentes en el uso de este tipo de leche, la elaboración del queso mozzarella a partir de leche de búfala beneficia a las producciones regionales ya que con la industrialización de la leche se presenta una fuente alternativa de recursos económicos más allá del tradicional aprovechamiento de la carne.

Además debido a que la aceptabilidad se comprobó que es buena a los 30 días se puede sugerir su elaboración en la zona de producción y su traslado refrigerado a los centros de consumo.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANMAT (2011). Código Alimentario Argentino. Cap. VIII: Alimentos Lácteos. Actualizado a Junio de 2011. http://www.anmat.gov.ar/alimentos/codigoa/CAPITULO_VIII.pdf
- BRADLEY R.L., Arnold E., Barbano D.M., Semerad R.G., Smith D.E. and Vines B.K. (1993). Standard methods for the examination of Dairy product (Ed.: Marshall, R.) American Public Health Association (APHA), Washington, USA, pág. 433 – 531
- CITRO, V. (1981). Dal latte di bufala un tipico prodotto locale “ La mozzarella”. Sci. Tec. Latt.-cas., 32, 263-270.
- FIL-IDF (1982) Formaggio e formaggio fuso. Determinazione della materia secca. Metodo di riferimento N° 4:A. International Dairy Federation, Bruselas, Bélgica, pág. 184 – 188
- FIL-IDF (1993) Latte. Determinazione del tenore in azoto. Metodo di riferimento. N° 20:B. International Dairy Federation, Bruselas, Bélgica, pág. 74 – 107.
- HÜHN, S.; Freitas Guimarães, M.C.; Barbosa do Nascimento, C.N.; Danin de Moura Carvalho, L.O.; Dias Moreira, E.; Brito Lourenço Junior, J. (1982). Estudo comparativo da composição química do leite de zebuinos e bubalinos. Boletim de pesquisa N°36. Embrapa, Centro de Pesquisa Agropecuaria do Trópico Úmido, Belem PA.
- ISO 3433/IDF 222 (2008) Cheese. Determination of the fat content Van Gulik method. Geneva, Switzerland.

- ISO 11870/IDF 152 (2009) Milk and milk products. Determination of fat content. General guidance for the use of the method Butyrometer
- MATASSINO, D.; Grasso, F.; Zullo, A.; Giorgio, G.; Salati-Iannitti, E.. (1991).Alcuni fattori influenzanti l'attitudine alla caseificazione del latte di bufala. *Prod.Anim.* 4, 1-25.
- MIGNAQUY, E. T. 2010 - IX Congreso Mundial de Búfalos – BOLETÍN BUBALINO. Ministerio de agricultura, ganadería y pesca. Presidencia de la Nación. Argentina.
- MINISTERIO DE POLÍTICAS AGRÍCOLAS, Alimentarias y Forestales de Italia (2010). Mozzarella di Búfala Campana DOP
- PATIÑO, E.M; Faisal, E.L.; Mendez, F.I; Cedres, J.F.; Gomez, L.G.; Guanziroli Stefani, M.C. 2002. Composición de Leche de Búfala de Raza Murrah y Mestiza Murrah x Mediterránea en Corrientes. Comunicación Personal. II Simposio de Búfalos del MERCOSUR. Corrientes, Argentina. URL http://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/razas_de_bufalos/37-leche.pdf
- PATIÑO, E. M; Faisal, E.L.; Mendez, F.I; Cedres, J .F. (2005). Queso de campo artesanal de leche de búfala. *Tecnología Láctea Latinoamericana* 35, 51-53
- TRIPALDI, C;; Terrmoccia, S.; Bartocci, S.. (2002). Attitudine del latte di bufala alla coagulazione presamica. *Sci. Tec. Latt.-cas.*, 53, 45-52.
- ZICARELLI, L. (2001). La bufala mediterranea italiana: esempio di una razza autóctona in exoancione. *Sci. Tec. Latt.-cas.*, 52, 279-284.
- ZICARELLI, L.. (2004). Il latte di bufala: caratteristiche, resa al caseificio e produzione di mozzarella. *Sci. Tec. Latt.-cas.*, 55, 167-178.

7. TABLAS Y FIGURAS

TABLA 1. Composición de la leche de búfala empleada en cada elaboración

Leche cruda			
	1° elaboración	2° elaboración	3° elaboración
pH	6,50 ± 0,02	6,70 ± 0,04	6,60 ± 0,00
Residuo seco (%)	14,80 ± 0,65	15,19 ± 0,11	15,25 ± 0,05
Proteínas totales (%)	4,54 ± 0,41	4,59 ± 0,08	4,89 ± 0,03
Materia grasa (%)	4,75 ± 0,02	5,10 ± 0,02	5,40 ± 0,03

TABLA 2. Composición global de la mozzarellas obtenidas en cada elaboración

Queso Mozzarella			
	1° elaboración	2° elaboración	3° elaboración
pH	5,68 ± 0,04	5,50 ± 0,00	5,48 ± 0,04
Humedad (%)	47,06 ± 0,10	47,63 ± 0,59	49,27 ± 0,04
Proteínas totales (% p/p seco)	43,38 ± 0,81	42,91 ± 0,29	43,33 ± 0,76
Materia grasa (% p/p seco)	49,97 ± 0,08	50,51 ± 0,49	49,84 ± 0,37
Relación Proteína/ Materia grasa	0,868	0,849	0,869



FIGURA 1. vista de la cuajada al realizarse la primera agitación



FIGURA 2. Aspecto de la cuajada al finalizar la primer agitación



FIGURA 3. cuajada acidificando sobre la mesa de moldeo



FIGURA 4: trozado de la cuajada previo al hilado



FIGURA 5: Etapa de hilado de la cuajada en agua caliente



FIGURA 6: Formación de la horma de mozzarella



FIGURA 7: vista de una horma de mozzarella formada manualmente

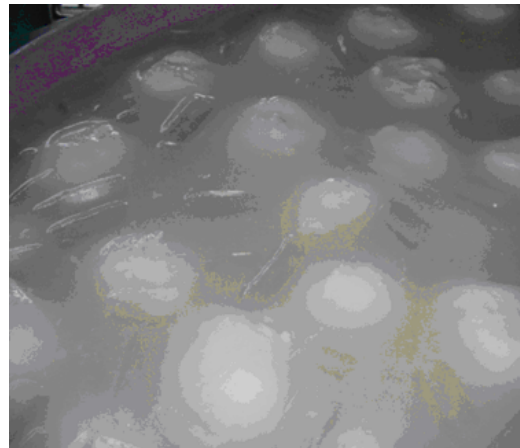


FIGURA 8: hormas de mozzarella en salmuera

CARACTERIZACIÓN SENSORIAL DE UN MEDALLÓN FUNCIONAL DE CARNE AVIAR REDUCIDO EN SODIO

María Beatriz Gómez¹, Rosa Ana Ábalos¹, María Brossard¹, Silvana Correa¹, Virginia Boari¹, María Clara Melchiori¹, Claudia Gallinger², Corina Bernigaud², Jorge Azcona³, Bernardo Iglesias³

1. RESUMEN

El creciente interés por la alimentación saludable ha dado lugar a la aparición en el mercado de una nueva gama de alimentos y productos que, además de nutrir, mejoran la salud incrementando el bienestar y disminuyen el riesgo de contraer enfermedades; a los que genéricamente se denomina como alimentos funcionales. Los objetivos del trabajo fueron formular un medallón de carne de pollo enriquecida en ácidos grasos $\omega 3$, adicionado de salvado de avena, de bajo contenido de sodio aplicando la cocción *sous-vide* y evaluar su aceptabilidad y características sensoriales. Para lograr el aumento en el contenido de ácidos grasos $\omega 3$ en la carne, los pollos parrilleros empleados, divididos en 3 grupos, fueron alimentados diferencialmente con una *dieta control* de maíz-soja; una *dieta enriquecida* maíz- soja- aceite de lino ($\omega 3$ /lino); y una *dieta enriquecida de maíz-soja-aceite de pescado - aceite de lino* ($\omega 3$ /pescado), respectivamente. El diseño incorporó ajo en polvo y en escamas para lograr un producto reducido en sodio y de sabor aceptable. Cada medallón fue empaquetado y sellado en una envasadora a vacío (VACUUM PACKING 80060/80080), en bolsas de polietileno marca Cryovac (100 micrones). El método de cocción *sous-vide* se efectuó en baño con regulación de temperatura y tiempo de circulación constante de agua (RONER COMPACT 80060/80080), cuya combinación temperatura/tiempo fue de 80 °C y 10 minutos. Luego se refrigeró a 0 °C. Las características sensoriales fueron evaluadas por un grupo de 50 consumidores mediante las prueba de aceptabilidad y preguntas

CONTACTO: María Beatriz Gómez bgomez@fb.uner.edu.ar

1. Facultad de Bromatología, Universidad Nacional de Entre Ríos.

2. Estación Experimental de INTA, Concepción del Uruguay.

3. Estación Experimental de INTA, Pergamino.

CATA (check-all-that-apply). Con la finalidad de obtener un mapa sensorial de las muestras y determinar las relaciones entre términos y muestras se utilizó el Análisis de Correspondencia (CA) mediante el programa R. Al observar el mapa sensorial de las muestras se puede ver que el medallón ω 3/lino y ajo en escamas y el medallón ω 3/lino y ajo en polvo fueron percibidos como “secos, demasiado condimentados y crocantes por fuera”; el medallón ω 3/pescado y ajo en escamas y el medallón ω 3/pescado y ajo en polvo resultaron considerados como “de buen sabor” y “sabroso”. Los consumidores señalaron a la muestra control con ajo en escamas como diferente al resto. La mejora lograda en el perfil nutricional de este alimento proporciona una alternativa real y viable para revertir el bajo consumo de alimentos fuentes de ácidos grasos ω 3. Simultáneamente permite la diversificación de la dieta sin originar cambios en los hábitos alimentarios del consumidor, ya que la carne de pollo se encuentra dentro la alimentación habitual de nuestra región.

2. INTRODUCCIÓN

El creciente interés por la alimentación saludable ha dado lugar a la aparición en el mercado de una nueva gama de alimentos y productos que, además de nutrir, mejoran la salud, el bienestar y disminuyen el riesgo de contraer enfermedades. Estos alimentos se denominan genéricamente funcionales y, de acuerdo con los resultados de la acción concertada europea *Functional Food Science in Europe* se definen como “un alimento natural o uno al que se le ha añadido o eliminado componentes, por vía tecnológica o biotecnológica, de forma que se ha demostrado satisfactoriamente que tiene un efecto beneficioso para la salud además de los efectos nutricionales habituales” (EUR 18591, 2000).

En la actualidad surgen nuevas tecnologías para el desarrollo de estos tipos de alimentos, que además de conservar las propiedades nutricionales, resaltan las características organolépticas del mismo. Una de ellas es la cocción por sous vide en el cual se envasa el alimento al vacío y se cocina a bajas temperaturas (menor a °C 100). Este tipo de cocción permite en ciertos casos, aumentar los rendimientos de las materias primas así preparadas y conservar mejor las cualidades intrínsecas de los alimentos, como aroma y sabor (Ordoñez *et al.*, 1998; Schellekens, 1996).

Por otro lado, la única característica en la que el consumidor basa su decisión de compra, es la apariencia física de los productos ofrecidos y la aceptabilidad o no,

será el resultado de una serie de factores tales como el color, flavor, aroma y ternura. Por lo tanto se hace indispensable conocer la aceptabilidad y como caracteriza su productos (Cossu, 2007).

Por lo cual el objetivo del trabajo fue formular un medallón de carne de pollo enriquecida en ácidos grasos ω_3 , adicionado de salvado de avena, de bajo contenido de sodio aplicando la cocción *sous-vide* y evaluar su aceptabilidad y características sensoriales.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

DISEÑO Y ELABORACIÓN DEL PRODUCTO

Para el diseño del producto se utilizó materia prima de primera calidad: carne de pollo con perfil lipídico modificado (obtenida del deshuese), salvado de avena (como fuente de fibra) condimentos aromáticos (orégano, ajo, tomillo y pimienta blanca) utilizados para realzar el sabor y lograr un producto bajo en sodio cuyas características organolépticas fueran aceptadas por los consumidores. Se realizaron distintas pruebas para evaluar la necesidad de utilizar huevo entero, yema o clara como ligante de la preparación. También se llevaron a cabo ensayos para determinar la proporción adecuada de condimentos y sal.

Cabe destacar que para lograr un aumento en el contenido de ácidos grasos ω_3 en la carne, los pollos parrilleros empleados, divididos en 3 grupos, fueron alimentados diferencialmente, con una *dieta control* de maíz-soja; una *dieta enriquecida* maíz- soja- aceite de lino; y una *dieta enriquecida de maíz-soja-aceite de pescado* - aceite de lino, respectivamente (Tabla 2). La crianza se realizó por un período de 50 días aproximadamente en la Estación Experimental INTA Concepción del Uruguay. (Tabla 1).

Este producto funcional se desarrolló empleando materia prima regional, haciendo uso de los conocimientos nutricionales más recientes y de la cocción al vacío como una forma de optimizar la conservación del producto, y principalmente, atendiendo a los problemas alimentario-nutricionales actuales tales como: obesidad, diabetes, hipertensión, escaso consumo de fibra, ingesta excesiva de sodio y grasas saturadas, entre otros.

La elaboración se realizó en el Laboratorio de Cocina de la Facultad de Bromatología. En primer lugar se procedió a la limpieza, deshuese y desgrase del pollo.

Para picar las diferentes partes y uniformar la mezcla se utilizó una multiprocesadora Atma, modelo mp8601. El tiempo de procesado fue de 5 minutos.

En una balanza electrónica se pesaron los ingredientes a utilizar en la formulación. A la carne de pollo se le adicionó en primer lugar el salvado de avena, luego los condimentos y por último el huevo (en el caso de las formulaciones que lo contenían). Se mezcló durante 3 minutos. De la mezcla final se tomaron porciones de 130 g, utilizándose moldes de acero inoxidable de 9 cm de diámetro y 1,5 cm de profundidad para el armado de los medallones.

Posteriormente se aplicó la tecnología de cocción a vacío, *sous-vide*, para conservar las características del producto fresco.

Para realizar la cocción, cada unidad de 130 g fue empaquetada y sellada en una envasadora a vacío (VACUUM PACKING 80060 / 80080), en bolsas de poliamida-polietileno (permeabilidad al O₂ de 25 a 30 cm³/m²; permeabilidad del vapor de agua de 5 g/m²). El tratamiento térmico se llevó a cabo en un baño con regulación de temperatura y tiempo de circulación constante de agua (RONER COMPACT 80060/80080), con una combinación temperatura/tiempo de 80 °C y 10 minutos. Luego los productos fueron inmediatamente refrigerados a 0 °C.

PRUEBA CATA (CHECK-ALL-THAT-APPLY)

La caracterización sensorial se desarrolló mediante la pregunta CATA (check-all-that-apply) o “marque todo lo que corresponda”. La misma consistió básicamente en una pregunta múltiple opción, en la cual el participante marca todas las opciones que considere adecuadas.

En primer lugar a cada participante se le entregó una lista de palabras, términos o frases y se le pidió que seleccionara todas aquellas que se aplicaban al producto a evaluar.

Para analizar los resultados, en primer lugar se determinó el número de consumidores que eligió cada término para cada una de las muestras evaluadas. Se evaluaron diferencias en cada uno de los términos de la pregunta CATA utilizando el test Q de Cochran. Con la finalidad de obtener un mapa sensorial de las muestras y determinar las relaciones entre términos y muestras se utilizó el Análisis de Correspondencia (CA).

El empleo de metodología de caracterización sensorial más actualizada, tal como la pregunta CATA (check-all-that-apply) permite obtener información acerca de las características sensoriales de distintos tipos de productos.

Dado que esta técnica requiere trabajar con 5 muestras como mínimo se decidió, respetando las proporciones de los ingredientes de la formulación definitiva, preparar 6 muestras variando solamente la forma de presentación del condimento. Para ello, se utilizó ajo en polvo y ajo en escamas.

De esta forma, se elaboraron 6 muestras, a saber:

- Medallón control con ajo en escamas (MCAE)
- Medallón control con ajo en polvo (MCAP)
- Medallón ω 3/lino con ajo en escamas (MOLAE)
- Medallón ω 3//lino con ajo en polvo (MOLAP)
- Medallón ω 3/pescado con ajo en escama (MOPAE)
- Medallón ω 3/pescado con ajo en polvo (MOPAP)

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Previo a la aplicación de la pregunta CATA, los jueces consumidores determinaron la aceptabilidad general de las 6 muestras de medallones. En relación a ello, se puede decir que el medallón formulado con carne de pollo ω 3/pescado y ajo en polvo (MOPAP) obtuvo una diferencia significativa con respecto al resto en el ítem “Me gusta mucho”. Asimismo en el ítem “Me es indiferente” esta muestra fue la única en no llegar al número mínimo de respuestas coincidentes. Por lo antes dicho, se puede concluir que el medallón ω 3/pescado y ajo en polvo (MOPAP) resultó ser el más aceptado, mientras que el resto de las muestras no despertaron demasiado interés en los consumidores (Tabla 1).

Considerando el listado de términos descriptivos que oportunamente se entregara a los consumidores para evaluar los medallones se puede observar que los mismos determinaron que las 6 muestras evaluadas poseían un condimento preponderante, un aspecto agradable y un espesor adecuado (Tabla 2).

Por otra parte indicaron que las muestras con mejor sabor fueron el medallón control con ajo en escama (MCAE) y el medallón ω 3/pescado con ajo en polvo (MOPAP).

Se puede observar que hay diferencia significativa entre los términos seco, poco condimentado, crocante por fuera, demasiado condimentado y buen sabor. Si por un lado comparamos estos resultados con la tabla de frecuencia se puede ver que la muestra más seca y crocante por fuera resultó ser el medallón control con ajo en

polvo (MCAP). Las muestras que poseían mejor sabor fueron el medallón control con ajo en escama (MCAE) y el medallón con ω 3/pescado con ambos condimentos, tanto el ajo en polvo como el ajo en escamas (MOPAP y MOPAE).

En la Tabla 3 se puede observar que hay diferencia significativa entre los términos seco, poco condimentado, crocante por fuera, demasiado condimentado y buen sabor. Esto significa que al menos dos de las seis muestras poseen diferencia significativa con respecto a los términos.

Si comparamos estos resultados con la tabla de frecuencia podemos ver que la muestra más seca y crocante por fuera es la muestra control con ajo en polvo y las que poseen mejor sabor son las muestra control con ajo en escama y la muestra con ω 3/pescado (con ajo en polvo y ajo en escamas).

Algunos autores han efectuado la caracterización sensorial de diferentes alimentos mediante la técnica CATA (marca todo lo que corresponde): snacks salados (Adams *et al.*, 2007), postres lácteos de chocolate (Ares *et al.*, 2010), helados de vainilla (Dooley *et al.*, 2010), cultivares de frutilla (Lado *et al.*, 2010), jugos de naranja en polvo (Ares *et al.*, 2011), postres lácteos de vainilla (Vidal *et al.*, 2013), jugos de naranja comerciales (Lee *et al.*, 2013). Sin embargo no se han encontrado estudios dedicados a la creación de mapas de preferencia en productos cárnicos.

Al aplicar el análisis de correspondencia (CA) con el fin de generar el mapa sensorial de los medallones (Figura 1), se puede ver que las muestras que se encuentran del lado derecho la 589 y 258 (medallón ω 3/lino con ajo en escama y ajo en polvo) fueron percibidas como “secas, demasiado condimentadas y crocantes por fuera”; las muestras 632 y 154 (medallón ω 3/pescado con ajo en escama y ajo en polvo) resultaron consideradas de buen sabor y sabrosas. También se puede destacar que los consumidores señalaron a la muestra 422 (muestra control con ajo en escamas) como diferente al resto.

5. CONCLUSIONES

Se obtuvo un producto funcional con aporte de 3 g fibra dietaria y 85 mg de sodio por porción (reducido en sodio respecto al medallón de pollo tradicional), bajo en grasa y con de 0,22 mg a 0,37 mg de ω 3, cercano a la recomendación diaria (0.250 mg) (American Council on Science and Health, 2002).

La mejora lograda en el perfil nutricional de este alimento proporciona una alternativa real y viable para revertir el bajo consumo de alimentos fuentes de ácidos grasos $\omega 3$.

Simultáneamente permite la diversificación de la dieta sin originar cambios en los hábitos alimentarios del consumidor, ya que la carne de pollo se encuentra dentro la alimentación habitual de nuestra región.

Por otra parte, este producto resultaría una opción para los nuevos consumidores que no sólo buscan la practicidad y comodidad en el consumo, sino que también exigen productos de calidad, que aporten algún beneficio para su salud y además que su consumo resulte también un “placer”.

Es por ello que los alimentos preparados con beneficios nutricionales se enmarcan dentro de los mercados más prometedores de la alimentación, debido al avance de los nuevos hábitos de consumo, que demandan productos cada vez más cómodos y rápidos de preparar, pero sin sacrificar por ello las propiedades de sabor, frescura y calidad característicos de los mismos.

La técnica utilizada para su cocción *sous-vide* permitió preservar y potenciar el sabor del medallón ya que no existieron pérdidas de aromas volátiles, al ser cocinado en un recinto hermético y sin aire. La cocción combinada con el envasado al vacío prolonga la conservación del producto.

Asimismo, al efectuarse la cocción a temperaturas bajas y en medio húmedo, el calor se reparte por todo el alimento, obteniéndose una calidad muy regular de cocción.

La técnica sensorial utilizada (CATA) posibilitó la recolección de la información sobre las características sensoriales y no sensoriales, permitiendo lograr una buena descripción del producto. Además esta metodología resultó menos cansadora que el empleo de escalas y fácil de utilizar por los consumidores.

El medallón fue caracterizado como un producto aceptado por el consumidor, con buen sabor, aspecto agradable y que conserva el sabor a pollo.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, J.; Williams, A.; Lancaster, B.; Foley, M. (2007). “Advantages and uses of CATA response compared to traditional scaling of attributes for salty snacks” In 7th Pangborn Sensory Science Symposium, 12-16th August, Minneapolis, USA

COSSU, M.E. (2007). Jornadas Regionales de Bromatología y Nutrición. Gualeguaychú. E. Rios EUR 18591. (2000). Scientific concepts of functional foods in Europe. Project Report. Vol 3. Dg Research-RTD Actions: life sciences and technologies. Bruselas. Bélgica.

ORDOÑEZ, J.A., Cambero, M.I.; Fernandez, L.; García, M.L.; García de Fernando, G.; De la Hoz, L.; Selgas, M.D. (1998). "Operaciones de transformación" en "Tecnologías de los Alimentos: Componentes de los alimentos y procesos". Volumen I. Editorial Síntesis. Madrid.

7. TABLAS Y FIGURAS

TABLA 1. Aceptabilidad

Aceptabilidad	MCAE		MCAE		MOLAE		MOLAP		MOPAE		MOPAP	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Me disgusta mucho	5	9	5	9	8	15	7	4	4	7	3	5
Me es indiferente	27	50	29	54	26	48	25	46	25	46	22	41
Me gusta mucho	22	41	20	37	20	37	22	41	25	46	29	54
N° TOTAL de CONSUMIORES	54	100	54	100	54	100	54	100	54	100	54	100

TABLA 2. Tabla de frecuencia de términos descriptivos según la técnica CATA

Términos	Muestras					
	Medallón control con ajo en escamas	Medallón control con ajo en polvo	Medallón omega/ lino con ajo en escamas	Medallón omega/ lino con ajo en polvo	Medallón omega/ pescado con ajo en escamas	Medallón omega/ pescado con ajo en polvo
Gomoso	11	10	7	13	11	9
Seco	16	21	13	6	15	10
Condimento preponderante	53	54	54	54	54	54
Bien condimentado	18	12	18	19	13	21
Aspecto agradable	28	24	26	28	24	29
Poco condimentado	5	10	8	15	4	4
Sabor a pollo	27	25	21	26	16	25
Sabroso	19	11	11	8	11	17
Espesor adecuado	23	20	21	20	15	14
Desmenuzable	9	16	13	15	7	17
Agradable	16	20	15	17	20	21
Crocante por fuera	6	21	11	8	17	11
Demasiado condimentado	4	12	6	7	16	8
Buen sabor	29	19	20	20	16	29

TABLA 3. Prueba Q de Cochran

<i>Términos</i>	<i>Valor p del test Q de Cochran</i>
Gomoso	0,6925
Seco	0,01085*
Condimento preponderante	0,1252
Bien condimentado	0,3514
Aspecto agradable	0,848
Poco condimentado	0,01083*
Sabor a pollo	0,08896
Sabroso	0,0982
Espesor adecuado	0,2548
Desmenuzable	0,05393
Olor agradable	0,4841
Crocante por fuera	0,000308*
Demasiado condimentado	0,00017*
Buen sabor	0,02738*
Desabrido	0,1665

* Diferencia significativa

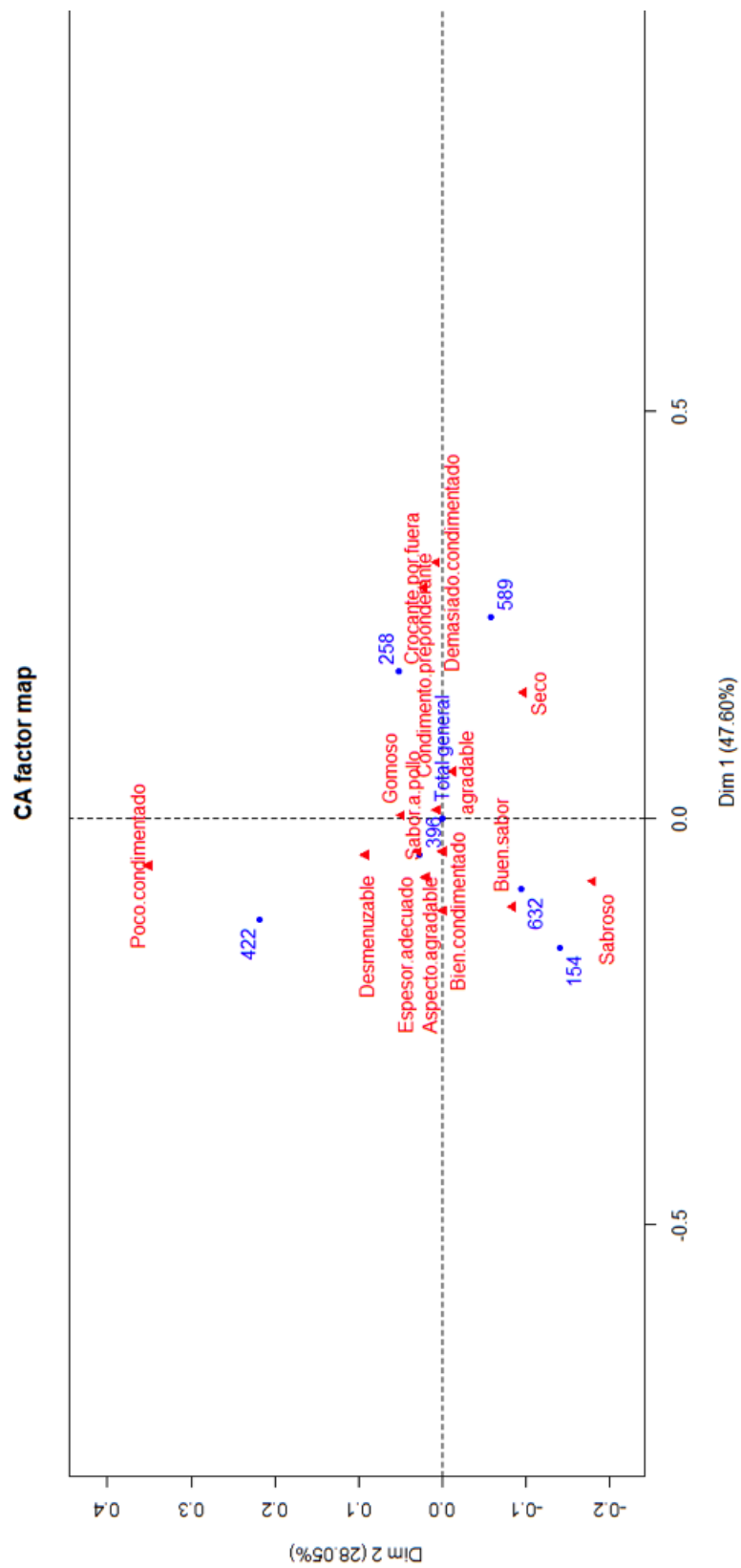


FIGURA 1. Mapa sensorial de las muestras evaluadas

(MCAE) Muestra 422, (MCAP) Muestra 396, (MOLAP) Muestra 258, (MOPAP) Muestra 154, (MOLAE)

Muestra 589, (MOPAE) Muestra 632

PRODUCTION OF DEFATTED RICE BRAN VINEGAR

Catiussa Maiara Pazuch, Francieli Beghini Siepmann, Manoella Moura Monteiro de Jesus, Caroline Zabotti, Cristiane Canan, Eliane Colla

1. ABSTRACT

Vinegar can be made of fruits rich in sugar, cereals (enzymatic hydrolysis of sugar), raw materials rich in starch, ginger, tomatoes and vine leaves. The defatted rice bran (DRB) is produced on a large scale in the rice processing, with high concentrations of carbohydrates. One of the possible ways to use this waste is to apply it as a substrate for fermentation processes, as the vinegar production. The DRB was ground and hydrolysed enzymatically, using three commercial enzymes (Alcalase, α -amylase and amyloglucosidase). After the hydrolysis of sugars, alcoholic fermentation was conducted with a culture of *Saccharomyces cerevisiae* from commercial dehydrated yeast. The fermented medium containing ethanol (“wine”) was submitted to the acidification process in a 4,5 L batch stirred reactor, which was started using stronger vinegar ethanol (mixed culture of acetic bacteria) and Acetozyn (mixed salts industrially used with nutrients for the bacteria’s growth). The conditions used in the fermenter were aeration of 1.0 VVM (volume of air / volume of medium x minutes), agitation of 500 rpm (two Rushton type impellers) and temperature of 28 °C. The product was considered ready at the time that the ethanol concentration was less than 1 %, as recommended by the Brazilian law. The characterization vinegar resulted in real alcohol content of 0.00 % v/v, volatile acidity of $7.2 \text{ g} \cdot 100 \text{ mL}^{-1} \pm 0.03$ of acetic acid, reduced dry extract $8.40 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \pm 0.04$ and $7.29 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \pm 0.46$ ash, all these according with Brazilian legislation (real alcohol content < 1 %; volatile acidity > $4.0 \text{ g} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$ of acid acetic; reduced dry extract > $7.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, and ash 1 a $5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$), exception the content of ash, what can be explained by the absence of the

CONTACTO: Catiussa Maiara Pazuch cati.maiara@gmail.com
Postgraduate Program in Food Technology (PPGTA), Federal
Technological University of Paraná (UTFPR), Medianeira, Paraná,
Brazil.

step of clarifying the vinegar. The content of reducing sugars and sulfate did not exceed $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, so it did not affect the response. The results show that it was possible to obtain vinegar using the DRB as substrate.

2. INTRODUCTION

Vinegar can be made from various raw materials: fruits rich in sugar (Bortolini *et al.*, 2001; Araujo *et al.*, 2012), cereals (Zilioli, 2010), ginger (Suman, 2012), leaves vine (Grananda *et al.*, 2002), onion (Horiuchi *et al.*, 2000) and tomato (Lee *et al.*, 2013).

Vinegar is a dilute solution of acetic acid resulting from a double fermentation, alcoholic and acetic, derived from any sugar substrate fermentable (Solieri, Giudici, 2008).

Not all substrates used for the production of vinegar have carbohydrate which the bacteria can use as an energy source (fermentable sugars), such as cereals. In this case it is necessary to include a step in the process called saccharification (Haruta *et al.*, 2006). This step is necessary to the hydrolysis of complex carbohydrates, which can be made by enzymatic or acid way.

Rice bran is obtained in the rice processing chain, from its peeling, corresponding to 5-8 % of the grain. Fibers, amino acids and minerals like iron, phosphorus and magnesium are present (Silva *et al.*, 2006).

The microorganisms responsible for acetic fermentation produces the acetic acid and other metabolic compounds that modify the flavor of the product. Some vinegars, such as balsamic and rice, are known to contain antioxidant, antitumor compounds and other bioactive metabolites, which may be responsible for its beneficial health effects (Murooka *et al.*, 2009; Giudici *et al.*, 2009).

According to the manufacture of vinegar from cereal, studies in Japan showed that the vinegar made from rice (Kurosu) has a high antioxidant activity, especially for its phenolic content. These studies suggest antitumor effect and reduced risk of atherosclerosis, both assigned to the capability of scavenging free radicals and interference with the generation of new radicals (Nishidai *et al.*, 2000; Yamaji *et al.*, 2001; Shimoji *et al.*, 2002).

The aim of this study was to present the results derived from the physicochemical characterization of vinegar produced from defatted rice bran, showing a new substrate for vinegar production by submerged fermentation.

3. MATERIALS AND METHODS

MATERIALS

The defatted rice bran (DRB) was kindly supplied by Riograndense Vegetable Oils Industry (IRGOVEL), located in the city of Pelotas/RS.

All reagents used were of analytical grade. The enzymes used for the enzymatic hydrolysis of rice bran were protease (Alcalase 2.4 L Food Grade Latin American Novozymes) α -amylase (TERMAMYL 2X Latin American Novozymes) and amyloglucosidase (AMG 300L - Amyloglucosidase from *Aspergillus Niger* - Novozymes).

METHODS

Vinegar production

The defatted rice bran was ground and hydrolysed enzymatically using three commercial enzymes (Alcalase, α -amylase and amyloglucosidase). The optimized conditions, defined in a previous study were: concentration of 200 g·L⁻¹ FAD, 15 μ L·g(-bran)⁻¹ protease for 2 h, 30 μ L·g(bran)⁻¹ α -amylase with actuation time of 2 h, and 40 μ L·g(bran)⁻¹ of amyloglucosidase with time performance of 3 h.

After hydrolysis, the medium was centrifuged at 6000 RPM for 5 minutes in a refrigerated centrifuge (HETTICH, ZENTRIFUGEN, ROUTINE 420R, Tuttlingen, Germany). With centrifuged hydrolyzed, followed with other two stages: alcoholic and acetic fermentation. The alcoholic fermentation was conducted with a pure culture of *Saccharomyces cerevisiae* from commercial dehydrated yeast. The fermentation was carried out in Erlenmeyer flasks (3L) with 1.5 L of hydrolyzed medium (centrifuged and the pH adjusted to 5.0) with 5.0 % (w/v) yeast. The incubation was carried out in a stationary shaker (Certomat Bs-1 template, Braun Biotech International), at 30 °C for 48h. Subsequently, the wine (product obtained by alcoholic fermentation) was centrifuged at 6000 RPM for 3 minutes in order to use in the acetic fermentation step which occurred in bench scale fermenter (TECNAL, Model BIO-TEC-4.5-VI Piracicaba - SP).

The batch volume was 3L, which was started using a mixed culture of acetic bacteria from non-pasteurized vinegar ethanol (parent vinegar), known as a strong vinegar ethanol, supplied by the company Chemim Foods, which have approximately 8.7 % of acidity and 3.5 % ethanol. The activation of these bacteria was conducted

by strong aeration of the medium (“wine” obtained in alcoholic fermentation step) containing $1\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ of a mixture of nutrients, known as *Acetozyn*, donated by the company Frings of Brazil, which has in its composition a physical mixture of inorganic salts, sugars, plant extracts, amino acids and vitamins.

To start the acetic fermentation process, the wine was added to the vinegar strong, resulting in a total concentration (GK) of 7.5, followed by the addition of *Acetozyn*. The process conditions were: $28\text{ }^{\circ}\text{C}$ with aeration flow of 1 VVM (volume of air / volume of medium x minute) and agitation of 500 RPM (two Rushton type impellers). Samples collection were performed to identify the activation of acetic bacteria and the final production of vinegar every 24 hours in the first three days and then every 12 hours.

Real alcohol content

It's a densimeter method, based on the separation of ethanol by distillation of the sample and its subsequent quantification according to the relative density of the distillate at $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ and was held according to the methodology of the Manual of Methods for Analysis of Beverages and Vinegars, with adaptations (Brazil, 2005).

The real alcohol content is calculated based on the specific gravity at $20\text{ }^{\circ}\text{C}$, based on the relation between the specific weight of the sample at $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ compared to the specific weight of water at $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ which the same conditions, is equal to 1.0 (one). With the results of density, lies in tabulated values (percentage of alcohol by volume at $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ (% v/v) corresponding to relative density) the respective percentages by volume of alcohol at $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ (% v/v).

A volume of 100 mL of vinegar produced was measured in triplicate and transferred to one distillatory flask with glass beads. The sample was distilled until obtaining $\frac{3}{4}$ of the initial volume of the sample. The volume (100 mL) was supplemented with distilled water and maintained on ice during distillation. With distilled samples, the relative density at $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ was obtained using a picnometer (25 mL) and the table showed in legislation - percentage of alcohol by volume at $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ (%v/v) corresponding to the relative density.

Total acidity

According to the legislation (Brazil, 2005) the determination of acidity is given by volatile acidity, however, in this work we evaluated the total acidity according proposed by Pedroso (2003). According to this author, the analysis of experimental

results showed that the error analyzes undertaken between the volatile acidity and total acidity is less than 3 %.

A sample of 1.0 mL was pipetted into an Erlenmeyer of 250ml with 100ml of distilled water and added two drops of phenolphthalein alcohol solution of 1 %. The titration was made with sodium hydroxide solution 0.1 mol·L⁻¹ until pink color of the indicator phenolphthalein, performing the calculation according to Equation 1. The analyses were performed in triplicate.

$$\text{Total acidity (g acetic acid in 100 mL)} = (n \times M / V) \times 0,60 \quad (1)$$

Where: n = spent volume of sodium hydroxide titration [L]
M = molarity of the sodium hydroxide [moles×L⁻¹]
V = sample volume [L]

Reduced dry extract

the methodology was followed according to the Manual of Methods for Analysis of Beverages and Vinegars, with adaptations (Brazil, 2005). A sample of 25 mL was collected in triplicate for a cylindrical capsule evaporation (200 mm diameter) previously weighed. The evaporation was conducted slowly in a water bath for 3 consecutive hours in direct contact with the steam of the bath water. For complete drying, after three hours, the capsules were transferred to a drying oven at 105±3 °C for 30 minutes and subsequently cooled in desiccators and weighed.

According to the Brazilian legislation, the reduced dry extract is obtained from the difference of the value of total solids and total sugars and sulfates that exceed 1 g·L⁻¹, according to Equation 2.

$$RDE (g \cdot L^{-1}) = DE - (TS - 1) - (S - 1) \quad (2)$$

Where: RDE = reduced dry extract, g·L⁻¹
DE = total dry extract, g·L⁻¹,
TS = total sugars, g·L⁻¹, (when sugars are less than 1 g·L⁻¹, discard the term (AT-1))
S = sulfates, g·L⁻¹ (as the concentration of sulfate are smaller than 1 g·L⁻¹, discard the term (S - 1)).

Reducing sugars

The concentration of reducing sugars (RS) was determined by the method of Somogyi (1945) and Nelson (1944), in triplicate, and the results were expressed in grams of sugars per liter.

Ashes

The determination of the ashes of vinegars produced was done by gravimetric method, based on the elimination of volatile organic and inorganic matter when the sample is ashed at 500 °C, according to the methodology described in the Manual of Methods for Analysis of Beverages and Vinegars (Brazil, 2005).

Aliquots of 25 mL of the samples was added in preheated crucible, in triplicate, at 600 °C for 10 minutes and weighed. It was taken to dryness in boiling water bath. Were charred in the bunsen burner and placed in a muffle furnace (500 °C) until white or grayish color of the sample. Sequentially were cooled in a desiccator and weighed. The calculation was made in accordance of Equation 3.

$$\text{Ashes (g}\cdot\text{L}^{-1}) = 40 \times (a - b) \quad (3)$$

Where:

a = mass of crucible and ash

b = mass of crucible

4. RESULTS AND DISCUSSION

VINEGAR PRODUCTION

The product was considered ready when the concentration of ethanol was less than 1 %, as prescribed by Brazilian legislation of vinegar. After finished the acetic fermentation, the vinegar was filtered and pasteurized (65 °C for 30 minutes), and stored under refrigeration temperature (5 -7 °C). Sequentially, the characterization of vinegar was conducted in accordance of legislation (Brazil, 2012).

PHYSICOCHEMICAL CHARACTERIZATION

The physicochemical characterization of the vinegar resulted in real alcohol content of 0.00%v/v, volatile acidity of 7.2 ± 0.03 g·100 mL⁻¹ of acetic acid, reduced

dry extract of $8.40 \pm 0.04 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, all these according with Brazilian legislation, which sets the following limits: real alcohol content $< 1 \%$; volatile acidity $> 4.0 \text{ g}$ of acetic acid $\cdot 100 \text{ mL}^{-1}$; reduced dry extract $> 7.0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$.

For the amount of ash was found $7.29 \pm 0.46 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, the only value that did not respect the legislation, which may vary from 1 to $5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$. This factor can be explained by the absence of the clarification step of the vinegar.

The content of reducing sugars and sulfate did not exceed $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, so it did not affect the response, i.e., the value of total dry extract is equal to the value of reduced dry extract.

These results are presented in Table 1 with the results from the literature for the characterization of rice vinegar.

The alcohol content of vinegar determines the efficiency of acetic fermentation, where ethanol is converted into acetic acid, which the final product (vinegar) can be obtained at most 1.0% v/v alcohol. The alcohol content in the vinegar produced in this work was 0.00% . In the study conducted by Marques *et al.* (2009), which analyzed vinegar from rice and maize commercialized in the town of Assis (state of São Paulo) the alcohol content of vinegars also stayed at 0% ; the authors indicated that these results may have been found due to the low sensitivity of the method employed. Zilioli (2010) found a slightly higher value (0.4%), but within the legislation limits.

The volatile acidity, which represents the amount of acetic acid in vinegar, was also analyzed by Marques *et al.* (2009), whose observed that the rice and maize vinegars commercialized in the town of Assis (state of São Paulo) cannot be called vinegars, as had lower acidity in comparison to the minimum required, which can be explained by vinegar dilution. Generally, the vinegar presents acidity values close to 7.0% , after the step of acetic fermentation, as the results obtained in this work and for maize and rice vinegars related to Zilioli (2010) and Schmöller and Balbi (2010), which ranged from 6.34 to 8.32% .

When comparing the results of reduced dry extract obtained in this work (vinegar DRB), with those found by Schmöller and Balbi (2010), who evaluated a rice vinegar sold in Curitiba/PR, there is a similarity in the results ($7.46 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$). The same occurred with the results of Marques *et al.* (2009), whose found $8.65 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$.

The amount of ash found by Marques *et al.* (2009) was $3.75 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$. However, in the work of Zilioli (2010), it is seen that the reduced dry extract ($1.20 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) and

ash content ($0.48 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) are below to the legislation requirements, for rice vinegar and maize, due to the use of liquor rice and corn as substrate.

5. CONCLUSIONS

According to the results obtained in the characterization of DRB vinegar, it was verified that it has met all the criteria of the current legislation, showing that defatted rice bran has potential to be used as a substrate in the production of vinegar. Furthermore, this substrate can provide antioxidant capacity, and in a future studies, the antioxidant activity vinegar will be evaluated.

6. REFERENCES

- ARAÚJO, L. T. *et al.*, (2012) “Produção de vinagre de laranja ‘Lima’ em vinagreira artesanal” in Revista Scientia plena, v. 8, n. 12, p. 1-7, 2012.
- BORTOLINI, F.*et al.*, (2001)“Comportamento Das Fermentações Alcoólica E Acética De Sucos De Kiwi (*Actinidia Deliciosa*); Composição Dos Mostos E Métodos De Fermentação Acética” in Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 21, n. 2, p.236-243, mai-ago. 2001.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 24, de 08 de setembro de 2005. Aprova o manual operacional de bebidas e vinagres. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 20 de setembro de 2005.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 6, de 03 de abril de 2012. Aprova o regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade para fermentados acéticos. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 04 de abril de 2012.
- GIUDICI, P. *et al.*, (2009) “Traditional balsamic vinegar” (2009) in: Solieri, L. and Giudici, P. (Eds.), Vinegars of the world. Springer-Verlag, Milan, p. 157-177, Italy (2009).
- GRANANDA, G. G. *et al.*, (2000)“Vinagres de folhas de videira: aspectos sensoriais” in Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos, v. 18, n. 1, p. 51-56, 2000.
- HARUTA, S. *et al.*, (2006) “Succession of bacterial and fungal communities during a traditional pot fermentation of rice vinegar assessed by PCR-mediated denaturing gradient gel electrophoresis” in International Journal of Food Microbiology, v. 109, n. 1-2, p. 79-87, mai. 2006.

- HORIUCHI, J. *et al.*, (2000) “Effective onion vinegar production by a two-step fermentation system” in *Journal of Bioscience and Bioengineering*, v. 90, n. 3, p. 289-293, 2000.
- LEE, J. (2013) “New vinegar produced by tomato suppresses adipocyte differentiation and fat accumulation in 3T3-L1 cells and obese rat model” in *Food Chemistry*, v. 141, p.3241-3249, 2013.
- MARQUES, F. P. P. *et al.*, (2010) “Padrões de identidade e qualidade de fermentados acéticos comerciais de frutas e vegetais” in *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 30(1), p. 119-126, maio 2010.
- MUROOKA, Y. *et al.*, (2009) “Rice vinegars, in: Solieri, L. and Giudici, P. (Eds.), *Vinegars of the world*. Springer-Verlag, Milan,” p. 121-133, Italy (2009).
- NELSON, N. A. (1944) “Photometric Adaptation Of The Somogyi Method For The Determination Of Glucose” in *Journal of Biological Chemistry*, v.153, p.375-380, 1944.
- NISHIDAI, S. *et al.*, (2000) “Kurosu, a traditional vinegar produced from unpolished rice, suppresses lipid peroxidation in vitro and in mouse skin” in *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry (Japan)*, v 64, n. 9, p. 1909-1914, 2000.
- PEDROSO, P. R. F. (2003) *Produção de vinagre de maçã em biorreator airlift*. Dissertação (Mestrado em Engenharia química) – Universidade Federal de Santa Catarina – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Florianópolis, SC, 2003.
- SCHMOELLER, R. K.; Balbi, M. E. (2010) “Caracterização e controle de qualidade de vinagres comercializados na região metropolitana de Curitiba/PR” in *Visão Acadêmica*, v. 11, n. 2, Jul-Dez. 2010
- SHIMOJI, Y. *et al.*, (2002) “Isolation and identification of dpph radical scavenging compounds in kurosu (Japanese unpolished rice vinegar)” in *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 50, p. 6501-6503, 2002.
- SILVA, M. A. *et al.*, (2006) “Prevention of hydrolytic rancidity in rice bran” in *Journal of Food Engineering*, v. 75, n. 4, p. 487-491, ago. 2006.
- SOLIERI, L.; Giudici, P. (2008) “Yeasts Associated To Traditional Balsamic Vinegar: Ecological And Technological Features” in *International Journal of Food Microbiology*, v. 125, p.36-45, 2008.
- SOMOGYI, M.A. (1945) “A New Reagent for the Determination of Sugars” in *Journal of Biological Chemistry*, v.160, p.61-68, 1945.
- SUMAN, P. A. (2012) *Processo De Obtenção De Vinagre De Gengibre*. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Energia na Agricultura) - Universidade Estadual Paulista “Júlio De Mesquita Filho” - Faculdade De Ciências Agrônômicas - Campus De Botucatu, Botucatu - SP, 2012.

YAMAJI, K *et al.*, (2001) “Radical scavenging activity of kurozu (brewed rice vinegar) on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl and its antioxidant effect on human low-density lipoprotein” in Journal of Society of Nutrition and Food Science, v 54(2) 89-93, 2001.

ZILIOLI, E. (2011) Composição química e propriedades funcionais no processamento de vinagres. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas.

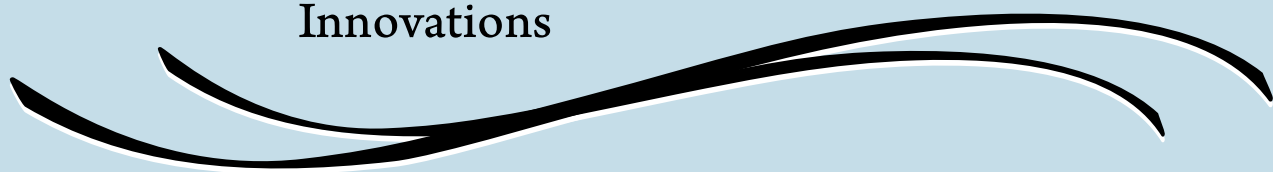
7. TABLES AND FIGURES

TABLE 1. Results obtained in the characterization of defatted rice bran vinegar

	Ash (g·L ⁻¹)	Reduced Dry Extract (g·L ⁻¹)	Alcohol content (%v/v)	Total acidity (g of acetic acid·100mL)
Cereal vinegar - DRB ^a	7.29±0,01	8.40±0.04	0.00	7.2±0.03
Cereal vinegar - rice ^b	0.48	1.20	0.40	8.32
Cereal vinegar - rice ^c	-	7.46	-	6.34
Cereal vinegar -rice ^d	3.75±0,116	14.3±0.302	0.00	3.70±0.325
Legislation ^e	1 a 5	Minimum 7.0	Maximum 1.0	Minimum 4.0

^aMean of triplicates ± standard deviation ^bZilioli (2010) ; ^cSchmoeller e Balbi (2010); ^dMarques et al. (2009) ^e Values based on cereal vinegar legislation (BRAZIL, 2012).

Food Safety Innovations



[Volver al índice](#)

METODOLOGÍAS PARA LA EVALUACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE AMINAS BIÓGENAS POR CEPAS DE BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS

Daniela Silvana Gonzalez^{1,2}, Juan José De Jesús², Nancy Guadalupe Baraggio¹, Arturo Carlos Simonetta¹

1. RESUMEN

Las aminas biógenas (ABs) son bases orgánicas de bajo peso molecular que poseen actividad biológica, y son normalmente producidas por descarboxilación de aminoácidos. Son consideradas indeseables por sus posibles efectos tóxicos, a veces agudos, sobre el consumidor. El objetivo del trabajo ha sido evaluar la actividad descarboxilativa de tirosina, triptofano y fenilalanina que presentan cepas de bacterias ácido lácticas (BAL) aisladas de leche ovina y quesos patagónicos. Se ensayaron cuatro cepas de *Enterococcus*, una de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* y una de *Streptococcus thermophilus*, aplicando un ensayo cualitativo en placas de Petri, confirmación semi-cuantitativa por cromatografía en placa delgada (TLC) y cuantitativa por cromatografía líquida de alta performance (HPLC). Las cepas demostraron capacidad variable para descarboxilar tirosina en los ensayos en placas de Petri, mientras que no se detectó descarboxilación de los restantes aminoácidos. Mediante TLC se determinaron las siguientes concentraciones: tiramina: 800 a 1625 ppm; triptamina: 65 a 150 ppm; feniletilamina: 850 a 1625 ppm. Aplicando HPLC, los valores obtenidos fueron: tiramina: 786,2 a 1735,9 ppm; triptamina: 61,1 a 148,8 ppm; y feniletilamina: 886,8 a 1830,9 ppm. Se concluye que los métodos semi-cuantitativo y cuantitativo estudiados (TLC y HPLC) mostraron una muy buena correlación

CONTACTO: Nancy Guadalupe Baraggio baraggio@fiq.unl.edu.ar

1. Cátedras de Microbiología y Biotecnología. Departamento de Ingeniería en Alimentos, Facultad de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Litoral. Santiago del Estero 2829, Santa Fe, Argentina.

2. Programa de investigación y análisis de residuos y contaminantes químicos, Laboratorio de Cromatografía Líquida, Facultad de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Litoral. Santiago del Estero 2654, Santa Fe, Argentina.

en los resultados obtenidos para las tres ABs estudiadas. En cambio, el método en placas de Petri sólo resultó útil para realizar un screening preliminar. Los valores obtenidos indican que existe una alta probabilidad de que las cepas de BAL sean capaces de acumular considerables cantidades de tiramina y feniletilamina, por lo que resulta indispensable evaluar la capacidad generadora de estas aminas para determinar el riesgo potencial que implica la presencia de algunas cepas de BAL en alimentos fermentados, como así también la conveniencia de su incorporación a fermentos especialmente diseñados para la elaboración de productos regionales.

2. INTRODUCCIÓN

Las aminas biógenas (ABs) son bases orgánicas de bajo peso molecular, que poseen actividad biológica, pueden ser formadas y degradadas por el metabolismo normal de animales, plantas y microorganismos, y son usualmente producidas por decarboxilación de aminoácidos. En alimentos y bebidas son formadas por enzimas de la materia prima o por decarboxilación microbiana de aminoácidos, pero también se ha determinado que algunas de las aminas alifáticas pueden ser formadas in vivo por aminación de los correspondientes aldehídos. Los alimentos que contienen aminas biógenas incluyen pescados y sus productos derivados, productos cárnicos, huevos, quesos, vegetales fermentados, productos de soja, cerveza y vinos (Halász *et al.*, 1994; Linares *et al.*, 2011; Shalaby, 1996; Silla Santos, 1996).

Los factores que influyen en la formación de aminas biógenas en alimentos incluyen la disponibilidad de aminoácidos libres, la presencia de microorganismos que puedan decarboxilarlos y las condiciones favorables para que dichos microorganismos crezcan y produzcan sus enzimas. También son usualmente formadas durante los procesos de descomposición o deterioro que originan la formación de aminoácidos libres a través de la proteólisis, acompañada por la producción bacteriana y la acción de las aminoácido-decarboxilasas (Halász *et al.*, 1994; Shalaby, 1996; Silla Santos, 1996).

El consumo por hombres y animales de alimentos que contengan altos niveles de aminas biógenas tales como histamina, tiramina y triptamina, tiene efectos tóxicos que van desde una simple migraña hasta, en casos extremos, la muerte. Histamina, tiramina, feniletilamina y triptamina son aminas biológicamente activas que

tienen importantes efectos fisiológicos en humanos, generalmente psicoactivos o vasoactivos (Halász *et al.*, 1994; Shalaby, 1996; Silla Santos, 1996).

Todos los métodos para la determinación de ABs involucran dos pasos: extracción de aminos de la matriz y determinación analítica. Dependiendo de la complejidad de la matriz alimentaria y de la cantidad natural de aminoácidos libres que pueden competir con el agente derivatizante, una purificación adicional puede ser necesaria antes de la determinación analítica (Innocente *et al.*, 2007).

Los métodos para la detección pueden ser divididos en dos grupos: los basados en la detección de ABs en sí mismas, y los basados en la detección de los microorganismos productores.

Con respecto a la detección de los microorganismos productores, los métodos de screening fueron inicialmente basados en el uso de un soporte o medio diferencial conteniendo un indicador de pH para identificar las cepas productoras de ABs (Joosten y Northolt, 1989; Bover-Cid y Holzapfel, 1999).

Para la detección química de las ABs, existen diferentes técnicas: Cromatografía en Capa Delgada, Cromatografía de Intercambio Iónico, Cromatografía Gaseosa, Cromatografía Líquida de Alta Resolución (Önal, 2007).

El objetivo del trabajo ha sido evaluar la actividad decarboxilativa de tirosina, triptofano y fenilalanina que presentan cepas de bacterias ácido lácticas (BAL) aisladas de leche ovina y quesos patagónicos.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

CEPAS

Se ensayaron dos cepas de *Enterococcus faecium* (Etw 27 y E17), dos de *Enterococcus faecalis* (Etw 29 y E18), una de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* (Twsv 40) y una de *Streptococcus thermophilus* (Twsv 39). Las cepas fueron conservadas en Caldo M17 (Biokar) con el agregado de un 15 % (v/v) de glicerol como crioprotector, y a una temperatura de -80 °C.

ACTIVACIÓN DE LOS CULTIVOS MICROBIANOS

A fin de activar las enzimas decarboxilativas antes de la prueba de detección final, las cepas de BAL fueron cultivadas 3 - 4 veces en Caldo M17 (Biokar) adicionado de 0,1 % (p/v) de aminoácido precursor (tirosina, triptófano y 2-fenilalanina), incubando

cada vez a 30 °C por 24 h. Después las cepas bacterianas fueron cultivadas una vez en el medio decarboxilativo descrito por Bover-Cid y Holzapfel (1999), adicionado del 1 % (p/v) del aminoácido precursor, 0,005 % de peridoxal-5-fosfato y 0,001 % de tiamina. Estos cultivos se incubaron 4 días a 30 °C, en condiciones aeróbicas.

METODOLOGÍAS PARA LA DETERMINACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE ABS

Método en placas de Petri

Para determinar cualitativamente la capacidad de producción de tiramina, triptamina, y feniletilamina se aplicó un método en placas de Petri, usando el medio de Bover-Cid y Holzapfel (BCyH) (1999) adicionado de los aminoácidos precursores (tirosina, triptófano y fenilalanina), en concentraciones finales del 1 y 2 % (p/v). Las placas sembradas por estriado en superficie con cada una de las cepas se incubaron durante 4 días a 30 °C, observando en el transcurso de este período el cambio de color del indicador púrpura de bromocresol, debido a la formación de las respectivas aminas.

Separación de las dansilaminas por TLC

Extracción de las aminas

Se realizaron dos centrifugaciones de los cultivos microbianos en estudio, a 6000 rpm por 10 minutos. En la primera (sin solvente) se precipitó el material celular, y en la segunda se realizó la precipitación de las proteínas añadiendo 5 mL de ácido clorhídrico 0,1N (Innocente *et al.*, 2007).

Luego de cada centrifugación, los sobrenadantes fueron filtrados por membranas de 0,45 µm de diámetro de poro, se lavaron con 5 mL de agua destilada, se sometieron a 3 extracción líquido-líquido en centrifuga con 2 mL de dietiléter, y se evaporaron a sequedad con corriente de aire (Latorre-Moratalla *et al.*, 2009).

Derivatización

Al residuo seco se añadió 1 mL de solución saturada de NaHCO₃ y 1mL de cloruro de dansilo. El tubo tapado fue inmediatamente mezclado por 30 segundos usando un vórtex. La primera etapa de la reacción de dansilación se llevó a cabo a 100 °C durante 12 min., continuando luego el calentamiento por 6 min más después de la adición de solución de glicina. Durante este procedimiento realizado en baño maría, la exposición a la luz fue minimizada. Luego se evaporó por 15 min el exceso de acetona, se dejó enfriar y, una vez a temperatura ambiente, se lavó con 3 mL de agua destilada (Latorre-Moratalla *et al.*, 2009).

Preparación de la solución de los estándares

Una solución estándar mezcla de cada una de las aminas estudiadas en forma individual, como derivados dansilados, se preparó a partir de 100 mL de la solución estándar stock de cada amina (0,5 mg/L). La concentración de cada solución estándar madre fue de 2000 mg/L en HCl 1N. Usando una corriente de aire y un baño termostático, la solución preparada fue evaporada a sequedad. Los derivados dansilados fueron obtenidos según la técnica descrita previamente. El residuo fue disuelto en 10 mL de acetonitrilo (estándar intermedio). Después de realizar la derivatización, la extracción de los compuestos se realizó con distintas porciones de dietiléter, para luego evaporar a sequedad con corriente de aire y re-disolver el residuo seco en acetonitrilo.

Separación de las dansilaminas por TLC

La cromatografía en capa delgada se llevó a cabo para separar las tres dansilaminas (técnica de TLC uni-dimensional). A 2 cm del borde inferior de la placa de TLC y a intervalos de 1 cm entre cada muestra se sembraron 10 µL de las distintas concentraciones de los estándares de dansilaminas, y 10 mL de cada extracto dansilado obtenido a partir de los cultivos bacterianos. Las placas se desarrollaron en fase móvil compuesta por cloroformo: dietiléter: trietilamina en proporciones (4:1:1 v/v/v). Las placas se secaron con corriente de aire y bajo campana hasta desaparición del exceso de solventes (Latorre-Moratalla *et al.*, 2009).

Interpretación del cromatograma

La técnica aplicada fue la de desarrollo lineal unilateral, realizando sólo una corrida por placa. Las placas fueron examinadas bajo luz UV (longitud de onda 360 nm), para establecer si las dansilaminas estaban presentes o no en la muestra. Las manchas de las aminas de los extractos fueron identificadas con la ayuda de los estándares. Cada una de éstas debe coincidir con el estándar de referencia en valor de R_f y tonalidad, y la concentración del compuesto en estudio fue estimada en forma semi-cuantitativa por comparación visual con las manchas correspondientes a las distintas concentraciones de los estándares.

MÉTODO DE CROMATOGRAFÍA POR HPLC

Preparación de las muestras

Las muestras se prepararon de idéntico modo al ya descrito en el ítem anterior (TLC).

Metodología de ensayo

Se utilizó un cromatógrafo HPLC marca Perkin Elmer modelo 3000 con bomba

serie LC 200 y columna C-18 marca Phenomenex Géminis, de 5µm x 250mm x 4,6mm, termostaticada a 25 °C, con interface NCI 900, software Turbochrom y detector marca Perkin Elmer 785 AUV/VIS modelo 785A/CORAD a $\lambda=254$ nm. Las inyecciones se realizaron con jeringa de 100 µl Hamilton en loop de 20 µl. Antes de comenzar la medición, el equipo se equilibró por 10 minutos y entre inyecciones por 5 minutos. Los ensayos se realizaron usando fase móvil de composición AcN/MeOH/agua 45%/40%/15%, con elución isocrática a flujo de 1 mL/min. Luego de la preparación de la fase móvil la misma se filtró con filtros de nylon de 0,45 µm, mediante bomba de vacío, y se trató 15 minutos con ultrasonido, antes de ser usada (Innocente *et al.*, 2007; Bover-Cid y Holzapfel, 1999).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Todos los ensayos se realizaron por triplicado y los resultados se expresaron como un promedio de los valores individuales obtenidos. En el caso de las determinaciones realizadas aplicando el método en placas de Petri, siempre se efectuaron con sus respectivos blancos o controles, constituidos por el medio agarizado en el que no se realizó la siembra de material celular.

En la Tabla 1 se detallan los resultados obtenidos para cada una de las cepas bacterianas y para las tres ABs en estudio. Estos resultados indican que las cepas de *Enterococcus*, *Lactococcus* y *Streptococcus* ensayadas fueron capaces de producir elevadas cantidades de tiramina y feniletilamina, y concentraciones muy bajas de triptamina. Además se observa que los resultados semi-cuantitativos y cuantitativos obtenidos mediante la aplicación de TLC y HPLC, prácticamente no mostraron diferencias, mientras que los determinados por el método en placas de Petri en general no mostraron correlación con los anteriores.

En las figuras 1 y 2 se muestran, a modo de ejemplo, fotografías y representaciones gráficas de los resultados obtenidos para algunas de las cepas estudiadas al aplicar el screening en placas de Petri, así como las determinaciones por TLC y HPLC, para tiramina, triptamina y feniletilamina.

5. CONCLUSIONES

En función de los datos experimentales obtenidos, se puede afirmar que las cepas de *Enterococcus* son las principales productoras de tiramina (la más abundante AB en quesos, cuya concentración es 30 veces mayor en quesos hechos con leche cruda que con leche pasteurizada). Por esta razón es que varios autores (El-Sayed 1996, Shalaby 1996, Önal 2007) aconsejan que, para bajar el contenido de ABs en quesos hechos con leche pasteurizada, el grado de proteólisis debe disminuirse y, como consecuencia de esto, se disminuye la concentración de aminoácidos disponibles. El control de los microorganismos que producen ABs por tratamiento adecuado de la leche es uno de los más importantes factores para reducir la acumulación de estos compuestos en productos lácteos.

Los resultados expuestos coinciden en sus aspectos generales con los informados por otros autores, especialmente en lo que se refiere al género *Enterococcus*, en cuanto a su capacidad para generar distintas aminas biógenas por decarboxilación de los aminoácidos presentes en su hábitat y, sobre todo, en los ecosistemas alimentarios. Entre ellos, Vale *et al.* (1998) indican que los enterococos son notorios formadores de tiramina; Shalaby (1996) informa que cepas de *Enterococcus faecalis* aisladas de productos cárnicos producen tiramina; Celano *et al.* (1992) informan que cepas de *Enterococcus faecalis* han sido asociadas con tiramina en quesos Cheddar; y Valsamaki *et al.* (2000) indican que cepas de enterococos son particularmente activas en decarboxilar aminoácidos.

En lo que respecta a las técnicas analíticas aplicadas para evaluar la capacidad de generar aminas biógenas por cepas microbianas, se concluye que los métodos semi-cuantitativo y cuantitativo estudiados (TLC y HPLC), mostraron una muy buena correlación en los resultados obtenidos para las tres ABs estudiadas. Además y tal como era dado esperar, el método de HPLC resultó ser el más adecuado para detectar la presencia de ABs en bajas concentraciones. En cambio, el método en placas de Petri sólo resultó útil para realizar un screening preliminar, dado que únicamente es sensible ante la generación de altas concentraciones de ABs.

Como conclusión final se puede afirmar que, comprobada la alta probabilidad de que las cepas de BAL sean capaces de acumular considerables cantidades de tiramina y feniletilamina, resulta indispensable evaluar la capacidad generadora de estos compuestos para determinar el riesgo potencial que implica la presencia de algunas cepas

de BAL en alimentos fermentados, como así también la conveniencia de su incorporación a fermentos especialmente diseñados para la elaboración de productos regionales.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BOVER-CID, S.; Holzapfel, W.H. (1999). Improved screening for biogenic amine production by lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology* 53, 33-41.
- BOVER CID, S.; Latorre Moratalla, M.L.; Garriga, M.; Vidal Carou, M.C. (2005). Aminas biógenas en productos cárnicos: un repaso a su origen, importancia y control. *Eurocarne* 141, 1-6.
- CELANO G.V., Cafarchia, C., Buja, F., Tiecco, G. (1992). Ricerca di amine biogene in alcuni formaggi. *Industrie Alimentari*, 31, 764-768.
- EL-SAYED, M.M. (1996). Biogenic amines in processed cheese available in Egypt. *International Dairy Journal*, 6, 1079-1086.
- HALÁSZ, A.; Baráth, A.; Simon-Sakardi, L.; Holzapfel, W. (1994). Biogenic amines and their production by microorganisms in foods. *Trends in Food Science & Technology*, 5 (2), 42-49.
- INNOCENTE, N.; Biasutti, M.; Padovese, M.; Moret, S. (2007). Determination de biogenic amines in cheese using HPLC technique and direct derivation of acid extract. *Food Chemistry*, 101, 1285-1289.
- JOOSTEN, H.M.L.J.; Northolt, M.D. (1989). Detection, growth and amine- producing capacity of Lactobacilli in cheese. *American society for microbiology*, 55 (9), 2356-2359.
- LATORRE-MORATALLA, M.L., Bover-Cid, S., Veciana-Nogués, T. and Vidal-Carou, M.C. (2009). "Thin-layer Chromatography for the identification and semi-quantification of biogenic amines produced by bacteria". *Chromatography A*, 1216: 4128-4132.
- LINARES, D.M.; Martín, M.C.; Ladero, V.; Álvarez, M.A.; Fernández, M. (2011). Biogenic Amines in Dairy Products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51, 691-703.
- ÖNAL, A. (2007). A review: Current analytical methods for the determination of biogenic amines in foods. *Food chemistry*, 103, 1475-1486.
- SHALABY, A.R. (1995). Multidetecction, semiquantitative method for determining biogenic amines in foods. *Food Chemistry*, 52, 367-372.
- SHALABY, A.R. (1996). Significance of biogenic amines to food safety and human health. *Food Research International*, 29 (7), 675-690.
- SHALABY, A.R. (1999). Simple, rapid and valid thin layer chromatographic method for determining biogenic amines in foods. *Food Chemistry*, 65, 117-121.

SILLA SANTOS, M.H. (1996). Biogenic amines: their importance in foods. *International Journal of Food Microbiology*, 29 (2-3), 213-231.

VALE, S.; Glória, M.B. (1998). Biogenic amines in brazilian cheeses. *Food Chemistry*, 63 (3), 343-348.

VALSAMAKI, K., Michaelidou, A., Polychroniadou, A. 2000. Biogenic amines production in feta cheese. *Food Chemistry*, 71 (2), 259 - 266.

7. TABLAS Y FIGURAS

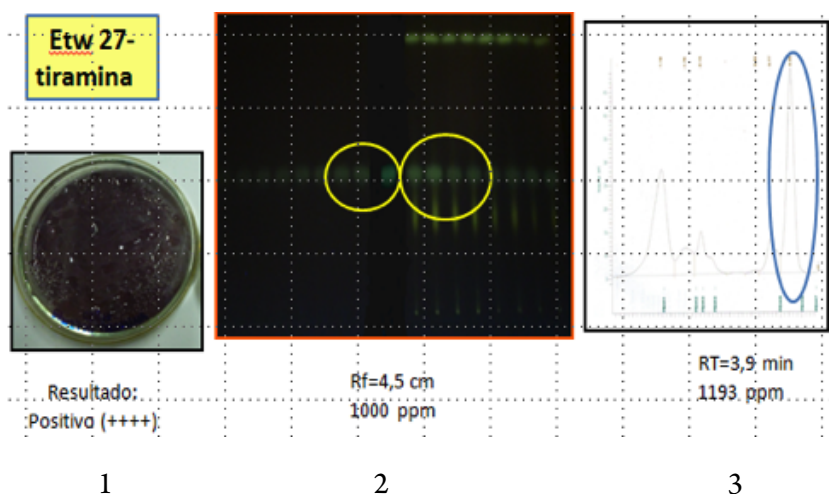


FIGURA 1. Resultados de ensayos comparativos entre las técnicas ensayadas (placas de Petri - 1, TLC - 2 y HPLC - 3), para la determinación de tiramina

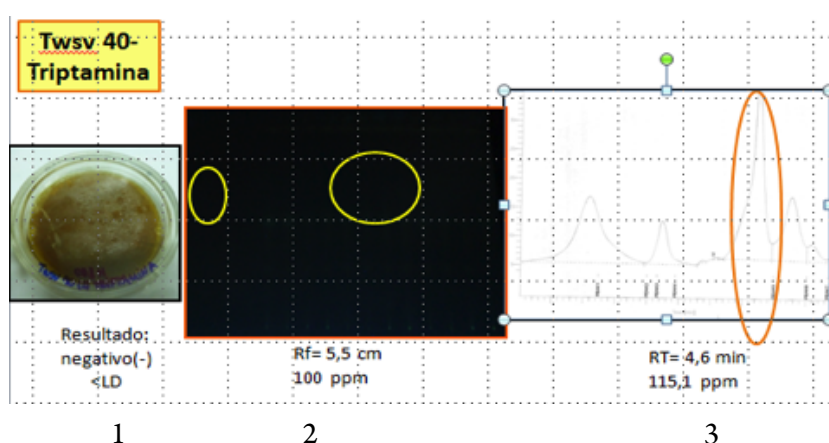


FIGURA 2. Resultados de ensayos comparativos entre las técnicas ensayadas (placas de Petri - 1, TLC - 2 y HPLC - 3), para la determinación de triptamina

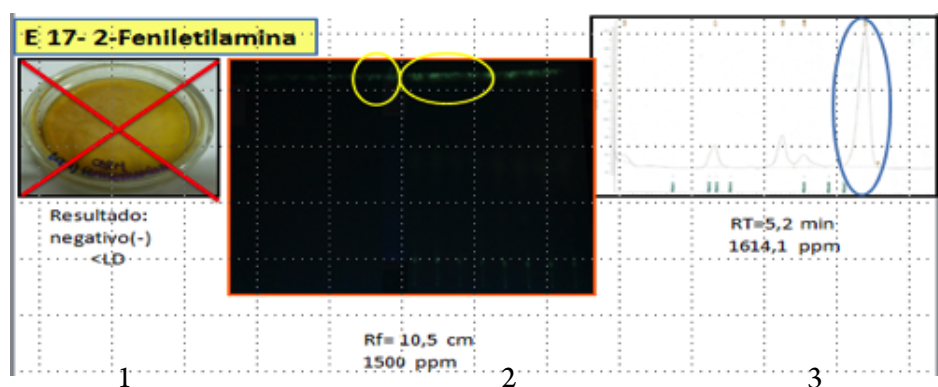


FIGURA 3. Resultados de ensayos comparativos entre las técnicas ensayadas (placas de Petri - 1, TLC - 2 y HPLC - 3), para la determinación de feniletilamina

TABLA 1. Cuadro comparativo de resultados de ensayos mediante screening en placas de Petri, TLC y HPLC

CEPAS	TIRAMINA			FENILETILAMINA			TRIPTAMINA		
	Placas de Petri	TLC (mg/L)	HPLC (mg/L)	Placas de Petri	TLC (mg/L)	HPLC (mg/L)	Placas de Petri	TLC (mg/L)	HPLC (mg/L)
<i>E. faecium</i> E17	+++	850	792,7	-	1500	1614,1	-	90	96,5
<i>E. faecalis</i> E18	++++	1625	1725,9	-	1750	1830,9	-	65	61,1
<i>E. faecium</i> Etw27	++++	1000	1192,8	-	850	886,8	-	150	148,8
<i>E. faecalis</i> Etw29	-	800	786,2	-	950	985,1	-	100	122,9
<i>S. thermophilus</i> Twsv39	-	1750	1751,7	-	1250	1324,2	-	150	136,1
<i>L. lactis subsp. lactis</i> Twsv40	++	975	1093,5	-	975	1143	-	100	115,1

FUNCTIONALITY OF CHITOSAN FOR INHIBITING ACRYLAMIDE FORMATION IN MODEL SYSTEMS

Mariola Sansano, Miriam Gimeno, Ana Heredia, Ana María Andrés

1. ABSTRACT

Acrylamide, a potentially carcinogenic compound, is present in a wide range of fried and baked foods. For this reason, Health authorities together with food industry have motivated research with the purpose of minimize the presence of acrylamide in foods. In this regard, the use of chitosan might be an alternative for achieving this goal by competition with asparagine in its union to dicarbonyl compounds of reducing sugars in Maillard's reactions.

The aim of this study was to analyze, in model systems, the effectiveness of chitosan in the mitigation of the generation of acrylamide during frying processes. The effect of pH of the reaction, the type of reducing sugars (glucose and/or fructose) present in the system and the temperature were also evaluated. The model systems studied were asparagine-glucose and asparagine-fructose to which 0, 0.5 or 1 % of chitosan solution were added to promote acrylamide generation. The pH of the reaction was adjusted to 4 and 5 and conducted at 150 and 180 °C for 15 minutes.

The results showed that chitosan is capable to inhibit the acrylamide formation in model systems subjected to different temperatures. Therefore, it was achieved up to 70 and 86 % reduction in acrylamide content when using 0.5 and 1 % of chitosan, respectively (compared to control systems), depending on the applied temperature and the type of reducing in the model system. All the analyzed variables present a statistically significant effect on acrylamide generation, especially the percentage of chitosan and the temperature as well as their interaction.

CONTACTO: Ana María Andrés anhegu@tal.upv.es

Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo, Universitat Politècnica de València, C.P. 46022 Valencia, España.

2. INTRODUCTION

Since the detection of high levels of acrylamide in heat-processed foods, which is probably carcinogen to humans (IARC, 1993), it has appeared a growing public concern. It generated the need to guide researches to find useful tools that reduce acrylamide levels in foods. Several potential strategies have been studied for suppressing acrylamide formation in model systems as well as in real food systems (potato products, cereal-based foods, etc.). Most strategies are based in controlling frying conditions (temperature and time; Tareke, 2002; Brathen, 2005), removing or blocking precursors of Maillard reaction: by blanching (Haase, 2003; Pedreschi, 2009), adding cations (Gokmen, 2007), acidifying (Jung, 2003; Rydberg, 2003), using asparaginase (Pedreschi, 2008; Hendriksen, 2009), with acid lactic fermentation (Baardseth, 2006; Anese, 2009) among others. There are also studies about the employment of hydrocolloids to reduce acrylamide content (Zeng, 2010) achieving reductions up to 50 % with certain hydrocolloids in model systems. Chitosan, a polysaccharide obtained by deacetylation of chitin, the structural element in the exoskeleton of crustaceans and cell walls of fungi, is rich in amino groups. This structural feature allows to compete with asparagine in the reaction with the carbonyl group of reducing sugars and thus, to limit acrylamide generation (Lindsay, 2005). The main purpose of this study was to analyze, the addition of chitosan as a new tool in the mitigation of the generation of acrylamide during frying processes in model systems. The effect of pH of the reaction, the type of reducing sugars (glucose and/or fructose) present in the system and the temperature were also evaluated.

3. MATERIALS AND METHODS

Experimental methodology

The reactions of the studied model systems were based on the method of Gokmen and Senyuva (2007) with slight modifications. The model systems studied were asparagine-glucose and asparagine-fructose, all these reagents from Sigma-Aldrich Company (St. Louis, MO, USA). 5 moles of asparagine and 5 moles of reducing sugar (glucose or fructose) were added to a 25 mL Pirex tube. 100 μ L of water (control samples) or 0.5 or 1 % of chitosan solution (Sigma-Aldrich Company (St. Louis, MO, USA)), were added to promote the reaction of reactants adjusting the

mixture to pH 4 and 5. The tubes were subjected to 150 and 180 °C during 15 minutes in order to evaluate the influence of temperature.

The equipment used to simulate frying was a household electric fryer (Solac Ideal 2000). After time, tubes were placed on ice for 5 min and then 5 minutes more at room temperature. 2 mL of Mili-Q water were added to the obtained residue and tubes were agitated in a vortex for 1 minute. The tube content was filtered (0.22 mm Nylon filters) and transferred to a vial for the following acrylamide content determination, studied in triplicate (n=3).

Analytical determinations

The acrylamide analysis was performed with an Agilent 1200 Series HPLC system coupled to an Agilent 6410 triple quadrupole mass spectrometer (Agilent Technologies Inc., CA, USA) with an electrospray type ionization source. The column used in this study was a Zorbax Eclipse XDB C-18 (2.1mmx50mm, 1.8 μ m). The mobile phase used consisted of 2.5 % methanol and 97.5 % aqueous formic acid (0.1 %, VWR-Prolabo, Leuven, Belgium) (A) and methanol (HPLC grade, Panreac, Barcelona, Spain) (B). The elution gradient was as follows: 0-3 min 100 % of A; 3.1-3.5 min 70 % A; 3.6 min 100 % A, with 1 min post-time to equilibrate the column. The column oven temperature was set at 30 °C, the flow was maintained at 0.4 mL/minute and the injection volume was 10 μ L. The electrospray was operated in positive ion mode. The conditions used in the ionization source were: 350 °C at 12 L/min for the drying gas (N₂), a nebulizer pressure of 40 psi and a capillary voltage of 4000 V. Identification and quantification of acrylamide in the samples was performed using the multiple reaction monitoring mode (MRM), and the ion m/z 72 > 27 and m/z 72 > 55.2 were studied respectively.

The influence of the content of chitosan in the medium, the reducing sugars used, the pH and temperature on reducing acrylamide formation in model systems, were evaluated using multivariate analysis of variance (ANOVA multifactorial) with statistical analysis program Statgraphics CenturionXVI with a confidence level of 95 % (p-value \leq 0.05).

4. RESULTS AND DISCUSSION

Figures 1 and 2 show the acrylamide content generated at pH 4 after 15 minutes of frying at 150 and 180 °C. It can be observed how the addition of chitosan sig-

nificantly reduces acrylamide content. Statistical analysis established that among the factors studied, the most influential factor in the formation of acrylamide is the application of chitosan (F-ratio = 119.19), followed by temperature (F-ratio = 86.76). The type of sugar and pH are also statistically significant but with smaller F-ratio, 32.75 and 5.23 respectively. The influence of pH on acrylamide content was the lowest compared with the other factors but between samples without chitosan there was no difference (p-value= 0.4221). Jung, (2003) showed an incredibly different content of acrylamide when acidified (pH 4-5) than at pH 7 or 8 due to the acidification of the medium that produces the protonation of the amino group of the asparagine, blocking the reaction with reducing sugars.

As it could be observed in Figure 3, the type of reducing sugars present in the model systems significantly influences the generation of acrylamide, being higher content with fructose participates in the reaction. This fact could be related to the difference between the melting points of these two sugars (Robert, 2004).

The F-ratio of the frying temperature proves that this factor is crucial in the control of acrylamide during the frying or baking process as it has been previously reported (Mottram, 2002; Stadler., 2002). The statistical analysis indicated that the interaction between chitosan percentage and temperature is the most significant interaction with an F-ratio of 19.31. Figure 4 shows the content of acrylamide (ppm) with respect to the chitosan percentage and frying temperature applied in the reaction. As it can be noted the effect of temperature is drastically reduced as percentage of chitosan present in the model system increases.

The relative reduction of acrylamide formation (%) was up to 70 ± 15 and 86 ± 11 % when using 0.5 and 1 % of chitosan, respectively (compared to control systems), depending on the applied temperature and the type of reducing in the model system.

5. CONCLUSION

The results of this work confirm the effectiveness of chitosan in acrylamide mitigation with an average acrylamide reduction of 70 and 86 % when 0.5 and 1 % of chitosan was added to the model system, respectively. All the analyzed variables present a statistically significant effect on acrylamide generation, especially the percentage of chitosan and the temperature as well as their interaction. Nevertheless,

the functionality of chitosan to reduce acrylamide content in fried products should be studied in real food systems to analyze possible interferences with the matrix that could affect to the organoleptic and quality of the product.

6. REFERENCES

- Anese, M., Bortolomeazzi, R., Manzocco, L., Manzano, M., Giusto, C., & Nicoli, M. C. (2009). Effect of chemical and biological dipping on acrylamide formation and sensory properties in deep-fried potatoes. *Food Research International*, 42, 142–147.
- Baardseth, P., Blom, H., Skrede, G., Mydland, L. T., Skrede, A., & Slinde, E. (2006). Lactic acid fermentation reduces acrylamide formation and other Maillard reactions in French fries. *Journal of Food Science*, 71, C28–C33.
- Brathen, E. & Knutsen, S. H. (2005). Effect of temperature and time on the formation of acrylamide in starch-based and cereal model systems, flat breads and bread. *Food Chemistry*, 92, 693-700.
- Gökmen, V. & Senyuva, H.Z. (2007). Acrylamide formation is prevented by divalent cations during the Maillard reaction. *Food Chemistry* 103, 196–203.
- Haase, U.N., Matthaus, B. & Vosmann, K. (2003). Acrylamide formation in foodstuffs - Minimising strategies for potato crisps. *Deutsche Lebensm. Rund*, 99(3), 87-90.
- IARC (1994). Some industrial chemicals (Vol. 60, p. 398). International Agency for research on Cancer.
- Jung, M.Y., Choi, D.S., & Ju, J.W. (2003). A novel technique for limitation of acrylamide formation in fried and baked corn chips and in French fries. *Journal of Food Science*. 68(4), 1287-1290.
- Hendriksen, H.V., Kornbrust, B. A., Ostergaard, P. R. & Stringer, M. A. (2009). Evaluating the potential for enzymatic acrylamide mitigation in a range of food products using an asparaginase from *Aspergillus oryzae*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57 , 4168–4176
- Lindsay, R. C. & Jang, S. (2005). Chemical intervention strategies for substantial suppression of acrylamide formation in fried potato products. *Chemistry and safety of Acrylamide in Food*; Friedman, M. & Mottram, D. S., Eds.; Springer: New York, 2005; pp 393-404.
- Mottram, D. S., Wedzicha, B. L., & Dodson, A. T. (2002). Acrylamide is formed in the Maillard reaction. *Nature*, 419, 448-9.
- Pedreschi, F., Kaack, K & Granby, K (2008). The effect of asparaginase on acrylamide formation in French fries. *Food Chemistry* 109, 386–392.

- Pedreschi, F., Travisany, X., Reyes, C., Troncoso, E., & Pedreschi, R. (2009). Kinetics of extraction of reducing sugar during blanching of potato slices. *Journal of Food Engineering*, 91, 443–447.
- Rydberg, P., Erikson, S., Tareke, E., Karlsson, P., Ehrenberg, L. & Törnqvist, T. (2003). Investigations of Factors That Influence the Acrylamide Content of Heated Foodstuffs. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 51, 7012-7018
- Robert, F., Vuataz, G., Pollien, P., Saucy, F., Alonso, M.I., Bauwens, I. & Blank, I. (2004). Acrylamide Formation from Asparagine under Low-Moisture Maillard Reaction Conditions. Physical and Chemical Aspects in Crystalline Model Systems. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 52, 6837-6842.
- Stadler, R. H., Robert, F., Riediker, S., Varga, N., Davidek, T., Devaud, S., *et al.* (2004). In-depth mechanistic study on the formation of acrylamide and other vinylogous compounds by the Maillard reaction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 5550–5558.
- Tareke, E., Rydberg, P., Karlsson, P., Eriksson, S., & Törnqvist, M. (2002). Analysis of Acrylamide, a Carcinogen Formed in Heated Foodstuffs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50, 4998-5006.

7. TABLES AND FIGURES

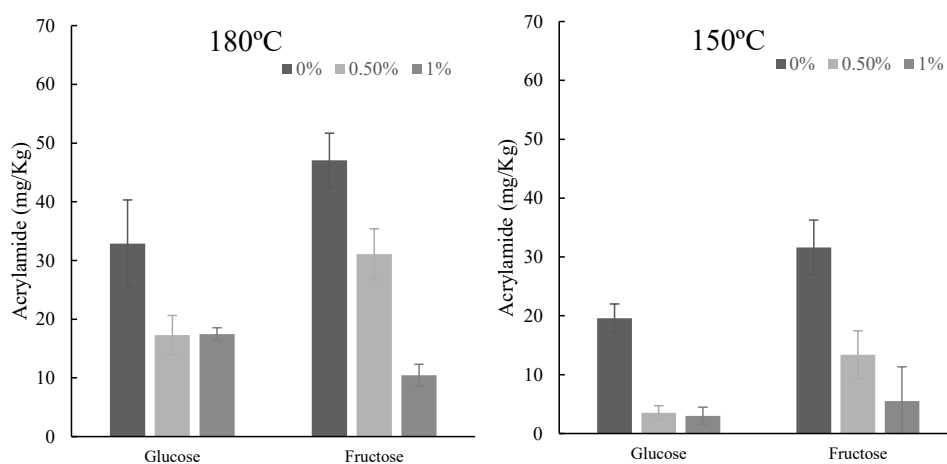


FIGURE 1. Acrylamide content (ppm) from asparagine-glucose and asparagine-fructose at 0, 0.5 and 1 % of chitosan, at pH 4 after frying during 15 minutes at 180 °C (left) and 150 °C (right). Error bars symbolize standard deviations (n=3)

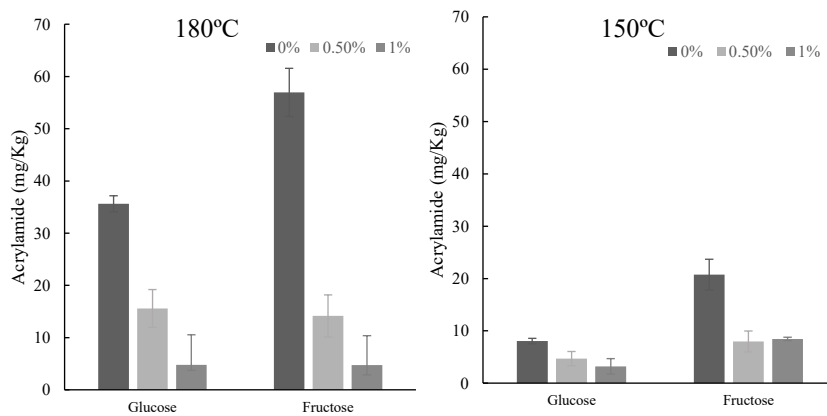


FIGURE 2. Acrylamide content (ppm) from asparagine-glucose and asparagine-fructose at 0, 0.5 and 1% of chitosan, at pH 5 after frying during 15 minutes at 180 °C (left) and 150 °C (right). Error bars symbolize standard deviations (n=3)

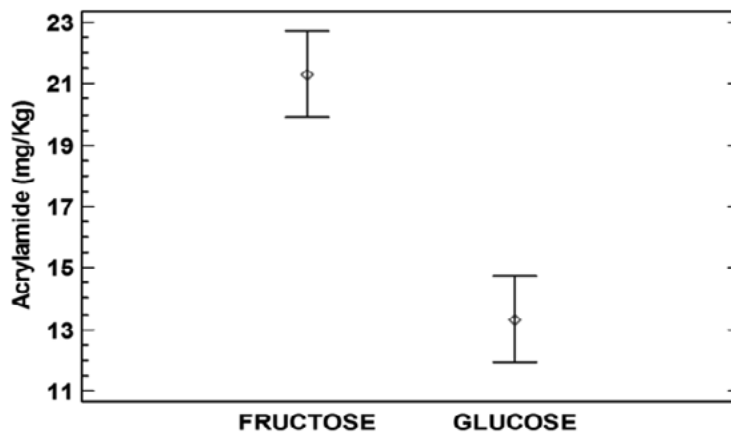


FIGURE 3. Acrylamide content (mg/Kg) and LSD according to the reducing sugar used: fructose or glucose.

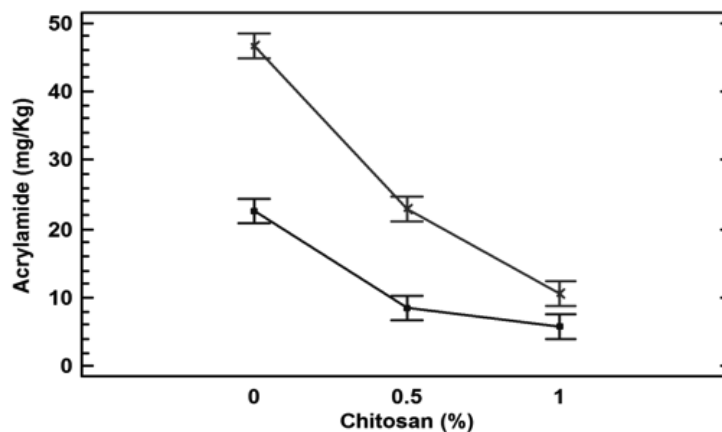


FIGURE 4. Acrylamide content (mg/Kg) according to the temperature and chitosan content (%) independently of type of sugar and pH of the medium.

ESTABILIDAD Y MICROESTRUCTURA DE EMULSIONES ACUOSAS DE PECTINA Y CERAS DE GIRASOL

Mayra Chalapud, Erica Bäümler, Amalia Antonia Carelli

1. RESUMEN

En el presente trabajo se analiza la estabilidad y la microestructura de emulsiones acuosas de pectinas y ceras de girasol que serán utilizadas como base para producir recubrimientos comestibles para alimentos. Las relaciones de g cera de girasol /g de pectina utilizadas fueron 0,1, 0,2 y 0,3. La microestructura de las emulsiones se analizó utilizando un microscopio óptico de luz polarizada un microscopio electrónico de barrido. La estabilidad fue medida a intervalos regulares de tiempo durante 42 días utilizando un analizador automático de barrido TURBISCAN Classic. En todas las muestras se visualizó el acoplamiento de varias inestabilidades, siendo posible compararlas y discriminarlas en cada zona del tubo de la muestra (fondo, medio y tope). Los resultados de la cinética indican que la adición de mayor proporción de ceras generó inestabilidades en las zonas del medio y del tope, mientras que en el fondo del tubo el sistema fue más estable contra la sedimentación. Las observaciones en el microscopio de luz polarizada permitieron identificar la presencia de cristales de ceras dispersos en las emulsiones, con un tamaño que osciló entre 1 y 25 μm . En las imágenes obtenidas por SEM se observó una estructura de red que envuelve los cristales de cera. Los resultados obtenidos permitieron observar fenómenos de desestabilización que se desarrollan a medida que se incrementa la proporción de ceras, estudiar la cinética de los mismos y confirmar las propiedades emulsificantes de la pectina en presencia de las ceras de girasol, resultados que se consideran de gran importancia en los procesos de elaboración de recubrimientos para alimentos.

CONTACTO: Mayra Chalapud mchalapud@plapiqui.edu.ar
Planta Piloto de Ingeniería Química (PLAPIQUI), Universidad
Nacional del Sur-Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y
Técnicas, Bahía Blanca, Argentina.

2. INTRODUCCIÓN

En la actualidad existe una tendencia en la industria de alimentos hacia el desarrollo de recubrimientos comestibles como alternativa para el uso de empaques sintéticos y que además ayuden a reducir los cambios bioquímicos y de calidad en los productos provocados por la transferencia de vapor de agua entre el alimento y su medio circundante (Debeaufort y Voilley, 1995). Es importante que los recubrimientos sean formulados con componentes capaces de formar una matriz adecuada, cohesiva y continua; la formulación de los mismos a partir de emulsiones, interesante a nivel industrial debido a que involucra pocas operaciones de preparación, se ha venido ampliando y perfeccionando para que cada componente proporcione propiedades funcionales y reduzca al mínimo las desventajas (Debeaufort *et al.*, 1998). La mayoría de los recubrimientos están compuestos por hidrocoloides que brindan integridad estructural y lípidos que aportan buenas propiedades de barrera al vapor de agua (Maftoonazad *et al.*, 2007). Comparaciones hechas por Schultz *et al.* (1949) demostraron que las sustancias hidrófobas más eficientes son los ácidos grasos y las ceras soportadas en pectina de bajo metoxilo. La pectina es uno de los polisacáridos más usados en la formulación de recubrimientos comestibles, es un componente capaz de reducir la tensión superficial entre fases hidrofílicas e hidrofóbicas y aportar eficiencia en la elaboración de emulsiones (Leroux *et al.*, 2003). Las ceras de girasol podrían constituir un material aplicado para mejorar propiedades de barrera al vapor de agua de los recubrimientos elaborados a partir de emulsiones. La estabilidad de las emulsiones es una característica importante para determinar su eficiencia en la obtención de recubrimientos comestibles (Panchev *et al.*, 2009) y se refiere a la habilidad que poseen para resistir cambios en sus propiedades en el tiempo; de esta manera, la emulsión es más estable si sus propiedades fisicoquímicas cambian más lentamente. Los fenómenos de inestabilidad pueden darse debido a procesos físicos y químicos, los procesos físicos resultan en una alteración en la organización estructural de las moléculas como son los fenómenos de sedimentación, cremado, floculación o coalescencia (McClements, 1999). Los dos primeros incluyen migración de partículas y se consideran procesos reversibles y los dos últimos incluyen variación del tamaño de las partículas considerándose irreversibles (Pan *et al.*, 2002; Lemarchand *et al.*, 2003). Las técnicas de microscopía proporcionan información acerca de la estructura, dimensiones y organización de los componentes de las emulsiones. La orga-

nización estructural de las partículas influye en las propiedades de toda la emulsión, y, por lo tanto, en las propiedades de barrera de los recubrimientos elaborados a partir de dichas emulsiones (McHugh y Krochta, 1994).

El objetivo de este trabajo es analizarla estabilidad en el tiempo y la microestructura de emulsiones acuosas de pectinas y ceras de girasol que serán utilizadas como base para producir recubrimientos comestibles para alimentos.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

ELABORACIÓN DE LAS EMULSIONES

Las emulsiones se prepararon hidratando pectina de bajo metoxilo en agua destilada (1, 2 y 3 %m/m) y calentando posteriormente a 85 °C, en un baño de agua por 15 minutos hasta disolución completa. La temperatura fue fijada tal que fuera superior al punto de fusión de las ceras de girasol (80.5 °C), que luego fueron añadidas en las siguientes proporciones: 0,1, 0,2 y 0,3 g cera de girasol/g de pectina. La mezcla fue homogenizada por 10 minutos utilizando un homogenizador Pro 200 (Pro Scientific Inc. Oxford) al 60 % de su potencia y manteniendo la temperatura en 85 °C para evitar la cristalización de las ceras. Se realizaron tres réplicas de cada emulsión.

ESTABILIDAD FISICOQUÍMICA

La estabilidad fue estudiada usando un analizador vertical de barrido TURBISCAN MA 2000. En la mayoría de los ensayos se utilizó sólo el detector backscattering dada la opacidad de las emulsiones. Los parámetros están representados por una curva que muestra el porcentaje de luz BS o T como una función de la altura de la muestra en milímetros. Aproximadamente, 7 mL de cada emulsión se colocaron en tres tubos cilíndricos de fondo plano y se realizaron las mediciones de %BS a temperatura ambiente, cada 15 minutos durante las primeras 3 horas de elaborada la emulsión, y luego a intervalos de tiempo más extensos (45 minutos, 1 h) hasta llegar a medir una vez al día durante aproximadamente 42 días (1008hs). La cinética de desestabilización de las emulsiones se obtuvo mediante el cálculo de la variación en BS como una función del tiempo a la mitad del máximo valor del pico %BS con respecto a la lectura inicial. Para ello se determinaron tres zonas de estudio: zona inferior del tubo (zona I: 6-25 mm), zona media (zona II: 25-60 mm) y zona superior

(zona III: 60-67mm), en las cuales fue posible analizar la cinética de los diferentes fenómenos de desestabilización presentes en cada muestra.

MICROSCOPIA

Una gota de las emulsiones a 80 °C fue colocada entre un portaobjetos y un cubreobjetos y enfriada a temperatura ambiente para ser llevadas al microscopio. Las microfotografías polarizadas fueron obtenidas por triplicado con un lente objetivo 400X con un microscopio Karl Zeiss (modelo Phomi III Pol) con videocámara Leica DFC 280 y software de adquisición Leica IM50. En las tres imágenes de cada muestra se contaron alrededor de 200 partículas, las cuales fueron consideradas como esferas; la medición de su diámetro fue usado para cuantificar el tamaño de los cristales. La determinación del tamaño promedio de los cristales se realizó usando un software para el análisis de imágenes llamado IMAGEJ (versión 1.48, desarrollado por Wayne Rasband, National Institute of Health, USA). El análisis microestructural de las emulsiones se realizó mediante un Microscopio Electrónico de Barrido (VP-SEM) marca LEO, modelo EVO 40 XVP (Inglaterra), para ello las muestras se lavaron con glutaraldehído, se montaron en stubs, se fijaron con cinta adhesiva y luego se recubrieron con oro (300 Å). Las imágenes fueron tomadas con una magnificación de 13000X.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las diferencias significativas se analizaron mediante ANOVA doble y un test de Fisher ($\alpha=0,05$). Se utilizó el software de análisis estadístico InfoStat Versión 2011 (Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

ESTABILIDAD FISICOQUÍMICA

La Figura 1 muestra perfiles de %BS representativos para las emulsiones depectina-cera. En el caso de las emulsiones elaboradas con la concentración más baja de pectina (1% m/m) en el fondo del tubo (zona I 6-25 mm) las señales en aumento de T y BS indicaron la existencia de un fenómeno de sedimentación, donde las partículas migran hacia el fondo, mientras que para las concentraciones mayores de pectina (2 y 3 % m/m), en la misma zona, las partículas tienden a migrar desde

el fondo hasta arriba de la muestra (clarificación) y, por lo tanto, se observa una caída en el BS (picos negativos). En la zona media del tubo (zona II: 25-60 mm), para las tres concentraciones de pectina, la señal de BS se hace cada vez más negativa con el incremento del contenido de ceras, el tamaño de las partículas también aumenta y las ceras empiezan a coalescer. En la parte superior de los tubos (zona III: 60-67 mm) se registra un incremento en BS (cremado, picos positivos). En todas las muestras se visualiza el acoplamiento de múltiples fenómenos de desestabilización.

En la Figura 2(A) y 2(B) se muestran los perfiles de %T y la cinética de sedimentación (zona I: 6-25 mm) para las emulsiones preparadas con la concentración más baja de pectina (1 % m/m). La emulsión preparada con mayor cantidad de ceras (relación 0,3) fue más estable contra el proceso de sedimentación, su cinética es más lenta comparada con las otras relaciones cera/pectina. En la Figura 3 se observa la cinética de clarificación (zona I: 6-25 mm) para las dos concentraciones más altas de pectina (2 y 3 % m/m), a medida que la proporción de ceras incrementa la emulsión tiende a ser más inestable, es decir, la concentración de las partículas disminuye y migran hacia la parte superior. La cinética de coalescencia observada en la zona II (25-60 mm) se presenta en la Figura 4(A). Las emulsiones más estables contra la coalescencia y el incremento del tamaño de partícula son las preparadas con la relación cera/pectina más baja. Lo mismo sucede con el fenómeno de cremado en la parte superior de las muestras (zona III: 60-67 mm), cuya cinética es presentada en la Figura 4(B).

MICROSCOPIA

Las microfotografías de luz polarizada obtenidas para las emulsiones acuosas de pectina y ceras de girasol se muestran en la Figura 5. En todas las emulsiones fue posible observar cristales de cera, con un tamaño que osciló entre 4,2 y 10,5 μm como se muestra en la Tabla 1. Es importante resaltar que el tamaño de partícula de las ceras incorporadas en la emulsión, van a tener una incidencia en la efectividad para reducir la transferencia de vapor de agua una vez que el recubrimiento sea elaborado (Pérez-Gago y Krochta, 2001). McHugh and Krochta (1994) confirmaron que los tamaños de partícula de lípidos en las emulsiones, fueron similares a los encontrados en los recubrimientos ya elaborados a partir de éstas. El tamaño promedio de los cristales aumenta a medida que se incrementa la cantidad de pectina, exceptuando lo encontrado en

la emulsión con 3 % de pectina y relación cera/pectina de 0,3, en donde los cristales fueron más pequeños, con una distribución más uniforme en toda la emulsión aparentemente debido a que la pectina está evitando la aglomeración de los mismos y puede dispersar aún más las partículas. La diferencia de tamaños podría indicar también una diferencia en la morfología de los cristales (Baümler *et al.*, 2013). Las imágenes obtenidas por SEM (Figura 6) permitieron observar en más detalle la microestructura de las emulsiones, en todas las imágenes es posible observar una especie de red, atribuida a la pectina, que dispersa, soporta y distribuye los cristales de cera.

5. CONCLUSIONES

La elaboración de recubrimientos comestibles a partir de emulsiones acuosas de pectina y ceras de girasol constituye una alternativa interesante y funcional. Los fenómenos de desestabilización, cremado y coalescencia, de las emulsiones se presentaron de manera lenta siendo más notorios a proporciones de ceras más altas. En el caso de la sedimentación se observó la tendencia opuesta, siendo su cinética desacelerada por la presencia de ceras. El análisis de las microfotografías reveló una estructura cristalina de las ceras en la emulsión y una buena dispersión atribuida a la capacidad emulsificante de la pectina, lo cual es importante en la permeabilidad posterior del recubrimiento a elaborar.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAÜMLER, E., Carelli, A., & Martini, S. (2013). Physical Properties of Aqueous Solutions of Pectin Containing Sunflower Wax. *J Am Oil Chem Soc.*, 90:791–802.
- DEBEAUFORT, F., & Voilley, A. (1995). Effect of surfactants and drying rate on barrier properties of emulsified edible films. *International Journal of Food Science and Technology*, 30:183-190.
- DEBEAUFORT, F., Quezada-Gallo, J.A., & Voilley, A. (1998). Edible Films and Coatings: Tomorrow's Packagings: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 38(4):299–313.
- LEMARCHAND, C., Couvreur P., Vauthier, C., Costantini, D., & Gref, R. (2003). Study of emulsion stabilization by graft copolymers using the optical analyzer Turbiscan. *International Journal of Pharmaceutics*, 254:77–82.
- LEROUX, J., Langendorff, V., Schick, G., Vaishnav, V., & Mazoyer, J. (2003). Emulsion stabilizing properties of pectin. *Food hydrocolloids*, 17:455-462.

- MAFTOONAZAD, N., Ramaswamy, H., & Marcotte, M. (2007). Evaluation of factors affecting barrier, mechanical and optical properties of pectin-based films using response surface methodology. *Journal of Food Process Engineering*, 30:539–563.
- MCCLEMENTS, D.J. (1999). *Food Emulsions: principles, practice and techniques*. New York: Ed. CRC Press.
- MCHUGH, T., & Krochta, J.M. (1994). Dispersed phase particle size effects on water vapor permeability of whey protein-beeswax edible emulsion films. *Journal Food Processing and Preservation*, 18: 173-188.
- PAN, L.G., Tomás, M.C., & Añón, M.C. (2002). Effect of Sunflower Lecithins on the Stability of Water in Oil (W/O) and Oil in Water (O/W) Emulsions. *J. Surf. and Deterg.*, 5:135-143.
- PANCHEV, I., Nikolova, K.R., & Pashova, S. (2009). Physical characteristics of wax-containing pectin aqueous solutions. *Journal of Optoelectronics and Advanced Materials*, 9:1214-1217.
- PÉREZ-GAGO, M.B., & Krochta, J.M. (2001). Lipid Particle Size Effect on Water Vapor Permeability and Mechanical Properties of Whey Protein/Beeswax Emulsion Films. *J. Agric. Food Chem.*, 49: 996-1002.
- SCHULTZ, T. H., Owens, H. S., & Maclay, W. D. (1949). Permeability of pectinate films to water vapor. *J. Phys. Colloid Chem.*, 53: 1320-1330.

7. TABLAS Y FIGURAS

TABLA 1. Tamaño de partícula de cristales de cera de emulsiones acuosas pectina y ceras de girasol

PECTINA % (p/p)	RELACIÓN CERA/PECTINA (g cera/g pectina)		
	0,1	0,2	0,3
1	4,75 ± 0,16 ^a	4,78 ± 1,45 ^a	5,23 ± 0,65 ^a
2	6,37 ± 2,31 ^a	5,86 ± 1,72 ^a	9,15 ± 0,24 ^a
3	9,44 ± 1,43 ^b	10,51 ± 2,63 ^b	4,13 ± 0,76 ^a

Valores promedios ± desviación estándar, n=3. Valores en la misma fila seguidos por diferentes letras son significativamente diferentes ($p < 0.05$) por el Test de Fisher.

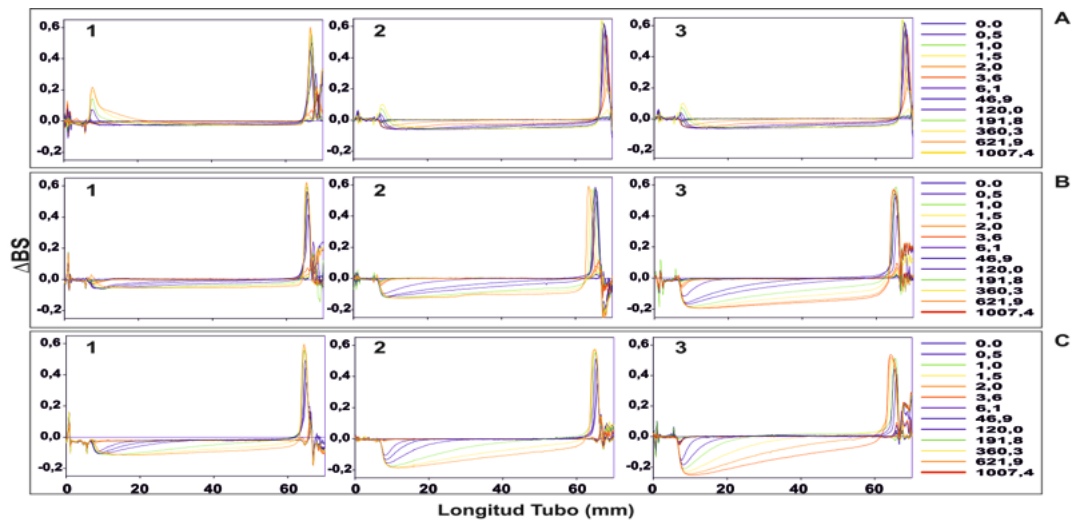


FIGURA 1. Perfiles Delta Backscattering. % Pectina /relación cera a pectina. Figuras A: (1)1/0,1, (2)1/0,2, (3)1/0,3. Figuras B: (1)2/0,1,(2)2/0,2,(3)2/0,3. Figuras C: (1)3/0,1,(2)3/0,2,(3)3/0,3. Escala de tiempo en horas

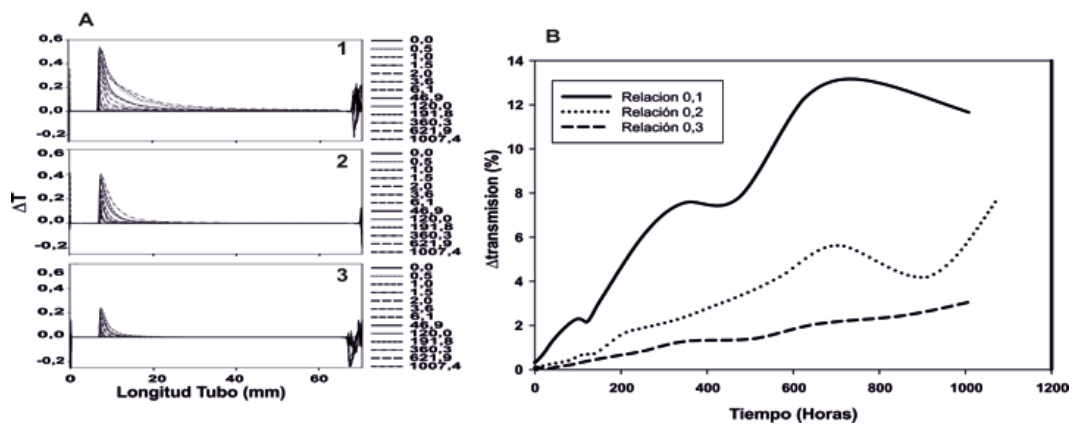


FIGURA 2. Pectina 1%:(A): Perfiles Delta Transmisión: (1) Relación 0,1 (2) Relación 0,2 (3) Relación 0,3. Escala de tiempo en horas. (B): Efecto del agregado de ceras en la cinética de sedimentación %T Zona I (6-25mm)

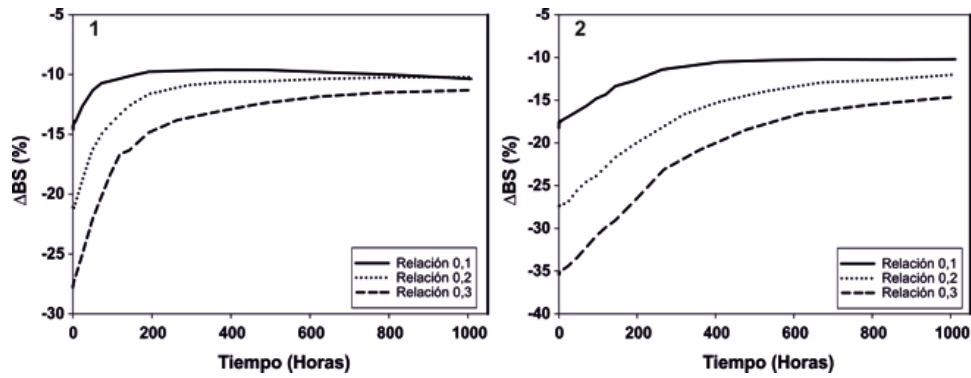


FIGURA 3. Efecto del agregado de ceras en la cinética de clarificación en emulsiones. % BS. Zona I (6-25mm) (1) 2 % m/m pectina (2) 3 % m/m pectina

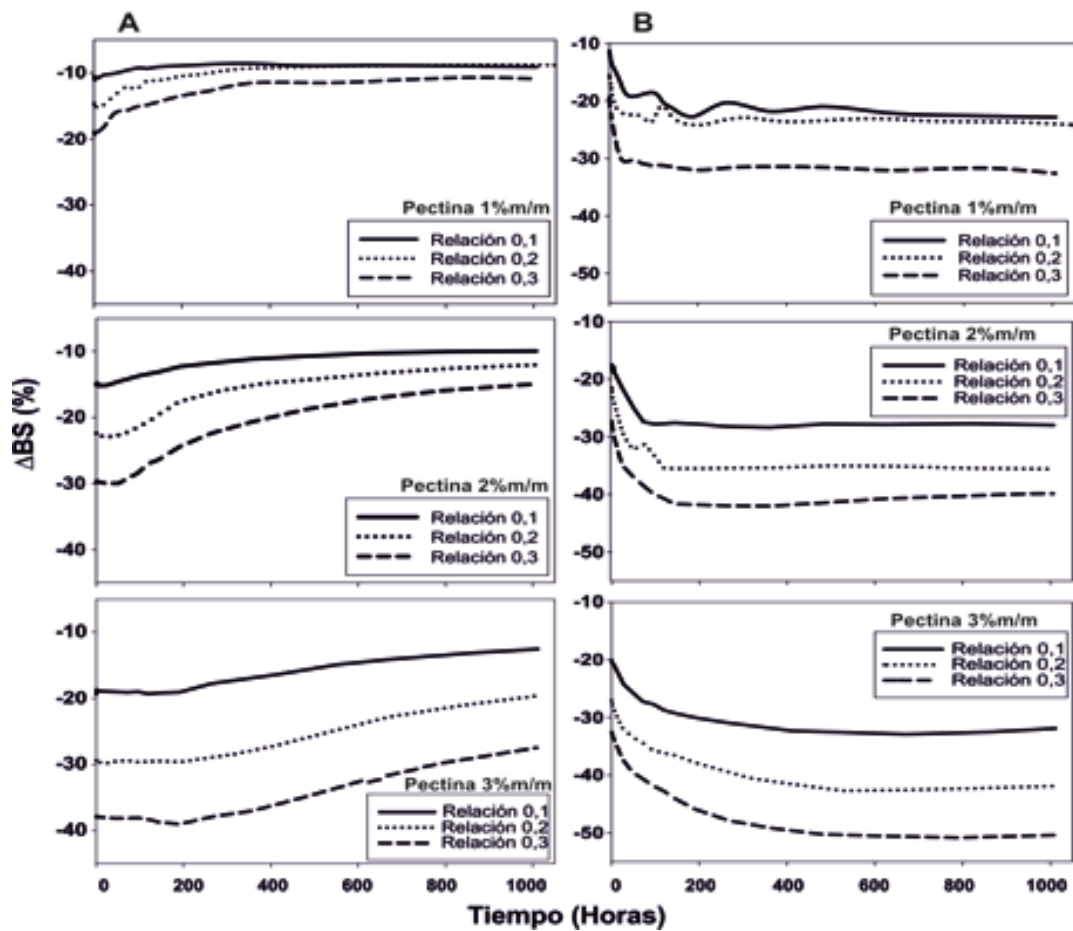


FIGURA 4. (A):Efecto del agregado de ceras en la cinética de coalescencia. %BS Zona II (25-60 mm).(B):Efecto del agregado de ceras en la cinética de cremado. %BS Zona III (60-67 mm)

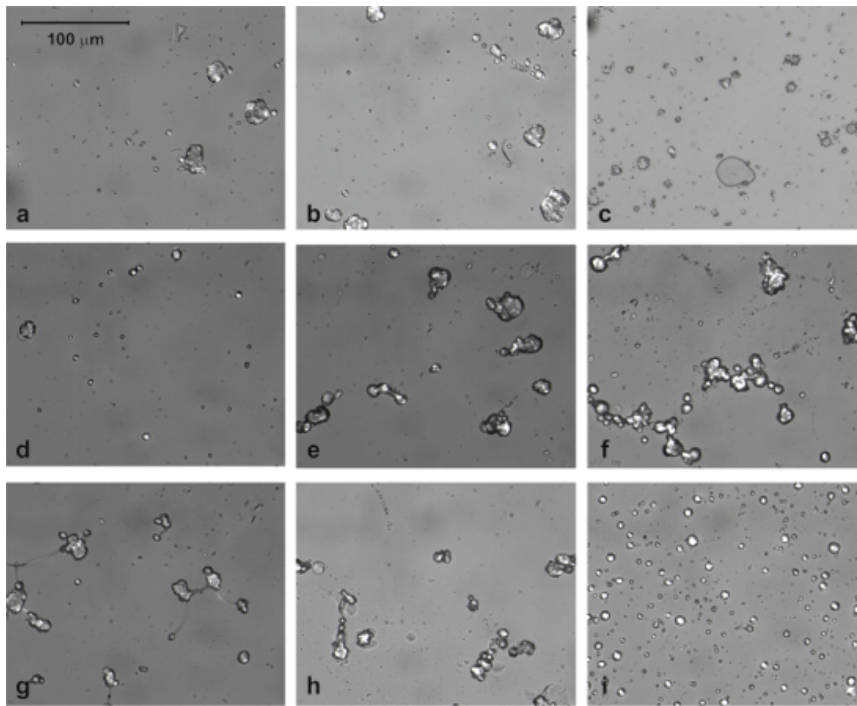


FIGURA 5. Microfotografías de luz polarizada. % Pectina /relación cera a pectina, (a) 1/0,1, (b) 1/0,2, (c) 1/0,3, (d) 2/0,1, (e) 2/0,2,(f) 2/0,3, (g) 3/0,1, (h) 3/0,2,(i) 3/0,3

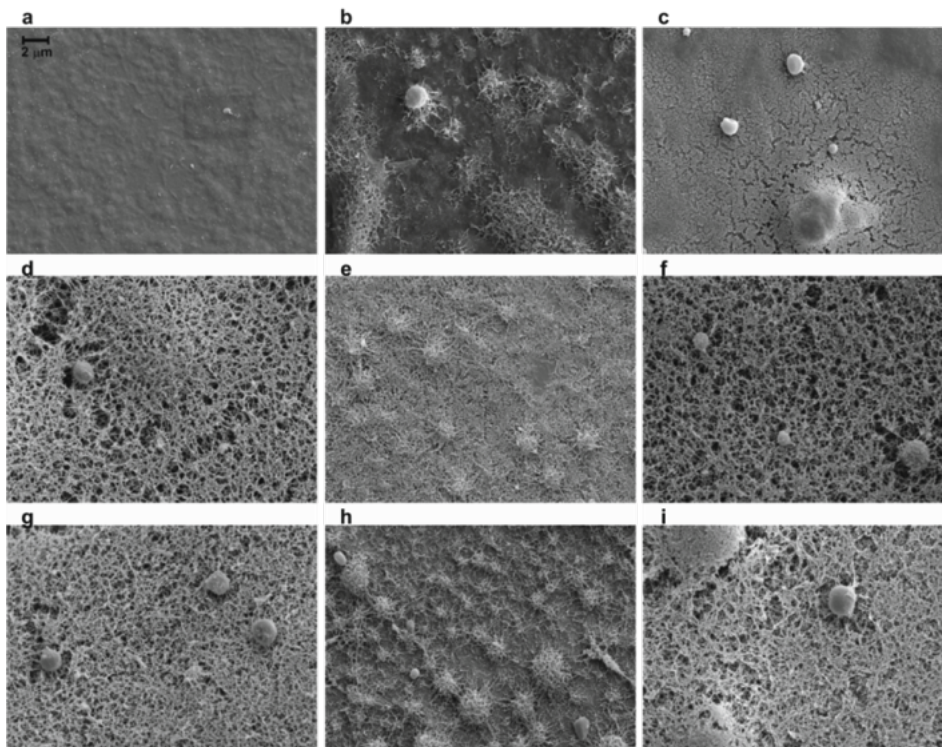


FIGURA 6. Imágenes de microscopía electrónica: % Pectina / relación cera a pectina. (a) 1/0,1, (b) 1/0,2, (c) 1/0,3, (d) 2/0,1, (e) 2/0,2, (f) 2/0,3, (g) 3/0,1, (h) 3/0,2, (i) 3/0,3.

Magnificación 13000X

EFFECTO DEL AGENTE ENCAPSULANTE SOBRE LAS PROPIEDADES FÍSICAS DE LAS EMULSIONES FORMADORAS DE PELÍCULAS QUE CONTIENEN ACEITE DE TOMILLO

Rosa Navarro, Carla Arancibia, Silvia Matiacevich

1. RESUMEN

Una nueva generación de películas comestibles está en desarrollo con el fin de permitir la incorporación y liberación controlada de compuestos bioactivos usando micro-encapsulación. Diferentes compuestos pueden ser usados como agentes encapsulantes en las emulsiones formadoras de películas debido a sus propiedades emulsificantes y estabilizantes. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del agente encapsulante de aceite de tomillo en las propiedades físicas de emulsiones basadas en alginato. Se prepararon seis emulsiones formadoras de películas con aceite de tomillo (0,5 % p/p) como antimicrobiano y alginato (1 % p/p), variando el tipo y la concentración de agente encapsulante: Trehalosa (0,2, 0,4 y 0,6 % p/p) y β -ciclodextrina (0,15, 0,2 and 0,25 % p/p). También, se adicionó sorbitol como plastificante (1 % p/p) y carbonato de calcio (0,02 % p/p) como agente de entrecruzamiento. Los parámetros de color (L^* , a^* y b^*) se obtuvieron mediante análisis de imágenes utilizando un sistema de visión computacional. El comportamiento de flujo se midió en un reómetro de esfuerzo controlado (CarriMed CSL 2100) usando una geometría de platos paralelos. La estabilidad de las emulsiones se caracterizó durante el tiempo de almacenamiento (72h-40 °C) con Turbiscan Classic. En general, se obtuvo que el efecto de la interacción entre el tipo y la concentración de agente encapsulante fue significativa (p -valor $<0,05$) sólo para los valores de a^* , mientras que la concentración afectó significativamente (p -valor $<0,05$) los valores

CONTACTO: Rosa Navarro rosa.navarro@usach.cl

Grupo de Investigación en Propiedades de los Alimentos, Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Facultad Tecnológica, Universidad Santiago de Chile, Obispo Umaña 050, Estación Central, Santiago, Chile.

de los parámetros L^* y a^* . Las muestras mostraron un comportamiento de flujo No-Newtoniano y pseudoplástico, y los factores estudiados no tuvieron un efecto significativo ($p\text{-valor} \geq 0,05$) sobre los valores parámetros de flujo. Respecto a la estabilidad de las emulsiones, se observó que la mayoría de las muestras permanecieron estables a las 48 h, excepto las muestras con las mayores concentraciones de β -ciclodextrina. En conclusión, las propiedades físicas de las emulsiones se vieron afectadas por el tipo y la concentración de agente de encapsulante; sin embargo, nuevos estudios son necesarios para entender como las propiedades físicas afectan la actividad antimicrobiana y características de las películas comestibles.

2. INTRODUCCIÓN

La industria alimentaria se enfrenta regularmente a desafíos relacionados con la preservación de las características de los productos alimenticios, ya sea mediante la optimización de las condiciones del proceso, el uso de conservantes o el desarrollo de sistemas de protección, tales como envases inteligentes, películas y recubrimientos, entre otros (Thakhiew *et al.*, 2010). Una película es una capa fina y continua de material comestible que es aplicada sobre las superficies de los alimentos con el fin de prolongar la vida útil (Ustunol, 2009). Una nueva generación de películas comestibles está en desarrollo permitiendo la incorporación y liberación controlada y/o prolongada de compuestos bioactivos.

Compuestos bioactivos tales como antioxidantes, agentes antimicrobianos, nutrientes y/o aceites esenciales, pueden ser incorporados en las formulaciones de películas comestibles para lograr funcionalidades específicas. Se ha demostrado que el aceite esencial de tomillo y sus compuestos principales, timol y carvacrol, pueden exhibir actividad contra bacterias, mohos y levaduras (Aydin *et al.*, 2005). Además, estos compuestos se adicionan a películas comestibles no sólo para impartir propiedades antimicrobianas y antioxidantes, sino que también para modificar sus propiedades organolépticas (Ustunol, 2009). Sin embargo, la incorporación directa de aceites esenciales no puede realizarse por su hidrofobicidad y/o incompatibilidad con la matriz y/o su alta volatilidad. Es por esto que la encapsulación de dichos compuestos bioactivos podría permitir su incorporación a diferentes matrices alimentarias permitiendo una liberación prolongada durante el almacenamiento.

Los emulsionantes son agentes activos de naturaleza anfílica que interactúan en la interfase lípido-agua y reducen la tensión superficial entre las fases dispersa y continua, para mejorar la estabilidad de la emulsión (Han y Gennadios, 2005). Los emulsionantes más usados en películas comestibles para incorporar aceites esenciales, son los ácidos grasos y monoestearato de sorbitán o polisorbatos (Tween) (Valencia-Chamorro *et al.*, 2011); no obstante, éstos podrían modificar las propiedades físicas y sensoriales de las películas. En este contexto, la β -ciclodextrina surge como una buena opción por su capacidad para encapsular moléculas hidrófobas de tamaño adecuado dentro de su anillo y formar complejos de inclusión (Ponce *et al.*, 2010), así como también, la Trehalosa ya que posee propiedades fisicoquímicas adecuadas para su uso en microencapsulación (Drusch *et al.*, 2006, Álvarez Cerimedo *et al.*, 2008). En base a esto, el objetivo de este trabajo fue evaluar la influencia del tipo y concentración de agente encapsulante sobre las propiedades físicas de emulsiones formadoras de películas basadas en alginato que contienen aceite de tomillo.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

COMPOSICIÓN Y PREPARACIÓN DE LAS PELÍCULAS

Las emulsiones formadoras de películas se prepararon con: alginato de sodio (1 % p/p) (PROTANAL SF120RB, Blumos S.A., Santiago, Chile), aceite esencial de tomillo comercial (0,5 % p/p) (Ambar, Viña del Mar, Chile) como antimicrobiano, sorbitol (1 % p/p) (20/60 DC, Blumos S.A., Santiago Chile) como plastificante, carbonato de calcio (0,02 % p/p) como agente de entrecruzamiento (Winkler Ltda., Santiago, Chile), agua destilada y diferentes agentes encapsulantes: β -ciclodextrina (0,15; 0,2 y 0,25 % p/p) (Sigma Aldrich S.A., Santiago, Chile) y Trehalosa (0,2; 0,4 y 0,6 % p/p) (S-518, Blumos S.A, Santiago Chile).

Las emulsiones formadoras de películas se prepararon disolviendo el alginato de sodio y el agente encapsulante en agua destilada mediante agitación magnética a 40 °C por 30 min. Luego, se adicionó el sorbitol y se agitó por 30 min más. Posteriormente, se adicionó el aceite de tomillo a la fase acuosa y se homogeneizó durante 1 min a 10000 rpm con un dispersor (UltraTurrax, IKA-T45S7 básico, Staufen, Alemania). Por último, se adicionó el carbonato de calcio y se agitó hasta disolución total por aproximadamente 30 min.

MEDIDAS DE COLOR

El color de las emulsiones se determinó mediante análisis de imágenes obtenidas utilizando un equipo de visión computacional, el cual consiste en una caja negra con 4 tubos de luz natural (D65) de 18 W (Philips) y una cámara digital de alta resolución (Canon Powershot G3 14MP, Japón), colocados en posición vertical a 22,5 cm de las muestras. Las imágenes se adquirieron de forma remota, a las mismas condiciones sobre fondo blanco, usando el programa EOS Utility v10.0 (Canon, USA). Los valores de los parámetros CIELAB: L* (claridad), a* (componente rojo-verde) y b* (componente amarillo-azul) se determinaron utilizando el convertidor de color de ProWeb (Hewlett-Packard Development Co., L.P, USA) y el programa Adobe Photoshop®CS3 (Adobe Systems Inc., 2007). (Vásquez *et al.*, 2013)

COMPORTAMIENTO DE FLUJO

Las medidas de las emulsiones se realizaron con un reómetro de esfuerzo controlado (Carri Med, CSL2 100, TA Instruments, Inglaterra) utilizando la geometría de platos paralelos de 4 cm de diámetro y un espacio de 1,5 mm entre platos. Todas las medidas se hicieron a 25 ± 1 °C y antes de cada medida, las muestras se dejaron reposar durante 3 min en el reómetro para que recuperaran la estructura y alcanzaran la temperatura del ensayo. Las mediciones se hicieron por triplicado y se prepararon al menos dos lotes de cada formulación.

Para caracterizar el flujo de las muestras, se registraron los valores del esfuerzo de cizalla durante un ciclo completo de cizalla, primero a gradientes de velocidad de deformación crecientes (1 a 200 s^{-1}) y después, decrecientes (200 a 1 s^{-1}) en un tiempo total de 240 s. Los datos de la curva ascendente se ajustaron al modelo de Ostwald-de Waele (Ecuación 1).

$$\sigma = K\dot{\gamma}^n \quad (1)$$

donde: σ =esfuerzo de cizalla (Pa); $\dot{\gamma}$ = gradiente de velocidades (s^{-1}); K=índice de consistencia (Pa s^n) y n=índice de flujo (Rao, 2007).

ESTABILIDAD DE LAS EMULSIONES

La estabilidad de las emulsiones se caracterizó con el analizador automático de estabilidad de dispersiones y coloides Turbiscan Classic (Formulation, USA). Las mediciones fueron realizadas inmediatamente después de la formación de la emulsión y a diferentes tiempos de almacenamientos (0, 3, 6, 24, 48 y 72 h) a 40 °C.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Un análisis de la varianza (ANOVA) de dos factores (tipo y concentración de agente encapsulante) se realizó para determinar el efecto de los factores y su interacción sobre los valores de los parámetros de color y flujo. Un test de Tukey con un nivel de significancia del 5 %, se utilizó para determinar las diferencias mínimas significativas entre las muestras. Todos los cálculos se realizaron con el software XLSTAT Pro, versión 2009 (Addinsoft, París, Francia).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

MEDIDAS DE COLOR

Los resultados del ANOVA de dos factores mostraron que la concentración de agente encapsulante afectó significativamente ($p\text{-valor}<0,05$) los valores de los parámetros de claridad (L^*) y del componente rojo (a^*) (Tabla 1). Así también, la interacción entre el tipo y la concentración de encapsulante tuvo un efecto significativo ($p\text{-valor}<0,05$) sobre los valores de a^* . Esta interacción indicó que el efecto de la concentración fue diferente dependiendo del tipo de agente encapsulante. La mayoría de las muestras no se diferenciaron significativamente en el parámetro de claridad (L^*), excepto las muestras con 0,4 % Trehalosa y 0,25 % β -ciclodextrina. Respecto al parámetro a^* , se obtuvo que al aumentar la concentración de Trehalosa los valores de a^* aumentaron; sin embargo, este efecto no fue tan claro en las emulsiones con β -ciclodextrina (Tabla 2). Finalmente, el componente amarillo (b^*) de las muestras no varió significativamente con el tipo y la concentración de encapsulante.

COMPORTAMIENTO DE FLUJO

En la Figura 1 se muestran las curvas de flujo de las emulsiones formadoras de película con β -ciclodextrina (1a) y Trehalosa (1b). Todas las muestras presentaron un ligero comportamiento No-newtoniano y pseudoplástico con valores de índice de flujo que variaron entre 0,89 y 0,91. Las curvas de flujo experimentales de subida se ajustaron bien al modelo de Ostwald-de Waele ($R^2>0,99$). El análisis de la varianza (ANOVA) de los parámetros de flujo mostró que tanto la concentración como el tipo de agente encapsulante, así como su interacción, no tuvieron un efecto significativo ($p\text{-valor}\geq 0,05$) sobre los valores del índice de flujo y de la consistencia. En

general, las muestras con β -ciclodextrina presentaron menores valores de consistencia ($\sim 0,12 \text{ Pa s}^n$) y mayores de índice de flujo (0,90-0,91) que las muestras con Trehalosa (0,11-0,12 Pa s^n y $\sim 0,89$; respectivamente).

ESTABILIDAD

Las diferentes muestras permanecieron estables durante las primeras 48 h de almacenamiento a 40°C , excepto aquellas que contenían 0,2 y 0,25 % β -Ciclodextrina, que presentaron sedimentación. A las 72 h, la mayoría de las emulsiones exhibió algún fenómeno de desestabilización, que dependió del tipo de encapsulante. A modo de ejemplo, en la Figura 2, se presentan las gráficas del cambio en la dispersión de luz de las emulsiones con 0,25 % β -Ciclodextrina y 0,6 % Trehalosa, que mostraron distintos fenómenos de desestabilización, durante el almacenamiento. En el caso de la muestra con β -ciclodextrina (Figura 2a), se observó la sedimentación de las gotas de aceite (primer *peak*) a las 48 h, lo que indicó una completa desestabilización de la emulsión. La muestra con Trehalosa, en cambio, presentó un *peak* a las 72 h que correspondió a la separación gravitacional de las fases de la emulsión por cremado.

Todas emulsiones presentaron una variación de la retrodispersión (% *Backscattering*) durante el tiempo de almacenamiento, lo cual pudo ser debido al aumento del tamaño de las gotas de aceite por floculación o coalescencia. Un aumento en el tamaño de partícula causa una disminución de la retrodispersión de acuerdo con la teoría de dispersión de luz múltiple (Mengual *et al.*, 1999). Con el objetivo de comparar la variación del tamaño de las partículas se calculó la diferencia del % de retrodispersión final respecto a la inicial del tiempo de almacenamiento, en función de la longitud del tubo de medición (25-50 mm). En general, los resultados mostraron un comportamiento distinto al aumentar la concentración del encapsulante. En las muestras con β -Ciclodextrina se observó un aumento de la variación del porcentaje de retrodispersión (1,94-6,61 %) con el incremento de la concentración; mientras que, en las muestras con Trehalosa no se observó una variación considerable (8,08-6,86 %), aunque la magnitud de ésta fue mayor. Estos resultados podrían explicar los fenómenos de desestabilización observados, ya que un aumento en el tamaño de gota favorece la sedimentación o el cremado de las gotas de aceite.

5. CONCLUSIONES

El tipo y concentración de encapsulante tuvo un efecto sobre la mayoría de los parámetros de color, pero no sobre de flujo. Las emulsiones formadoras de películas permanecieron estables durante 48 h y presentaron diferentes fenómenos de desestabilización dependiendo del tipo de encapsulante. Nuevos estudios son necesarios para entender como las propiedades físicas afectan la liberación prolongada del aceite de tomillo y las características de las películas comestibles durante el tiempo de almacenamiento.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el financiamiento otorgado a la VRIDEI-USACH, Beca Doctorado Conicyt 21130785, Fondecyt Postdoct 3150537 y Fondecyt Regular 1160463.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ÁLVAREZ CERIMEDO, M., Cerdeira, M., Candal, R., Herrera, M. (2008). Microencapsulation of a Low-trans fat in trehalose as affected by emulsifier type. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 85, 797–807.
- AYDIN, S., Basaran, AA. and Basaran, N. (2005). The effects of thyme volatiles on the induction of DNA damage by the heterocyclic amine IQ and mitomycin C. *Mutat Res* 581, 43–53.
- DRUSCH, S., Serfert, Y., Van Den Heuvel, A. and Schwarz, K. (2006). Physicochemical characterization and oxidative stability of Wsh oil encapsulated in an amorphous matrix containing trehalose. *Food Research International* 39, 807–815.
- HAN, J. and Gennadios, A. (2005). Edible films and coatings: a review, in: (Eds.), *Innovations in food packaging*. Elsevier Academic Press, Amsterdam, 239-262.
- MENGUAL, O., Meunier, G., Cayre, I., Puech, K. and Snabre, P. (1999). Characterisation of instability of concentrated dispersions by a new optical analyser: TheTURBISCAN MA 1000. *Colloids and Surfaces A* 152, 111–123.
- PONCE, P., Buera, M. and Elizalde, B. (2010). Encapsulation of cinnamon and thyme essential oils components (cinnamaldehyde and thymol) in b-cyclodextrin: Effect of interactions with water on complex stability. *Journal of Food Engineering* 99, 70–75.
- RAO, M.A. 2007. Flow and functional models for rheological properties of fluid foods. En: Barbosa-Cánovas, G.V. (ed.), *Rheology of fluid and semisolid foods*, Springer, New York, 27-58.

- THAKHIEW, W., Devahastin, S., Soponronnarit, S. (2010). Effects of drying methods and plasticizer concentration on some physical and mechanical properties of edible chitosan films. *Journal of Food Engineering* 99, 216–224.
- USTUNOL, Z. (2009). Edible Films and Coatings for Meat and Poultry. In, Embuscado, M. and Huber, K. Edible films and coating for food applications. Chapter 2, New York, Springer, 245-250.
- VALENCIA-CHAMORRO, S., Palou, L., Rio, M., Pérez-Gago, M. (2011). Antimicrobial edible films and coatings for fresh and minimally processed fruits and vegetables: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 51, 872-900.
- VÁSQUEZ, C., Díaz-Calderón, P., Enrione, J., Matiacevich, S. (2013). State diagram, sorption isotherm and color of blueberries as a function of water content. *Thermochemica Acta* 570, 8–15.

7. TABLAS Y FIGURAS

TABLA 1. Análisis de la Varianza Multifactorial (ANOVA) de los parámetros de color de las diferentes emulsiones formadoras de películas basadas en alginato. Valores de los estadísticos

F y p

PARÁMETROS DE COLOR	EFECTOS PRINCIPALES				INTERACCIÓN	
	A: Tipo de encapsulante		B: Concentración de encapsulante		AXB	
	<i>F-calculado</i>	<i>p-valor</i>	<i>F-calculado</i>	<i>p-valor</i>	<i>F-calculado</i>	<i>p-valor</i>
L*	1,37	0,26	8,54	<0,01	0,71	0,50
a*	0,03	0,87	10,03	<0,01	7,67	<0,01
b*	1,26	0,28	0,02	0,98	1,46	0,26

TABLA 2. Valores medios de los parámetros de color de las emulsiones formadoras de películas con diferente tipo y concentración de agente encapsulante

Tipo de encapsulante	Concentración de encapsulante (%p/p)	Parámetros de Color		
		L*	a*	b*
β-Ciclodextrina	0,15	67,40 ^{ab}	5,13 ^{bc}	-9,17 ^a
	0,2	66,78 ^{ab}	4,67 ^a	-8,68 ^a
	0,25	67,96 ^b	5,04 ^c	-9,32 ^a
Trehalosa	0,2	67,53 ^{ab}	4,89 ^{ab}	-8,68 ^a
	0,4	66,27 ^a	5,09 ^{ab}	-9,05 ^a
	0,6	67,47 ^{ab}	5,19 ^{bc}	-8,39 ^a

Valores medios de cada parámetro con superíndices de letra común no difieren significativamente ($p \geq 0,05$) (Test de Tukey).

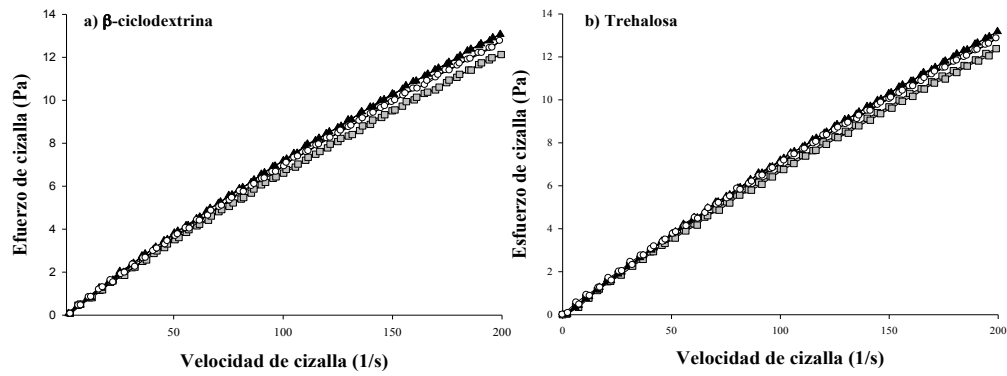


FIGURA 1. Curvas de flujo de las emulsiones formadoras de película con diferente tipo y concentración de agente encapsulante. (a) β-ciclodextrina: ■=0,15 %, ▲=0,2 % y ○=0,25 %; (b) Trehalosa: ■=0,2 %, ▲= 0,4 % y ○=0,6 %).

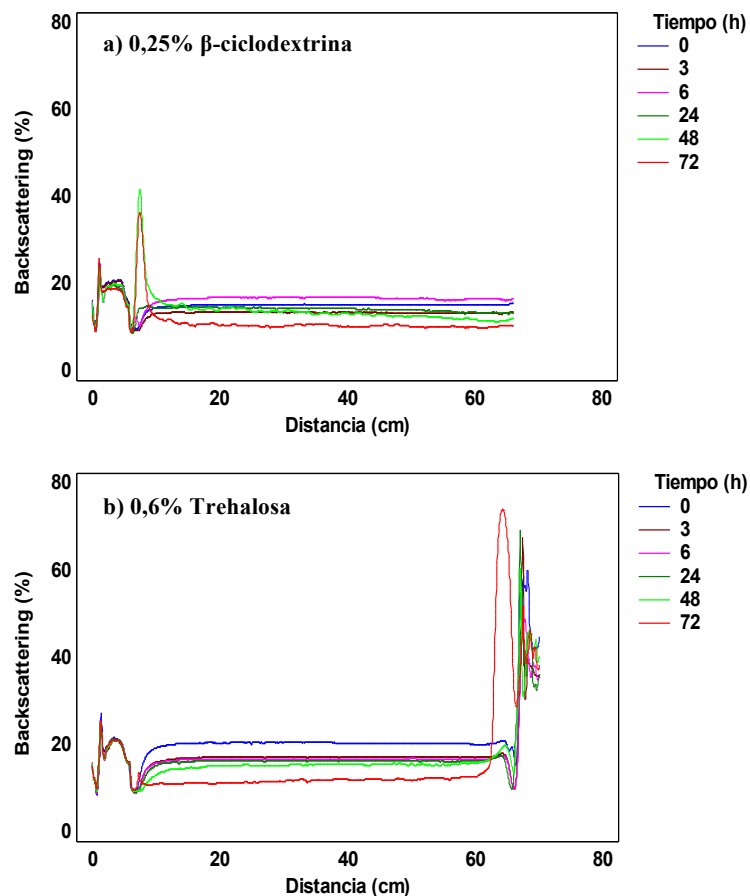


FIGURA 2. Cambios en los perfiles de retrodispersión en las emulsiones preparadas con 0,25 % de β-ciclodextrina (a) y 0,6 % Trehalosa (b), en función de la longitud del tubo de medición y a través del tiempo de almacenamiento a 40 °C

EFFECTO DE UNA ENTEROCINA, QUITOSANO Y LACTATO DE SODIO SOBRE EL CRECIMIENTO DE *SHEWANELLA PUTREFACIENS*: FORMULACIÓN DE MODELOS PREDICTIVOS

Laura Inés Schelegueda^{1,2}, Aldana Zalazar^{1,2}, María Fernanda Gliemmo^{1,2}, Marisol Vallejo³, Emilio Rogelio Marguet³, Carmen Adriana Campos^{1,2}

1. RESUMEN

Se estudió el efecto de una bacteriocina producida por *Enterococcus mundtii* ETW56 en combinación con quitosano y lactato de sodio (LS), sobre dos parámetros que caracterizan el crecimiento de *Shewanella putrefaciens*. Se construyeron curvas de crecimiento en caldo Mueller Hinton con pH 5,50, adicionado con los preservadores y almacenado 24 horas a 30 °C. Aplicando el modelo Logístico se obtuvo la velocidad de crecimiento (μ) y la absorbancia correspondiente al máximo crecimiento alcanzado (Abs_{max}). Ambos parámetros fueron analizados aplicando un modelo factorial. Dos curvas de crecimiento adicionales fueron utilizadas para validar los modelos de regresión. Los datos fueron ajustados al modelo Logístico satisfactoriamente. Del diseño factorial se obtuvieron ecuaciones que modelan los valores predichos para μ y Abs_{max} en función de la concentración de los preservadores. La presencia de la enterocina redujo la μ y Abs_{max} de *S. putrefaciens*. El agregado de quitosano y LS no afectó ninguno de los parámetros mencionados. El uso conjunto de los tres preservadores redujo la μ , pero no afectó la Abs_{max} . Los parámetros de las curvas de crecimiento utilizados para la validación fueron semejantes a los calculados a partir de las ecuaciones predictivas. De los resultados expuestos se desprende

CONTACTO: Carmen Adriana Campos carmen@di.fcen.uba.ar

1. Departamento de Industrias, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA, Argentina.

2. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Argentina.

3. Cátedra de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco, Argentina.

que la combinación de preservadores actuó cooperativamente en la inhibición de *S. putrefaciens* y que los modelos obtenidos lograron describir satisfactoriamente el comportamiento de los sistemas.

2. INTRODUCCIÓN

La biopreservación se basa en la extensión de la vida útil y el aumento de la seguridad de un alimento a través del uso de bacterias, o de la acción antimicrobiana de alguno de sus metabolitos (Tomé, Gibbs y Teixeira, 2008). Su uso en alimentos puede ayudar a reducir la adición de preservadores químicos así como también la intensidad de los tratamientos térmicos. Dentro de los microorganismos que pueden ser utilizados para la biopreservación, se destacan las bacterias ácido lácticas (BAL). Estas comprenden un grupo de bacterias Gram positivas, no formadoras de esporas, catalasa negativas, capaces de fermentar carbohidratos y producir ácido láctico como producto mayoritario (Calo-Mata *et al.*, 2008). La acción inhibitoria de las BAL reside en su capacidad para competir con la flora nativa por nutrientes específicos, así como en su capacidad para producir otros compuestos inhibitorios, entre los que se destacan el ácido propiónico, el ácido fórmico, ácidos grasos libres, etanol, peróxido de hidrógeno, diacetilo, acetoína, 2,3-butanodiol, acetaldehído, enzimas bacteriolíticas y bacteriocinas (Tomé, Teixeira y Gibbs, 2006). Las bacteriocinas constituyen un grupo heterogéneo de moléculas proteicas o polipéptidos, de síntesis ribosomal, capaces de inhibir el desarrollo de otras bacterias taxonómicamente próximas a la célula productora (Deegan *et al.*, 2006). Poseen una actividad antimicrobiana muy potente y por su naturaleza química, pueden considerarse como preservadores naturales. Han atraído la atención como potencial sustituto de preservadores químicos de alimentos, porque son producidas por bacterias consideradas benéficas para la salud y empleadas desde la antigüedad en la producción de alimentos. Las bacteriocinas purificadas o semipurificadas pueden ser utilizadas para controlar el crecimiento de ciertos microorganismos deteriorativos y de algunos patógenos. Las bacteriocinas producidas por BAL son reconocidas como sustancias GRAS, no son tóxicas para las células eucariotas, son degradadas por las proteasas del tracto gastrointestinal durante el proceso de digestión, pueden soportar tratamientos térmicos durante el procesamiento de los alimentos, poseen actividad inhibitoria sobre bacterias deteriorativas y patógenas presentes en alimentos

(García, Rodríguez, Rodríguez y Martínez, 2010). En particular, las producidas por el género *Enterococcus* se conocen con el nombre de enterocinas. Son pequeños péptidos termoestables sin modificaciones postraduccionales. Algunas ventajas de las enterocinas frente a otras bacteriocinas son su estabilidad en condiciones extremas, su actividad a bajas temperaturas durante largos periodos de tiempo, y su estabilidad al calor. Estudios anteriores han reportado que la acción antimicrobiana de las bacteriocinas puede verse incrementada si se combinan con otros factores de preservación.

Shewanella putrefaciens representa una de las principales especies microbianas causantes del deterioro del pescado (Gram *et al.*, 2002; Dalgaard, 1995). Se trata de una bacteria Gram negativa, psicrófila, que puede encontrarse en pescados de agua fría o templada, almacenados en condiciones aeróbicas y de refrigeración (Skjerdal, Lorentzen, Tryland y Berg, 2004). El músculo de pescado provee un ambiente favorable donde *S. putrefaciens* puede multiplicarse y producir metabolitos con intensos olores que hacen que el alimento pierda calidad y sea rechazado por el consumidor.

En base a lo comentado, se determinó el efecto de la presencia de una bacteriocina producida por *Enterococcus mundtii* ETW56 y de quitosano y lactato de sodio (LS), sobre la velocidad de crecimiento (μ) y la absorbancia correspondiente al máximo crecimiento alcanzado (Abs_{max}) de *S. putrefaciens*. Estos parámetros se estimaron a partir del modelado de las curvas de crecimiento de dicho microorganismo en caldo Mueller Hinton con pH 5,50 almacenado a 30 °C.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Cepas bacterianas y elaboración de los inóculos

Se trabajó con *E. mundtii* ETW56, bacteria ácido láctica aislada del medio marino patagónico. Previamente, se determinó que *E. mundtii* ETW56 produce una bacteriocina identificada como mundticina KS. Como cepa indicadora se utilizó *S. putrefaciens* ATCC 8071, representando la flora deteriorativa usualmente aislada de pescado. Las bacterias fueron conservadas a -30 °C. Antes de su uso, cada bacteria fue inoculada en caldo MRS o Mueller Hinton (Biokar Diagnostics, Francia) y almacenada a 30 °C durante 18 horas. En el caso de *E. mundtii* ETW56, se realizaron cuatro pasajes sucesivos del inóculo a caldo MRS fresco y se repitió el procedimiento de incubación, maximizando de esta manera la producción de bacteriocina. *S. putrefaciens* fue repicada dos veces.

Obtención del sobrenadante libre de células

Con el objetivo de estudiar la actividad antimicrobiana de la mundticina KS, se procedió a obtener el sobrenadante libre de células (SLC) de *E. mundtii* ETW56. Para ello, se centrifugó el cultivo a 6000 rpm, durante 10 minutos. Al sobrenadante obtenido se le ajustó el pH a 5,50 utilizando NaOH 0,4M. Luego, se calentó a 100 °C durante 5 minutos y se esterilizó por filtración.

Agentes antimicrobianos

Se prepararon soluciones madre de los antimicrobianos estudiados. En el caso de quitosano (Sigma, Estados Unidos), se preparó una solución de 10000 ppm. Para ello, se dispersó en forma de lluvia sobre una solución acuosa de ácido acético 1,0 % m/m (Anedra S.A., Buenos Aires, Argentina) bajo una leve agitación. Luego, se ajustó el pH a 5,50 agregando cuantitativamente una solución de NaOH 0,4M. Para la solución de LS, se agregó cuantitativamente ácido cítrico 10,0 % m/m a una solución comercial de LS al 55,3 % m/m (Parfarm, Buenos Aires, Argentina) hasta alcanzar un valor de pH de 5,50. Ambas soluciones fueron esterilizadas en autoclave a 121 °C durante 15 minutos.

Elaboración de los sistemas y construcción de las curvas de crecimiento

Los sistemas se formularon de acuerdo a la Tabla 1. Los antimicrobianos fueron dispensados en caldo Mueller Hinton con pH 5,50 previamente esterilizado. Para obtener las curvas de crecimiento, se dispensaron 90 µl de cada sistema en los pocillos de una microplaca estéril. Luego se agregaron 10 µl de un inóculo de 10⁶ UFC/ml de *S. putrefaciens*. Además, se incluyó un control negativo y uno positivo, siendo el primero caldo Mueller Hinton sin inocular, y el último caldo Mueller Hinton inoculado y libre de antimicrobianos. La microplaca se incubó a 30 °C durante 24 horas en un lector de microplacas comandado por el programa Gen5 (Reader Control and Data Analysis Software, BioTek Instruments, ELx808, Estados Unidos). Durante la incubación a 30 °C, luego de una leve agitación, se midió la absorbancia a 600 nm de cada uno de los pocillos cada 1 hora. La absorbancia de los controles negativos fue utilizada como blanco. El estudio se realizó por duplicado.

Diseño experimental

Para determinar el efecto del SLC de *E. mundtii* ETW56 y de las mezclas de quitosano y LS sobre las curvas de crecimiento de *S. putrefaciens*, se construyó un diseño factorial, en dos bloques, con dos variables a dos niveles (2^2). Los códigos de las variables estudiadas y sus niveles se muestran en la Tabla 1. Los sistemas resultantes del diseño experimental se muestran en la Tabla 2.

Modelado de las curvas de crecimiento y análisis de los datos

Las curvas de crecimiento obtenidas se modelaron aplicando el modelo Logístico:

$$Abs_t = Abs_{min} + \frac{Abs_{max} - Abs_{min}}{1 + \exp[-\mu(t - t_i)]} \quad \text{Ecuación 1}$$

donde Abs_t es la absorbancia al tiempo t (variable dependiente); Abs_{min} y Abs_{max} son los valores asintóticos, mínimos y máximos de absorbancia, respectivamente; μ es la velocidad de crecimiento; y t_i es el tiempo al cual se observa el punto de inflexión de la curva.

Luego, los valores de μ y Abs_{max} fueron analizados aplicando el diseño factorial citado en la sección anterior, cuyo modelo de regresión se muestra en la Ecuación 2.

$$y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_{12} x_1 x_2 + \varepsilon \quad \text{Ecuación 2}$$

donde y simboliza la μ o la Abs_{max} ; x_1 y x_2 son las variables de estudio (concentración SLC y concentración de la mezcla de quitosano y LS, respectivamente); β_0 , el término de intersección; β_1 y β_2 , los coeficientes lineales, β_{12} , el coeficiente de interacción y ε , el error.

Validación de los modelos de regresión

Con el propósito de validar el modelo de regresión de cada parámetro obtenido a partir del diseño factorial, se formularon 2 sistemas adicionales (Tabla 2) y se compararon los resultados observados con los predichos. Para ello, se construyeron las curvas de crecimiento según la metodología ya detallada y en cada caso se calculó la μ y la Abs_{max} aplicando el modelo Logístico.

Análisis estadístico de los datos

Los datos obtenidos de las curvas de crecimiento de *S. putrefaciens* fueron ajustados al modelo Logístico aplicando una regresión no lineal. La formulación de los modelos predictivos se realizó mediante regresiones lineales múltiples. La creación del diseño y el análisis estadístico fue realizado mediante el empleo del programa Statgraphics (Statgraphics Plus for Windows, versión 5.1, 2001, Estados Unidos). La significatividad estadística fue evaluada a un nivel de 5 % ($\alpha=0,05$).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Modelado de las curvas de crecimiento

Se estudió el efecto que causa la presencia del SLC de *E. mundtii* ETW56, quitosano y LS sobre dos de los parámetros que caracterizan la curva de crecimiento de *S. putrefaciens*. Todas las curvas de crecimiento fueron ajustadas satisfactoriamente al modelo Logístico (Figura 1). Los valores de R^2 (coeficiente de determinación) ajustado se encontraron entre 97,6 y 99,9, y los de RSME (raíz del error cuadrático medio), entre 0,008 y 0,021.

Ajuste de los parámetros de crecimiento al modelo de regresión lineal

Los datos obtenidos fueron ajustados al modelo de regresión expuesto anteriormente (Ecuación 2). De esta manera se obtuvieron los valores predichos para μ y Abs_{max} en función de la concentración de SLC y de la mezcla de quitosano y LS, respectivamente. Los valores p obtenidos para cada factor, los coeficientes de regresión y los valores de R^2 ajustado se muestran en la Tabla 3.

En ambos casos, las ecuaciones obtenidas permitieron diferenciar los factores que afectan cada parámetro de crecimiento. La presencia del SLC conteniendo la bacteriocina de *E. mundtii* ETW56 redujo la μ y Abs_{max} de *S. putrefaciens* (Tabla 3). Cabe destacar que la bacteriocina producida por *E. mundtii* ETW56 logró afectar el desarrollo de una bacteria Gram negativa. Este tipo de bacterias suelen ser más resistentes a la acción antimicrobiana de las bacteriocinas debido a la protección que les confiere la membrana externa (Deegan *et al.*, 2006). Probablemente, el ácido cítrico usado para ajustar el pH a 5,50 haya desestabilizado dicha membrana, facilitando así la acción de la enterocina.

El uso de la mezcla de quitosano y LS no afectó significativamente ninguno de los parámetros mencionados, probablemente, los niveles de preservadores utilizados fueron demasiado bajos como para producir inhibición del crecimiento de *S. putrefaciens*. El agregado de quitosano y LS al SLC redujo levemente la μ , sin embargo la Abs_{max} no resultó menor que la obtenida cuando se utilizó el SLC individualmente (Tabla 3).

Validación de los modelos de regresión

En la Tabla 4 pueden observarse los valores experimentales y los valores predichos de μ y Abs_{max} de los sistemas utilizados para la validación. Los valores medidos fueron obtenidos de la aplicación del modelo Logístico a cada curva experimental, mientras que los predichos fueron calculados a partir de los términos significativos del modelo de regresión correspondiente en cada caso (Tabla 3). Cabe destacar que en todos los casos los valores de μ y Abs_{max} observados se encontraron dentro de los intervalos de confianza predichos. Estos resultados sugieren que los modelos obtenidos logran describir el comportamiento de los sistemas de una manera satisfactoria.

5. CONCLUSIONES

De los resultados expuestos se desprende que la presencia de la mundticina KS contenida en el SLC de *E. mundtii* ETW56 redujo significativamente el crecimiento de *S. putrefaciens* en sistemas modelo acuosos. Su combinación con quitosano y LS, produjo un ligero descenso de la μ , pero no modificó la Abs_{max} . En ningún caso se observaron efectos antagónicos entre los factores estudiados. Además, los modelos obtenidos lograron describir el comportamiento de los sistemas satisfactoriamente. Para una futura aplicación, la acción antimicrobiana del SLC contra *S. putrefaciens* debería ser estudiada en pescado u otros productos de la pesca.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CALO-MATA, P., Arlindo, S., Boehme, K., de Miguel, T., Pascoal, A., y Barros-Velázquez, J. (2008). Current applications and future trends of lactic acid bacteria and their bacteriocins for the biopreservation of aquatic food products. *Food Bioprocess Technology*, 1, 43-63.
- DEEGAN, L. H., Cotter, P. D., Hill, C., y Ross, P. (2006). Bacteriocins: Biological tools for biopreservation and shelf-life extension. *International Dairy Journal*, 16, 1058-1071.

- GARCÍA, P., Rodríguez, L., Rodríguez, A., y Martínez, B. (2010). Food biopreservation: promising strategies using bacteriocins, bacteriophages and endolysins. *Trends in Food Science & Technology*, 21, 373-382.
- TOMÉ, E., Gibbs, P. A., y Teixeira, P. C. (2008). Growth control of *Listeria innocua* 2030c on vacuum-packaged cold-smoked salmon by lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 121, 285-294.
- TOMÉ, E., Teixeira, P., y Gibbs, P. A. (2006). Anti-listerial inhibitory lactic acid bacteria isolated from commercial cold smoked salmon. *Food Microbiology*, 23, 399-405.
- SKJERDAL, O. T., Lorentzen, G., Tryland, I., y Berg, J. D. (2004). New method for rapid and sensitive quantification of sulphide-producing bacteria in fish from arctic and temperate waters. *International Journal of Food Microbiology*, 93(3), 325-333.
- GRAM, L., Ravn, L., Rash, M., Bartholin Bruhn, J., Christensen, A. L., y Givskov, M. (2002). Food spoilage - interactions between food spoilage bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 78, 79-97.
- DALGAARD, P. (1995). Qualitative and quantitative characterization of spoilage bacteria from packed fish. *International Journal of Food Microbiology*, 26, 319-333.

7. TABLAS Y FIGURAS

TABLA 1. Composición de los sistemas

Variable independiente	Código de la variable	Código del nivel	
		-1	+1
SLC de <i>E. mundtii</i> ETW56 (dil.)	α_1	0*	32 ⁻¹
Mezcla quitosano-LS (ppm)	α_2	0	15,3-5000

*En este caso se utilizó el caldo Mueller Hinton sin agregado del SLC.

TABLA 2. Sistemas resultantes del diseño experimental y utilizados para la validación de los modelos de regresión

Sistema	Código de las variables y los niveles	
	α_1	α_2
A	-1	-1
B	+1	-1
C	-1	+1
D	+1	+1
E*	0	-1
F*	-1	0

*Sistemas utilizados para la validación

TABLA 3. Valor p , R^2 ajustado y coeficientes de regresión de los modelos obtenidos

Parámetro	Valor p			R^2 aj (%)	Coeficiente de regresión			
	x_1	x_2	x_1x_2		β_0	β_1	β_2	β_{12}
μ	0,0003	0,0859	0,0066	98,84	0,57	-0,18	-0,02	-0,06
Abs_{max}	0,0007	0,6033	0,4517	97,68	0,42	-0,17	0,007	0,01

TABLA 4. Valores de μ y Abs_{max} observados y predichos de los sistemas elegidos para la validación

Sistema	μ (h^{-1})		Abs_{max}	
	Observado	Predicho	Observado	Predicho
E	$0,58 \pm 0,02$	$0,57 \pm 0,03$	$0,43 \pm 0,02$	$0,42 \pm 0,03$
F	$0,76 \pm 0,01$	$0,75 \pm 0,03$	$0,57 \pm 0,08$	$0,59 \pm 0,03$

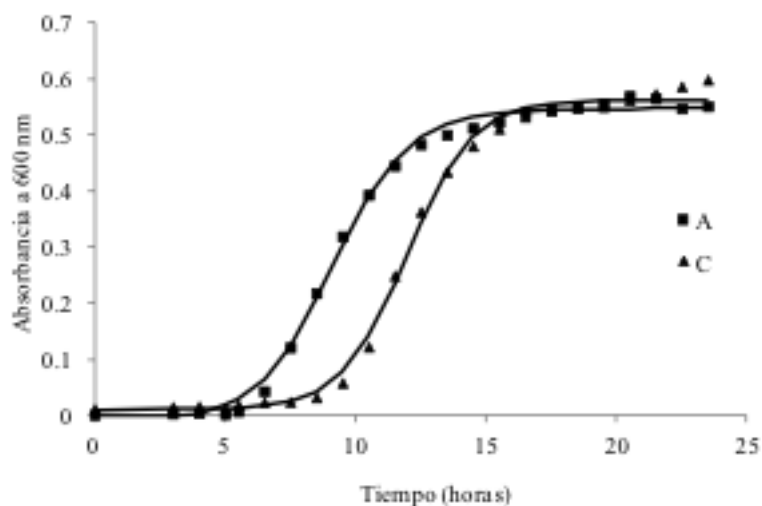


FIGURA 1. Curvas de crecimiento de *S. putrefaciens*. Puntos experimentales obtenidos y curvas de crecimiento modeladas (—)

SAKACINA Q ADSORBIDA SOBRE TRIPA OVINA NATURAL PARA LA BIOPRESERVACIÓN DE SALCHICHAS TIPO VIENA

Franco Rivas^{1,3}, Marcela Castro^{1,3}, Carmen Campos^{2,3}

1. RESUMEN

En estudios previos se ha concluido que *Lactobacillus curvatus* ACU-1 tiene la capacidad de producir sakacina Q, bacteriocina que presenta características tecnológicas que la hicieron adecuada para la biopreservación de la carne. El objetivo del ensayo fue determinar la funcionalidad de esta bacteriocina adsorbida a la tripa ovina natural sometida a las condiciones normales de manufactura de salchichas tipo Viena a escala industrial. Veinte metros de tripa ovina, previamente desalada, se sumergieron en un concentrado de bacteriocina (12800 UA/ml) durante 100 min. El concentrado de bacteriocina se obtuvo a partir de un sobrenadante libre de células de *Lb. curvatus* ACU-1 por precipitación con sulfato de amonio. Siguiendo la línea de producción de la planta de fabricación, la tripa se rellenó con emulsión cárnica para la producción de salchichas tipo Viena. La mitad de las muestras se sumergieron en una suspensión de *Listeria innocua* (1×10^6 UFC/ml), usada como microorganismo indicador. Las salchichas se envasaron al vacío en bolsas de polietileno y se almacenaron a 7 ± 3 °C durante 29 días. Se tomaron muestras periódicamente. Se realizaron recuentos en los siguientes medios: MRS para bacterias lácticas (LB); PCA para aerobios totales; Violeta Rojo Bilis glucosa agar (VRBg) para enterobacterias, Estreptomycin Talio Acetato Actidiona agar (STAA) para *Brochothrix* spp. y Palcam Agar para *L.*

CONTACTO: Carmen Campos carmen@di.fcen.uba.ar

1. Departamento de Ciencias Básicas y Aplicadas, Universidad Nacional del Chaco Austral, Comandante Fernández 755, P.R. Sáenz Peña, Chaco, Argentina.

2. Departamento de Industrias, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Ciudad Universitaria, C.A.B.A., Argentina.

3. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina.

innocua. Salchichas elaboradas tradicionalmente fueron utilizadas como control. El ensayo se realizó por duplicado. Los resultados se expresaron como logaritmo del recuento microbiano (Log N) y se comparados estadísticamente por el método de Tukey con un nivel de confianza del 95 %. Los recuentos de aerobios totales y BL no fueron significativamente diferentes entre los sistemas. En todos los casos, el número de Enterobacterias estuvo por debajo del límite de detección. Mientras que los recuentos de *Brochothrix* spp. fueron significativamente diferentes, siendo 4 órdenes menores en los embutidos tratados en comparación con el sistema de control. Los recuentos de *L. innocua* mostraron una reducción de 2 órdenes en el sistema con la sakacina Q. Los resultados también mostraron que la bacteriocina estudiada permaneció activa después del proceso de cocción de las salchichas, confirmando la termorresistencia intrínseca. Por otro lado, cabe señalar que la actividad de la bacteriocina no se redujo durante el período estudiado. Según los resultados, la sakacina Q producida por *Lb. curvatus* ACU-1 mantiene su funcionalidad al adsorberse a la tripa ovina natural utilizada para la fabricación de salchichas tipo Viena. También muestra resistencia térmica durante el proceso de fabricación de este alimento. Por lo tanto, este procedimiento podría ser aplicado con éxito para el control de *L. innocua* y *Brochothrix* spp. en estos productos cárnicos.

2. INTRODUCCIÓN

La carne es altamente sensible a la descomposición microbiana debido a sus propiedades ecológicas (a_w , pH y nutrientes), siendo la causante de muchas enfermedades de origen alimentario. *Listeria monocytogenes* es una bacteria patógena ubicua con una elevada prevalencia en muchos alimentos, principalmente leche, quesos, carnes, pescados y verduras (Farber y Peterkin 1991, Samelis y Metaxopoulos 1999). La ubicuidad y también el carácter psicrótrofo de esta bacteria hacen que su control sea difícil y que su presencia sea frecuente en las plantas de procesamiento de productos cárnicos (Ananou y col., 2010).

La biopreservación se refiere a la extensión de la vida útil de los alimentos y al aumento de la seguridad microbiológica usando una microflora natural o controlada y/o sus metabolitos con actividad antimicrobiana (Hugas, 1998). Dentro de estos encontramos las bacteriocinas, las cuales son péptidos antimicrobianos producidos por microorganismos gram-positivos y gram-negativos. Sin embargo sólo las

bacteriocinas producidas por las bacterias lácticas (BL) -de grado alimenticio- son de particular interés para la industria alimentaria como bioconservantes (Barros y col., 2010).

La cepa *Lactobacillus curvatus* ACU- 1, aislada en nuestro laboratorio a partir de embutidos secos artesanales fabricados en Chaco (Argentina), produce Saka-cina Q, bacteriocina que es activa contra *L. innocua* ATCC 33090 y varias cepas de *Staphylococcus aureus*. Dicha bacteriocina es estable al calor, efectiva después del almacenamiento refrigerado y de ciclos de congelación/descongelación y activa contra los patógenos aun cuando se produce en condiciones de refrigeración a una concentración de 3 % de NaCl (Castro y col., 2011). En trabajo previos, se verificó que el empleo de esta cepa bacteriocinogénica sobre la superficie de carne de cerdo cocida inhibe el crecimiento de *L. innocua* sin perder efectividad por adsorción a los tejidos grasos o cárnicos (Rivas y col., 2014). En consecuencia, su aplicación en productos cárnicos como cultivo protector y/o como parte de un cultivo iniciador resulta prometedora.

La salchicha es la forma más antigua y de mayor arraigo de la carne procesada; para su elaboración, los intestinos de ovejas, de cerdos y de ganado se han utilizado durante miles de años como un recipiente comestible (Wijnker y col., 2006). Estas cubiertas normalmente se conservan mediante salazón, curado y/o secado (Fischer y Schwefflinghaus, 1988) para reducir la contaminación microbiana, pero los microorganismos entéricos o exógenos en la tripa natural son inevitables, además el número de microorganismos aumenta durante el procesamiento y la distribución, especialmente ante malas condiciones de higiene y/o temperaturas inadecuadas de almacenamiento (Ben Hammou y col., 2010). Debido a estas razones, en la elaboración de salchichas tipo Viena, el empleo de tripa ovina natural como soporte para la aplicación de bacteriocinas se presenta como una alternativa innovadora y auspiciosa para inhibir el deterioro por BL seleccionadas por la baja temperatura de almacenamiento, la presencia de sales de curado, y condiciones de microaerofilia (Barros y col., 2010).

El objetivo del ensayo fue determinar la funcionalidad de la bacteriocina adsorbida a la tripa ovina natural sometida a las condiciones normales de manufactura de salchicha tipo Viena a escala industrial.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Cepas bacterianas y condiciones de cultivo

Las cepas que se utilizaron en este estudio fueron: i) *Lb. curvatus* ACU-1 productor de bacteriocina, aislado en nuestro laboratorio a partir de embutidos secos artesanales fabricados en Chaco (Argentina) (Castro y col., 2011); ii) *L. innocua* ATCC 33090 –en lugar de *L. monocytogenes*– utilizada por su respuesta similar a factores de estrés y ausencia de patogenia (Friedly y col., 2008). Ambas bacterias se mantuvieron congeladas a -30 °C en el medio adecuado y fueron propagadas dos veces en el medio de cultivo apropiado a 30 °C antes de su uso. *Lb. curvatus* se activó en caldo MRS (de Man, Rogosa & Sharpe; Biokar Diagnostics, Francia), mientras que *L. innocua* en caldo BHI (Brain Heart Infusion, infusión cerebro corazón; Biokar Diagnostics, Beauvois, Francia).

Concentración de la bacteriocina mediante precipitación con sulfato de amonio

Se aplicó la técnica propuesta por Budde y col., (2003). Para ello se trabajó con el sobrenadante libre de células (SLC) obtenido a partir de una suspensión de 48 h de ACU-1 mediante centrifugación a 4.000×g durante 30 min y posterior esterilización por filtración, usando un filtro de tamaño de poro de 0,22µm. Alícuotas de 40 ml del SLC fueron tratadas con 40 % (p/v) de sulfato de amonio, y se mantuvieron durante 30 min con agitación en un baño de agua a 20 °C. Las muestras se centrifugaron a 4000×g durante 30 min a 4 °C. El sedimento se resuspendió en 2 ml de buffer fosfato de sodio 0,2M, pH 6,0. Durante el proceso, se midió la actividad de la bacteriocina en unidades arbitrarias por ml (UA/ml). Se utilizó *L. innocua* como microorganismo indicador. Para descartar que el sulfato de amonio retenido en el precipitado colabore con el antagonismo del producto concentrado, se repitió el proceso de precipitación partiendo de caldo MRS estéril, y midiéndose por último el título del precipitado resultante resuspendido en buffer fosfato de sodio 0,2M, pH 6,0.

Funcionalidad de la bacteriocina adsorbida sobre tripa ovina previa a su embutido a escala industrial

Para el estudio se sumergieron 20 m de tripa ovina, previamente desalinizada en agua destilada estéril, durante 100 min en un concentrado de bacteriocina de *Lb. curvatus* ACU-1, obtenido como se explicó más arriba (12800 UA/ml). Esta tripa

tratada fue suministrada a la Coop. La Unión Ltda. (Presidencia Roque Sáenz Peña, Chaco), donde se procedió a embutir la pasta cárnica bajo condiciones normales para la elaboración de las salchichas. Luego de su elaboración, se trasladaron bajo refrigeración al laboratorio junto con una cantidad igual de salchichas embutidas sobre tripa no tratada, utilizadas como control. A partir de ambos lotes de salchichas se diferenciaron los sistemas: *a*) Salchichas elaboradas con tripa sin tratar; *b*) salchichas elaboradas con tripa sin tratar sumergidas en una suspensión de *L. innocua* (1×10^6 UFC/ml); *c*) salchichas elaboradas con tripa tratada con el SLC concentrado; *d*) salchichas elaboradas con tripa tratada con el SLC concentrado sumergidas en una suspensión de *L. innocua* (1×10^6 UFC/ml).

Las salchichas fueron envasadas al vacío en bolsas de polietileno y almacenadas a 7 ± 3 °C durante 29 días. Se tomaron muestras después de 0, 2, 4, 6, 8, 13, 16, 23 y 29 días de incubación. Los ensayos se realizaron por duplicado. Para realizar los recuentos se tomó un gramo de muestra, se colocó en bolsas de stomacher y se agregó 9 ml de agua de peptona estéril, luego se procedió a homogeneizar. A partir de este homogenato se realizaron las diluciones correspondientes para el recuento microbiano, en los siguientes medios: MRS, para recuento bacterias lácticas; PCA, para de aeróbicos totales; VRBg (Violeta Rojo Bilis glucosa Agar), para enterobacterias; STAA (Estreptomicina Talio Acetato Actidiona agar), para *Brochothrix* spp y Palcam agar, para *L. innocua*. Los resultados obtenidos se expresaron como logaritmo del recuento microbiano (Log N).

Tratamiento estadístico de los datos

Cada ensayo se repitió dos veces y cada determinación se realizó por triplicado. El análisis estadístico de los datos se realizó con el software Statgraphics Plus versión 5.0 (Manugistics Inc., EE.UU.). Los resultados obtenidos se compararon estadísticamente mediante análisis de la varianza (ANOVA) y el método de Tukey. En todos los casos el nivel de probabilidad se fijó en $p < 0,05$.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Concentración de la bacteriocina mediante precipitación con sulfato de amonio

El proceso de precipitación con sulfato de amonio del SLC conteniendo la bacteriocina (actividad de 800 UA.ml⁻¹) permitió obtener un concentrado con una acti-

vidad de 12800 UA.ml⁻¹. Estos resultados muestran que el tratamiento aumentó el título 16 veces. Es de destacar que el precipitado obtenido a partir de MRS estéril no produjo antagonismo alguno del microorganismo indicador, descartándose el posible efecto de la sal en la inhibición producida por el sistema con la bacteriocina estudiada.

Funcionalidad de la bacteriocina adsorbida sobre tripa ovina previa a su embutido a escala industrial

A fin de determinar la funcionalidad de la bacteriocina adsorbida a la tripa ovina natural, previo al embutido de la misma, se trabajó en las condiciones normales de manufactura de salchichas tipo Viena a escala industrial. Los resultados se muestran en la Figura 1. Pudo observarse en base a los resultados que no hubo reducción de los recuentos de aeróbios totales y BL en los sistemas tratados con el antimicrobiano en cuestión (Figura 1, panel A y B). Resultados similares fueron reportados por Barros y colaboradores (2010) donde el uso de nisina embebida en tripas naturales para la elaboración de salchichas no produjo inhibición de BL, si bien redujo el recuento de aerobios totales, dicho efecto fue atribuido al bajo pH de la solución de nisina.

En todos los casos, el número de enterobacterias estuvo por debajo del límite de detección, característica deseada ya que la presencia de este género bacteriano es indicio de posible contaminación. Mientras que se presentaron diferencias significativas en los recuentos de *Brochothrix* spp., bacteria alterante de productos cárnicos, presentando un recuento 4 órdenes menor en los sistemas tratados con la bacteriocina respecto al sistema control (Figura 1, panel C).

Por otro lado los recuentos de *L. innocua* en los sistemas inoculados con dicho microorganismo indicador mostraron una reducción significativa en el sistema conteniendo la bacteriocina a partir de los 16 días de ensayo (Figura 1, panel D). Resultados similares fueron publicados por Ben Hammou y colaboradores (2010), quienes observaron una reducción en los recuentos de listeria en salchichas elaboradas con tripa ovina tratada con nisina a partir de los 20 días del ensayo. Geornaras y colaboradores (2004) realizaron un estudio sobre salchichas Frankfurt contaminadas con *L. monocytogenes*, sumergiéndolas en solución de nisina, encontrando que esta bacteriocina redujo significativamente el recuento de listeria. Ahora bien, estos autores atribuyen dicha inhibición a la producción de ácido láctico por parte

de listeria, que llevó a una acidificación significativa (Conner y col., 1986), considerando la capacidad de las bacteriocinas para actuar mejor a pH bajo (Buncic y col., 1995; De Martinis y col., 1997; Ukuku y Shelef, 1997).

Los resultados obtenidos en este estudio también mostraron que la bacteriocina estudiada permaneció activa después del proceso de cocción de las salchichas, confirmando la termorresistencia intrínseca, resultados que concuerdan con otros autores que verificaron la resistencia térmica de las bacteriocinas luego de la cocción de los alimentos (Barros y col. 2010; Siragusa y col. 1999; Soriano y col. 2004).

Por otro lado, cabe señalar que en este trabajo se observó que la actividad de la bacteriocina no se redujo durante el tiempo estudiado; a diferencia de otros autores que observaron una reducción de la actividad de las bacteriocinas en el sistema cárnico (Cutter y Siragusa, 1998; Barros y col., 2010), ellos sugirieron que la disminución de la actividad se debió a una adsorción de la bacteriocina a las proteínas de la carne o a las partículas lipídicas.

5. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados presentados podemos afirmar que la sakacina Q, bacteriocina producida por *Lb. curvatus* ACU-1, adsorbida a tripa ovina natural, previa a la elaboración de las salchichas, es efectiva para el control de listeria. Asimismo, las bacterias del grupo *Brochothrix* spp. resultaron profundamente inhibidas, presentando un número 4 órdenes menor en los sistemas tratados con el antimicrobiano. Por otro lado, se comprobó la termorresistencia de la bacteriocina en el alimento bajo las condiciones industriales de manufactura. Además, cabe resaltar que la bacteriocina estudiada se mantuvo activa a lo largo del período de tiempo estudiado. Comprobándose de este modo que la sakacina Q producida por *Lb. curvatus* ACU-1 podría ser aplicada en la elaboración de este embutido cárnico a escala industrial para el control de *L. innocua* y *Brochothrix* spp.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANANOUS, Baños A, Maqueda M, Martínez-Bueno M, Gálvez A, Valdivia E. Effect of combined physico-chemical treatments based on enterocin AS-48 on the control of *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* in a model cooked ham. Food Control. 2010; 21, 478–486.

- BARROS JR, Kunigk L, Jurkiewicz CH. Incorporation of nisin in natural casing for the control of spoilage microorganisms in vacuum packaged sausage. *Braz J Microbiol.* 2010, 41, 1001-1008
- BEN HAMMOU F, Skali SN, Idaomar M, Abrini J. Combinations of nisin with salt (NaCl) to control *Listeria monocytogenes* on sheep natural sausage casings stored at 6 °C. *Afr J of Biotechnol.* 2010; 9, 1190-1195.
- BUNCIC S., Fitzgerald CM, Bell RG, Hudson JA. Individual and combined listericidal effects of sodium lactate, potassium sorbate, nisin, and curing salts at refrigeration temperature. *Journal of Food Safety.* 1995; 15, 247–264.
- CASTRO MP, Palavecino NZ, Herman C, Garro OA, Campos CA. Lactic acid bacteria isolated from artisanal dry sausages: Characterization of antibacterial compounds and study of the factors affecting bacteriocin production. *Meat Sci.* 2011; 87, 321-329.
- CONNER DE, Brackett RE, Beuchat LR. Effect of temperature, sodium chloride and pH on growth of *Listeria monocytogenes*. *Letters in Applied Microbiology.* 1986; 6, 153–156.
- CUTTER CN, Siragusa GR. Incorporation of nisin into a meat binding system to inhibit bacteria on beef surface. *Lett Appl Microbiol.* 1998; 27, 19-23.
- DE MARTINIS ECP, Crandall AD, Mazzotta AS, Montville TJ. Influence of pH, salt and temperature on nisin resistance of *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Protection.* 1997; 60, 420–423.
- FARBER JM, Peterkin PI. *Listeria monocytogenes*, a food borne pathogen. *FEMS Microbiology Reviews.* 1991; 55, 476– 511.
- FISCHER A, Schweflinghaus M. *Naturdärme 1: Anatomie und Gewinnung.* *Fleischerei.* 1988; 39, 10–14.
- FRIEDLY EC, Crandall PG, Ricke S, O'bryan CA, Martin E, Boyd LM. Identification of *Listeria innocua* surrogates for *Listeria monocytogenes* in hamburger patties. *J Food Sci.* 2008; 73, 174–178.
- GEORNARAS I, Belk KE, Scanga JA, Kendall PA, Smith GC, Sofos JN. Antimicrobial dipping treatments to control *L. monocytogenes* in commercial frankfurters and smoked sausages. Departmental Research Reports, Department of Food Science and Human Nutrition, Colorado State University, ABD. 2004; 255-257.
- HUGAS M. Bacteriocinogenic lactic acid bacteria for the biopreservation of meat and meat products. *Meat Science.* 1998; 49, 139-150.
- RIVAS FP, Castro MP, Vallejo M, Marguet E, Campos CA. Sakacin Q produced by *Lactobacillus curvatus* ACU-1: Functionality characterization and antilisterial activity on cooked meat surface. *Meat Science.* 2014; 97, 475–479

SAMELIS J, Metaxopoulos J. Incidence and principal sources of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes* contamination in processed meats and meat processing plant. *Food Microbiol.* 1999; 16, 465– 477.

SIRAGUSA GR, Cutter CN, Willet JL. Incorporation of bacteriocin in plastic retains activity and inhibits surface growth of bacteria on meat. *Food Microbiology.* 1999; 16, 229-235.

SORIANO A, Ulmer HM, Scannell AGM, Ross RP, Hill C, García-Ruiz A, Arendt EK. Control of food spoiling bacteria in cooked meat products with nisin, lacticin 3147, and a lacticin 3147-producing starter culture. *European Food Research and Technology.* 2004; 219, 6-13.

UKUKU DO, Shelef LA. Sensitivity of six strains of *Listeria monocytogenes* to nisin. *Journal of Food Protection.* 1997; 60, 867–869.

WIJNKER JJ, Koop G, Lipman LJA. Antimicrobial properties of salt (NaCl) used for the preservation of natural casings. *Food Microbiol.* 2006; 23, 657–662.

7. TABLAS Y FIGURAS

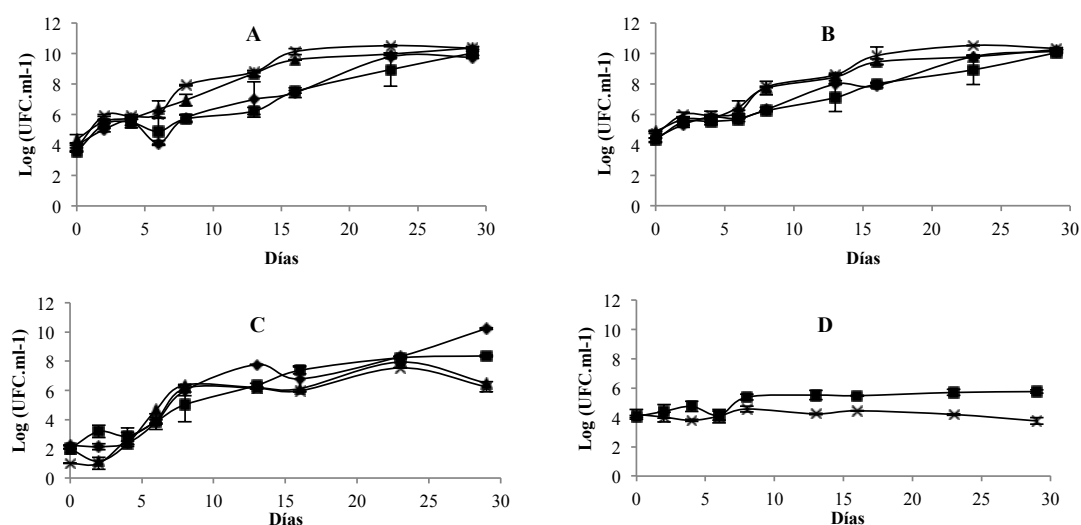


FIGURA 1. Evolución de los recuentos microbianos realizados sobre salchichas tipo Viena, expresados como Log N; Panel A: Bacterias Lácticas; Panel B: Mesófilos Totales; Panel C: *Brochothrix* spp.; Panel D: *Listeria innocua*; (●) salchichas elaboradas con tripa sin tratar; (■) salchichas elaboradas con tripa sin tratar sumergidas en una suspensión de *L. innocua*; (▲) salchichas elaboradas con tripa tratada con el SLC concentrado; (×) salchichas elaboradas con tripa tratada con el SLC concentrado sumergidas en una suspensión de *L. innocua*. Las barras de error representan las desviaciones estándar de los resultados.

PROGRAMACIÓN LINEAL PARA LA FORMULACIÓN DE UN PANIFICADO DE ALTA ACEPTABILIDAD Y MÍNIMO COSTO

María Dolores Jiménez, María Alejandra Giménez, Norma Beatriz Farfán,
Norma Cristina Sammán

1. RESUMEN

El objetivo de este trabajo consistió en diseñar un procedimiento sistematizado para la obtención de alimentos mejorados nutricionalmente. Se planteó un diseño metodológico de cuatro Pasos: 1) Elección del grupo etario a quien está dirigido el alimento a formular y recopilación de datos de composición de alimentos de distintas fuentes. 2) Elección de las materias primas: Análisis de macro y micronutrientes. 3) Aplicación de la programación lineal para la determinación de las proporciones de las materias primas. 4) Validación de la metodología. Para este último punto se formuló y elaboró un producto panificado tipo “trenza alemana” destinado a niños en edad escolar. Se analizó su composición química, perfil lipídico, calidad proteica mediante cálculo de *Score* Químico y carga microbiológica. Se estudió su aceptabilidad y se evaluó sus características sensoriales mediante preguntas CATAS con 70 consumidores de los cuales 20 fueron niños entre 6 y 10 años. Las materias primas, seleccionadas mediante análisis de componentes principales (ACP), fueron: papa andina (*Solanum andigena*), habas (*Vicia faba*), kiwicha (*Amaranthus caudatus*) y chía (*Salvia hispánica L.*). Se elaboraron panificados partiendo de una receta control (H) en donde la harina de trigo fue sustituida parcialmente por una mezcla, definida por la programación lineal, trigo/haba/chía/amaranto: 64/22/13/0 (F) y 83/2/4/11 (G). La humedad de estos productos y la calidad microbiológica estuvieron de acuerdo a lo establecido por el Código Alimentario Argentino. El con-

CONTACTO: María Dolores Jiménez doloresjimenez4@gmail.com

Norma Cristina Sammán nsamman@fi.unju.edu.ar

Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Jujuy, Argentina.

tenido proteico en las formulaciones F y G fue mayor respecto a H (6 %) en un 76,81 % y 47 %, con un incremento del score químico de 46 (H) a 95 (F) y 91 (G). Los lípidos aumentaron 66 % y 24 % en las formulas F y G, con una mejora en el contenido de ácido linoleico y en la relación $\omega 6:\omega 3$. El análisis de CATAS justifica la menor aceptabilidad (puntaje=5) de la muestra F a la cual los consumidores le atribuyeron términos con connotación negativa. Por otra parte, la receta G fue descrita por la mayoría de los consumidores con términos con connotación positiva, lo que se ve reflejado en su mayor aceptabilidad (puntaje= 7). La aplicación de esta metodología es adecuada para formular alimentos con mejora nutricional ya que no se encontraron diferencias significativas entre los resultados empíricos y los teóricos predichos por la programación lineal. La alta aceptabilidad de estos panificados, su mínimo costo y su valor nutricional agregado permite sugerirlo como una colación escolar.

2. INTRODUCCIÓN

Ningún alimento por sí solo contiene todos los nutrientes que necesita el organismo por lo que resulta práctico plantear un diseño metodológico que facilite y sistematice la formulación de alimentos, encontrando combinaciones de materias primas que brinden un aporte nutricional apropiado. En la actualidad se implementan metodologías a las actividades que se llevan a cabo con frecuencia estableciendo pasos a seguir con un enfoque estructurado y ordenado (EFSA, 2010; Espinosa, 2011). En la formulación de alimentos es importante lograr un balance adecuado de nutrientes al menor costo posible. Existen numerosos programas elaborados para tal fin, la herramienta SOLVER de Microsoft Excel® para Windows® es un procedimiento de fácil y flexible manejo que se emplea para la formulación de diversos alimentos (Noguera *et al.*, 2011; López Calderón *et al.*, 2012).

La mal nutrición calórico-proteica está ligada a las condiciones socioeconómicas del medio y conduce a diferentes enfermedades y la postergación intelectual y social de quién la padece. Ante esta problemática surge el concepto de “alimento de interés social”, el cual se define como alimento de consumo masivo de alta aceptabilidad, con cualidades nutricionales mejoradas y bajo costo (Macías *et al.*, 2013). En la Puna y Quebrada de Humahuaca (provincia de Jujuy, Argentina), Romaguera *et al.* (2007 y 2008), estudiaron las necesidades nutricionales de los pobladores y

describieron un fenómeno de transición nutricional en donde la alimentación “tipo andina” basada en una variedad de cultivos autóctonos es reemplazada por una dieta “tipo occidental” de baja calidad nutricional, poco variada y pobre en productos originarios de alto valor nutritivo. Estos estudios determinaron que aproximadamente 80 % de la población no cubre las Ingestas Diarias Recomendadas (IDR) de energía y que el 45 % tiene una ingesta insuficiente de proteínas. El fenómeno mencionado se manifiesta en todo el mundo y trae aparejado un consecuente interés por revalorizar a los alimentos típicos de la región; actualmente se comercializan fideos de harina de maíces andinos, puré de papa deshidratado, ocas glaseadas, alfajores de maíz capia y de kiwicha (Cauqueva, 2014), alfajores y galletas de quinua y maíz (El Molle, 2014), sopas andinas (Cooperativa Prosol, 2014), barras energética (Dietética Express, 2014).

Con el objetivo de realizar aportes para subsanar la situación planteada, este trabajo plantea diseñar un procedimiento sistematizado para la obtención de alimentos mejorados nutricionalmente y validarlo a través de su aplicación en la formulación de un producto panificado tipo “trenza alemana” destinado a niños en edad escolar.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Pasos del diseño metodológico: 1) Elección del grupo etario a quien estará dirigido el alimento. 2) Elección de las materias primas para la formulación, teniendo en cuenta disponibilidad de alimentos, contenido de nutrientes, complementación aminoacídica, combinación de sabores de las materias primas para dar como resultado alimentos de buena aceptabilidad. 3) Determinación por medio de la programación lineal las proporciones de cada materia prima a utilizar teniendo en cuenta el tipo de alimento a elaborar, aplicando factores de retención de nutrientes para estimar la composición del alimento formulado. 4) Validación de la metodología mediante la formulación de un alimento, para lo cual se planteó el desarrollo de un producto panificado destinado a escolares tipo “trenza alemana”.

Sistema de ecuaciones: Las ecuaciones utilizadas en los balances de masa y energía necesarios para determinar las proporciones de cada materia prima en la formulación del alimento fueron:

$$\text{Aporte calórico total: } E_{Af} = \frac{(\%E_p)}{100} E_R = E_{Af(P)} + E_{Af(L)} + E_{Af(CH)} \quad (1)$$

$$\text{Contenido proteico: } P_{Af} = \frac{E_{Ar(P)}}{Eu_p}, \text{ donde } E_{Ar(P)} = \frac{(\%P)}{100} E_{Af} \quad (2)$$

$$\text{Contenido lipídico: } L_{Af} = \frac{E_{Ar(L)}}{Eu_L}, \text{ donde } E_{Ar(L)} = \frac{(\%L)}{100} E_{Af} \quad (3)$$

$$\text{Contenido carbohidratos: } CH_{Af} = \frac{E_{Ar(CH)}}{Eu_{CH}}, \text{ donde } E_{Ar(CH)} = \frac{(\%CH)}{100} E_{Af} \quad (4)$$

$$\text{Balance global de masa: } A_{Af} = A_1(\Delta_1) + A_2(\Delta_2) + \dots + A_i(\Delta_i) = (A_1 + A_2 + \dots + A_i)(\Delta_{Total}) \quad (5)$$

$$\text{Balance de masa para proteínas: } (A_1P_1 + A_2P_2 + \dots + A_iP_i)(\Delta_{Total})(\Delta P_{Total}) = A_{Af}P_{Af} \quad (6)$$

$$\text{Balance de masa para lípidos: } (A_1L_1 + A_2L_2 + \dots + A_iL_i)(\Delta_{Total})(\Delta L_{Total}) = A_{Af}L_{Af} \quad (7)$$

$$\text{Balance de masa para carbohidratos: } (A_1CH_1 + A_2CH_2 + \dots + A_iCH_i)(\Delta_{Total})(\Delta CH_{Total}) = A_{Af}CH_{Af} \quad (8)$$

Donde %Ep: Porcentaje calórico que cubre el alimento respecto a las calorías diarias; **ER:** Requerimiento calórico recomendado (Kcal/día); $E_{Ar(P)}$, $E_{Ar(L)}$, $E_{Ar(CH)}$: Energía aportada por las proteínas, lípidos e hidratos de carbono (Kcal/g) respectivamente; **%P, %L, %CH:** Porcentaje de calorías que aportan las proteínas, lípidos e hidratos de carbono respectivamente, respecto al E_{Af} ; Eu_p , Eu_L , Eu_{CH} : Calorías aportadas por g de proteína, lípido y carbohidratos (4; 9 y 4 kcal/g respectivamente); A_{Af} : Cantidad de alimento formulado (g); A_i : Cantidad de la materia prima i para la obtención del alimento formulado (g); Δ_{Total} : Variación de peso durante el procesado; P_i , L_i , CH_i : Proteínas, lípidos y carbohidratos en el alimento i (g); ΔP_{Total} , ΔL_{Total} , ΔCH_{Total} : Retención de proteínas, lípidos y carbohidratos durante el procesado; P_{Af} , L_{Af} , CH_{Af} : Proteínas, lípidos y carbohidratos en el alimento formulado (g). El sistema de ecuaciones se resolvió en una planilla de cálculo de Excel, donde las ecuaciones lineales 5, 6, 7 y 8 se resolvieron con Programación Lineal con el complemento Solver de Excel buscando optimizar la función objetivo; con la cual se encontró las proporciones en las cuales las materias primas deben mezclarse para satisfacer los requerimientos nutricionales al mínimo costo, según el siguiente modelo de programación propuesto:

Función Objetivo: Minimizar $Costo_{Al}(\$) = \sum_i^n Costo_i(\$)$

Sujeta a las siguientes restricciones:

- $A_1, A_2, \dots, A_i, \dots, X_n \geq 0$
- $A_{Al} = \text{Peso del alimento (g)}$
- $P_{Al} \geq P_{Al} (\text{mín})$, donde $P_{Al} \text{ mín} = 8,2 \text{ g}$
- $P_{Al} \leq P_{Al} (\text{máx})$, donde $P_{Al} \text{ máx} = 12,3 \text{ g}$
- $L_{Al} \geq L_{Al} (\text{mín})$, donde $L_{Al} \text{ mín} = 7,3 \text{ g}$
- $L_{Al} \leq L_{Al} (\text{máx})$, donde $L_{Al} \text{ máx} = 12,7 \text{ g}$
- $CH_{Al} \geq CH_{Al} (\text{mín})$, donde $CH_{Al} \text{ mín} = 24,6 \text{ g}$
- $CH_{Al} \leq CH_{Al} (\text{máx})$, donde $CH_{Al} \text{ máx} = 45,1 \text{ g}$

Donde i, \dots, n : materias primas empleadas para la formulación. Las restricciones c-d, e-f y g-h corresponden al contenido de macronutrientes fijados para que su aporte calórico cumpla con lo recomendado por el *Institute of Medicine of National Academies* (10-35 % del total de calorías debe ser aportado pro-

teínas, el 20-35 % por grasas y el 45-65 % hidratos de carbono) (Otten *et al.*, 2006).

Requerimientos nutricionales del grupo etario de interés: se tomaron de FAO (2006) para niños entre 7 y 9 años, de 25 kg de peso corporal. Las recomendaciones son 1700 kcal, 37 g de proteínas y un máximo de 57 g de lípidos por día.

Productos de la región: Se elaboró una base de datos de composición centesimal de cultivos de producción regional utilizando diferentes fuentes bibliográficas: FAO (2014), INCAP-OPS (2014) INCAP/INCNND (1964), INTA (2014), ARGENFOODS (2014), Souci *et al.* (1987). Se utilizó el Análisis de Componentes Principales (ACP) con el Software de análisis exploratorio multidimensional de datos numéricos y textuales Dtm-Vic (*Data and text mining: Visualization, interference, classification*) para analizar los datos.

Retención de nutrientes: El diseño metodológico planteado contempla la retención de nutrientes según los procesos aplicados; los factores se tomaron de EuroFIR (2014) y USDA (2014).

Análisis centesimal de los alimentos formulados: La muestra se homogeneizó y trituró para la correcta realización de los análisis. Se emplearon métodos AOAC (1995), para la determinación de humedad (Método 925.09), cenizas (Método 923.03), proteínas (Método 991.20), lípidos (Método 922.06) y carbohidratos por diferencia.

Complementación proteica: se evaluó por el método del *Score* químico (Giménez *et al.*, 2012).

Composición en ácidos grasos: Se determinó mediante técnica (UNE 55-037.73, AENOR). Se saponificó y esterificó con metilato de sodio y ácido sulfúrico en metanol y posterior inyección en cromatógrafo gaseoso (Hewlett Packard 6890).

Análisis microbiológico: la carga microbiana (mesófilos totales, coliformes, hongos y levaduras) se determinó mediante técnicas ICMSF (1985).

Aceptabilidad y análisis sensorial: El estudio fue realizado con un total de 50 individuos reclutados al azar entre 20 y 60 años de edad. Se solicitó a los consumidores que prueben la muestra y que indiquen su aceptabilidad con una escala hedónica de 9 puntos con los extremos “Me disgusta muchísimo”-“Me gusta muchísimo”. La prueba se completó con una pregunta CATA (*check-all-that-apply*) (Varela & Ares, 2012), presentando a los consumidores una lista de 25 palabras, solicitándoles que marquen todos los términos que consideraran apropiados para describir al producto. Los términos seleccionados pueden ser agrupados en diferentes categorías: los asociados a la apariencia, al olor, sabor, a la textura, a la calidad y si considera que el alimento puede ser para toda la familia. También se evaluó la aceptabilidad con 20 niños de edad escolar (entre 4 y 9 años).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El Análisis de Componentes Principales (ACP) (Figura 1, Tabla 1) permitió visualizar fácilmente la distribución de los alimentos según sus componentes mayoritarios y hacer una selección más rápida de las materias primas altamente nutritivas teniendo en cuenta los requerimientos y deficiencias de niños de edad escolar de la región. En la Figura 1 también se observa que la variabilidad de los datos dependió de la fuente bibliográfica utilizada, siendo los granos los que presentaron mayor variabilidad, mientras que los valores son más homogéneos correspondieron a frutas y hortalizas. Se observa que los granos y las habas contienen mayor contenido calórico y de hidratos de carbono y menor humedad; la chía, soja y tarwi son granos que se diferencian del resto de los granos por contener valores similares de carbohidratos, lípidos y proteínas y por lo tanto mayor contenido calórico; la miel es un punto atípico por estar constituida casi exclusivamente de hidratos de carbono. Teniendo en cuenta el interés de incorporar alimentos autóctonos en nuevas formulaciones y su calidad nutritiva se decidió seleccionar las siguientes materias primas para la formulación del producto: harinas de habas, chía y amaranto, y papas andinas hervidas. El producto fue un panificado tipo “trenza alemana”. Se estudiaron dos mezclas de harinas mejoradas nutricionalmente, con diferentes proporciones de trigo/ haba/chía/amaranto para la elaboración, una fórmula F (64/22/13/0) y otra G (83/2/4/11) partiendo ambas de una Receta de referencia H (100 % trigo). La Figura 2 describe el diagrama de elaboración del panificado planteado.

La Tabla 2 presenta la composición centesimal teórica y experimental de los productos formulados, score químico, porcentaje de cobertura de proteínas y lípidos correspondiente a 100 g de alimento respecto a los valores diarios recomendados (VDR) y el porcentaje calórico cubierto por cada macronutriente. Como se observa en la tabla, las mayores diferencias la presentan los carbohidratos, debido a que estos son calculados por diferencia. La complementación de las harinas seleccionadas incrementó el *Score* Químico al doble siendo la lisina el aminoácido limitante. Se observó una mejora en el contenido de ácidos grasos poliinsaturados, sobre todo de omega 3, con una consecuente mejora en la relación $\omega 6:\omega 3$, manteniendo constante el contenido de ácido grasos saturados y el de ácidos grasos *trans*, que es despreciable en todos los casos.

Los panificados elaborados con las mezclas presentan mayor contenido de proteínas y lípidos siendo la receta F la de mayor aporte. Ambas recetas (F y G) presentan un perfil calórico acorde al rango establecido para dietas saludables, mientras que la receta de referencia H aporta calorías provenientes mayoritariamente de los hidratos de carbono.

Los productos obtenidos cumplen microbiológicamente con lo establecido por el Código Alimentario Argentino, capítulo XVII, que establece que los alimentos listos para consumo a base de cereales, pueden tener como máximo un orden de 10^3 UFC/g de mohos y levaduras.

La receta F presentó menor aceptabilidad por consumidores (puntaje=5) lo que se reflejó también en el análisis de CATAS, ya que los consumidores le atribuyeron términos con connotación negativa (olor intenso, sabor feo, amargo y extraño). Las recetas G y H fueron descritas por la mayoría de los consumidores con términos de connotación positiva (buena apariencia y calidad, textura suave, húmeda y blanda, sabor rico y dulce), presentando ambas igual aceptabilidad (puntaje=7). Los consumidores caracterizaron solo a G como de apariencia nutritiva. Los niños que participaron de este ensayo prefirieron a las recetas G y H en igual medida.

5. CONCLUSIONES

Los valores de contenido de macro nutrientes estimados con el diseño propuesto fueron coincidentes con los determinados analíticamente y los productos fueron de alto valor nutricional, lo que indica que la metodología y el sistema de ecuaciones

planteados son una herramienta útil para formular alimentos y predecir su composición nutricional.

La complementación de las harinas seleccionadas y las proporciones utilizadas para obtener el producto G resultó acorde a las propuestas de mejora nutricional y aporte calórico equilibrado, buena calidad proteica y lipídica y alta aceptabilidad en escolares.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARGENFOODS: <http://www.unlu.edu.ar/~argenfood/> (2014).
- BURGESS A.; Glasauer P. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Rome (2006).
- CAUQUEVA, <http://www.cauqueva.org.ar/> (2014).
- CÓDIGO ALIMENTARIO ARGENTINO (CAA) (2014).
- COOPERATIVA PROSOL: <http://fidamercosur.org/site/index.php/historial-de-experiencias/268-alimentos-sanos-desde-la-quebrada-de-humahuaca> (2014).
- DIETÉTICA EXPRESS: <http://www.dieteticaexpress.com/> (2014).
- EL MOLLE, www.alfajoreselmolle.com (2014).
- ESPINOSA GUEVARA C. Tesis de maestría “Diseño de alimentos para personas diabéticas de la tercera edad”. Instituto Politécnico Nacional de ciencias biológicas. México (2011).
- EUROPEAN FOOD INFORMATION RESOURCE (EuroFIR): www.eurofir.net (2014).
- EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. Aplicación de la metodología de revisión sistemática para alimentos y seguridad alimentaria como soporte a la toma de decisiones. *EFSA Journal* (2010) 8(6):1637.
- FAO: <http://www.rlc.fao.org/es/agricultura/produ/cdrom/contenido/libro10/anexo1.htm> (2014).
- GIMÉNEZ M.A., Drago S.R., De Greef D., Gonzalez R.J., Lobo M.O., Sammán N.C. Rheological, functional and nutritional properties of wheat/broad bean (*Vicia faba*) flour blends for pasta formulation. *Food Chemistry* 134 (2012) 200–206.
- INCAP/INCNNND. Tabla de composición de alimentos para uso en América Latina (1964).
- INCAP-OPS: Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP)-Organización Panamericana de la Salud (OPS) (2014).
- INTA. Chía (*salvia hispanica* L.): Aspectos Nutricionales. Aportes a una dieta saludable (2014).
- International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF) <http://www.icmsf.org> (2014).

- López Calderón E., Arteaga Miñano H., Castro Santander P., Nolasco Pérez I., Siche R. Response Surface Method and Linear Programming in the development of mixed nectar of acceptability high and minimum cost. *Scientia Agropecuaria* (2012) 309 – 318.
- Macías S., M.J. Binaghi, Zuleta A., Ronayne de Ferrer P., Costa K., Generoso S. Development of cookies with partial substitution of wheat flour with mesquite (*Prosopis alba*) flour and oats for social plans. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos* (2013) 4 (2): 170-188.
- Noguera R.R.; Posada S.L., Ortiz D.M. Linear programming applied to ruminant ration formulation. *Ces. Med. Vet. Zootec.* Vol.6 N°.2. Medellín (2011).
- Official Methods of Analysis (AOAC) <http://www.aoac.org/> (2014).
- Otten J.J.; Hellwig J.O.; Meyers L.D. Dietary Referens Intakes, the Essential Guide to Nutrient Requeriments. Institute of Medicine of National Academies (www.nap.edu). Washington (2006).
- Romaguera D., Sammán N., Farfán N., Lobo M., Pons A., Tur J.A. Nutritional status of the Andean population of Puna and Quebrada of Humahuaca, Jujuy, Argentina. *Public Health Nutrition* (2007): 11(6), 606–615.
- Romaguera D., Sammán N., Rossi A., Miranda C., Pons A., Tur J.A. Dietary patterns of the Andean population of Puna and Quebrada of Humahuaca, Jujuy, Argentina. *British Journal of Nutrition* (2008), 99, 390–397.
- Souci, Fachmann, Kraut. *Food Composition and Nutrition Tables*. 7 th revised and completed ed. MedPharm-Scientific Publishers (1987).
- United States Department of Agriculture. National Nutrient Database for Standard Reference (USDA) www.usda.gov (2014).
- Varela P. & Ares G. Sensory profiling, the blurred line between sensory and consumer science. A review of novel methods for product characterization-*Food Research International* (2012) 48,893-908.

7. TABLAS Y FIGURAS

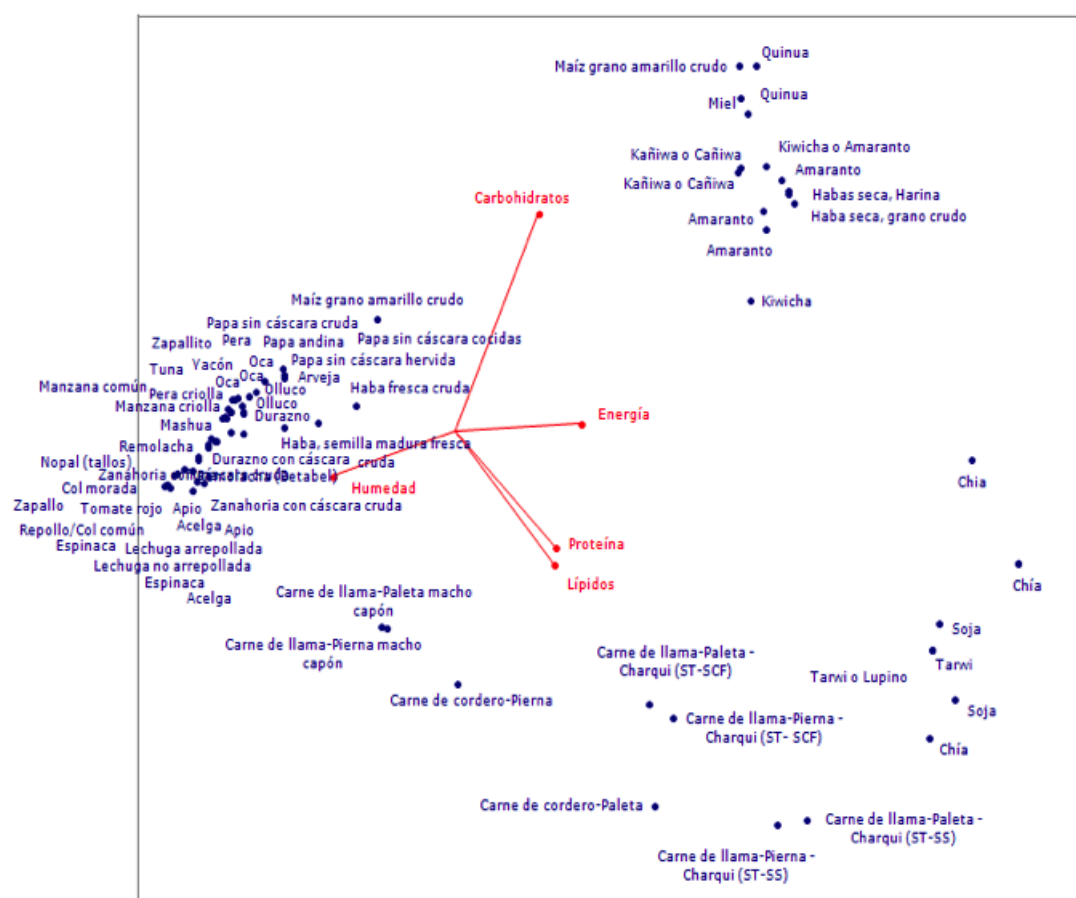


FIGURA 1. Análisis de Componentes Principales de macronutrientes.

Nivel de significación $\alpha=0,05$ (5 %)

TABLA 1. Matriz de correlación (Pearson (n)) para macronutrientes considerando diferente bibliografía

VARIABLES	HUMEDAD	ENERGÍA	PROTEÍNA	LÍPIDOS	CARBOHIDRATOS
HUMEDAD	1	-0,96	-0,76	-0,66	-0,75
ENERGÍA		1	0,72	0,81	0,68
PROTEÍNA			1	0,61	0,22
LÍPIDOS				1	0,20
CARBOHIDRATOS					1

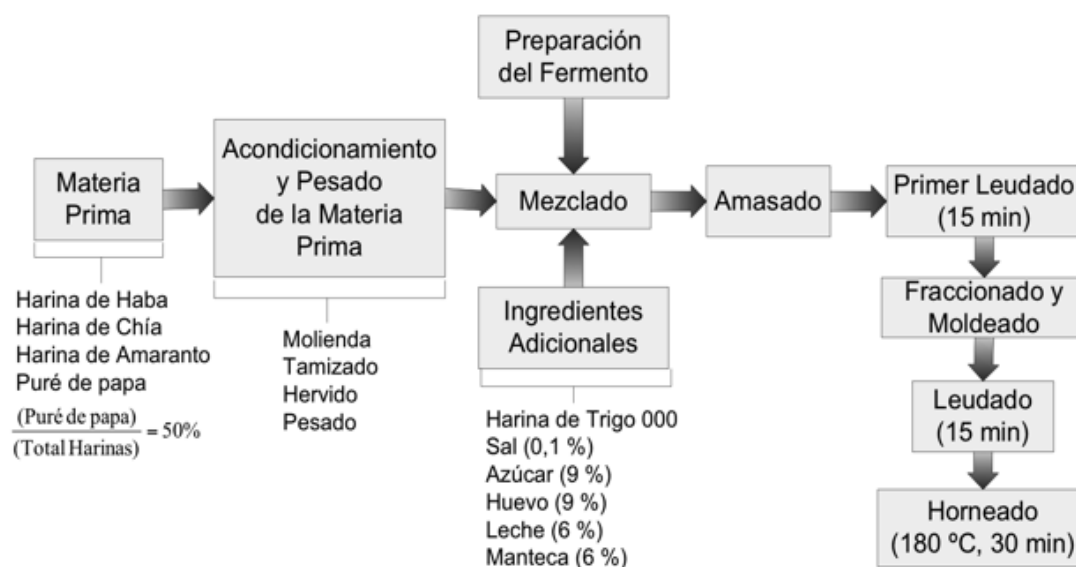


FIGURA 2. Diagrama de flujo para la elaboración de trenzas alemanas mejoradas nutricionalmente

TABLA 3. Composición de los alimentos formulados

Nutriente	(g de nutriente/100 g de alimento)						
	Teórico	Empírico	Diferencia	%VDR	Score	Valor calórico(%)	$\omega 6:\omega 3$
RECETA F							
Humedad	22,95 ± 1	22,58 ± 0,12	0,4		95	33	1
Proteína	8,85 ± 1,34	10,75 ± 0,06	1,9	24			
Lípidos	9,05 ± 1,46	11,83 ± 0,25	2,9	16			
Carbohidratos	32,89 ± 7,9	53,68 ± 0,12	20,8				
Cenizas	0,63 ± 0,42	1,15 ± 0,04	0,5				
RECETA G							
Humedad	18,09 ± 0,92	19,58 ± 0,08	1,5		91	53	2
Proteína	7,10 ± 0,71	8,97 ± 0,05	1,9	12			
Lípidos	9,15 ± 1,52	8,80 ± 0,29	0,3	10			
Carbohidratos	30,63 ± 2,69	61,64 ± 0,13	31,0				
Cenizas	0,36 ± 0,15	1,46 ± 0,53	1,1				
RECETA H							
Humedad	19,93 ± 0,69	21,31 ± 0,19	1,4		46	68	10
Proteína	6,10 ± 0,59	6,07 ± 0,11	0,03	10			
Lípidos	7,27 ± 0,6	7,10 ± 0,15	0,2	8			
Carbohidratos	48,07 ± 1,56	64,71 ± 0,12	16,6				
Cenizas	0,32 ± 0,07	0,80 ± 0,02	0,5				

MODIFICACIÓN DEL PROCESO DE SALADO-MADURADO DE ANCHOÍTA (*ENGRAULIS ANCHOITA*) COMO ESTRATEGIA PARA EVITAR EL PELIGRO ASOCIADO A *ANISAKIS SIMPLEX*

Marina Czerner^{1,2}, María Isabel Yeannes^{1,2}

1. RESUMEN

En este trabajo se propone introducir una modificación en el proceso tradicional de elaboración de anchoíta salada-madurada que permita eliminar el peligro de contaminación del producto con el parásito *Anisakis simplex*. En el proceso tradicional se realiza el presalado del pescado entero, que luego se descabeza y eviscera para ser colocado en tambores con sal para su maduración. Una vez que el producto adquiere las características sensoriales deseadas (6-12 meses), se retira de los tambores y se elaboran los filetes para ser consumidos. El cambio planteado consiste en modificar la secuencia de operaciones, realizando el fileteado de los ejemplares antes de la etapa de presalado. De esta forma se reduce el tiempo de contacto entre las vísceras posiblemente infectadas con *A. simplex* y el músculo de la anchoíta. A fin de evaluar la viabilidad de la propuesta se llevaron a cabo experiencias de salado-madurado aplicando el proceso tradicional y el proceso modificado, bajo dos condiciones de prensa y temperatura distintas. La maduración se monitoreó a través de la composición química proximal, índices fisicoquímicos (Nitrógeno Básico Volátil Total, NBV-T; relación Nitrógeno no Proteico/Nitrógeno Total, NNP/NT), color superficial y evaluación sensorial (descriptor puntuados de 0 a 8, siendo 6 el puntaje óptimo). De acuerdo a los resultados obtenidos, no existen diferencias significativas en la composición del producto obtenido en los lotes estudiados ($p > 0.01$). A su vez, se registró un incremento en los índices NBV-T y NNP/NT

CONTACTO: Marina Czerner mczerner@fi.mdp.edu.ar

1. Grupo de Investigación Preservación y Calidad de Alimentos,
Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Mar del Plata.

2. CONICET. CCT-Mar del Plata, Argentina.

que se ajustó adecuadamente a una cinética de orden 0 ($R^2 > 0.9230$). La constante cinética no presentó diferencias significativas para las muestras obtenidas por los dos procesos. La evaluación sensorial mostró una menor velocidad de maduración en las muestras obtenidas por el proceso modificado, donde los atributos con menor puntuación fueron el color y la textura (puntaje: 2-3 para color y 4-5 para textura). Los filetes obtenidos por el proceso modificado presentaron un menor valor a^* , que indica menor intensidad de color rojo. Los resultados obtenidos indican que es posible obtener anchoita salada-madurada mediante el proceso modificado. Si bien el producto así obtenido presentó características sensoriales levemente diferentes a las tradicionales, los jueces manifestaron aceptación del mismo.

2. INTRODUCCIÓN

El salado madurado de *Engraulis anchoita* es un proceso tradicional mediante el cual se obtiene un producto con características sensoriales típicas. En una primera etapa, presalado, se sumerge el pescado entero en baños de salmuera sobresaturada para reducir su a_w y favorecer el desangrado. Luego se descabeza en forma manual (eliminando parte de las vísceras), se coloca en barriles, alternando capas de sal y de pescado y se prensa. El madurado es un proceso que puede demandar entre 8 y 12 meses e implica una serie de transformaciones que incluyen proteólisis, lipólisis y oxidación de lípidos. Como resultado de estos cambios el producto adquiere una consistencia firme, un color rosado uniforme y flavor característico.

La especie *E. anchoita* es la más abundante y menos explotada del Atlántico Sudoccidental. De los países de la región, Argentina es pionera en el procesamiento de esta especie para consumo humano, siendo el salado-madurado el principal producto elaborado. La anchoíta salada-madurada se encuentra muy bien posicionada en el mercado externo y es exportada en tambores como producto intermedio a Estados Unidos, Marruecos y distintos países de Europa, donde se reprocessa para obtener el producto final (principalmente filetes en aceite o en salmuera) (Pastous-Madureira y col., 2009).

Actualmente la especie *E. anchoita* se encuentra altamente parasitada con *Anisakis simplex*. Este parásito tiene como huésped al hombre, generándole diversos problemas de salud. Ha sido científicamente comprobado que los mismos se encuentran en las vísceras del pescado (de la anchoíta en este caso) y una vez superado el

rigor mortis, comienzan a invadir la parte muscular. Si bien se ha determinado que el proceso de salado inactiva este parásito en el término de varios días, el anisakis libera una serie de sustancias en los tejidos que los rodean, los cuales pueden consumirse junto al pescado aún cuando las larvas estén muertas causando en muchos casos problemas de alergia. Por este motivo, en este trabajo se considera la posibilidad de modificar la secuencia de operaciones tradicional de salado-madurado, de forma de comenzar la elaboración con la obtención del filete y luego realizar el presalado y la maduración. De esta forma se efectúa la eliminación temprana de las vísceras, reduciendo el peligro potencial de contaminación del músculo con el parásito. La elaboración del producto propuesto genera un cambio tecnológico y diferente diagrama operacional. A fin de evaluar la viabilidad de esta modificación se plantea el objetivo de determinar su efecto sobre las características fisicoquímicas y sensoriales del producto final obtenido.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

DISEÑO EXPERIMENTAL

Se realizaron experiencias de salado-madurado de anchoíta, en las cuales se modificó el proceso tradicional mediante un cambio de la secuencia de operaciones, según el esquema presentado en la Figura 1. Se obtuvo anchoíta salada-madurada según el proceso tradicional, la cual se utilizó como control. Las experiencias se llevaron a cabo bajo dos condiciones distintas de prensa y temperatura de maduración. La denominación de las muestras y condiciones operativas correspondientes se detallan en la Tabla 1.

EVALUACIÓN SENSORIAL

Se realizó la evaluación sensorial de las muestras a fin de obtener información acerca de la evolución de la intensidad de los distintos atributos, determinar el grado de maduración y establecer el final del proceso. Se utilizó la Tabla desarrollada por Filsinger y col. (1982), que contempla: sabor, color de la carne, aroma, textura y adherencia de los filetes al espinazo. Cada atributo es puntuado de 0, correspondiente a la anchoíta fresca; a 8, el cual corresponde a un producto sobremadurado o que se descarta por fallas. El puntaje 6 equivale a la anchoíta en su punto óptimo de maduración, presentando un tono rosado uniforme, sabor ajamonado, aroma característico y filetes de textura firme, los cuales pueden ser separados correctamente del espinazo.

COLOR SUPERFICIAL

Se llevaron a cabo determinaciones de color superficial de los filetes de anchoíta obtenidos en las distintas experiencias, al final del proceso de maduración. Las mediciones se realizaron sobre la cara interna del filete, en la zona ventral y en la zona ubicada a 1 cm de la cola. Los valores presentados son el promedio de las mediciones efectuadas sobre cinco filetes distintos seleccionados al azar por cada muestra. Se utilizó un colorímetro triestímulo Lovibond, Modelo SP60 (UK) con iluminante D_{65} , observador estándar de 2° y escala de color CIELab (CIE, 1976).

ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS

Parámetros de control de proceso

Se seleccionaron como parámetros de control la composición química proximal, el contenido de NaCl, la actividad de agua (a_w) y el pH, ya que permiten ubicar al producto en cuanto a su estabilidad respecto de los distintos procesos posibles de alteración o deterioro. La composición química proximal se determinó de acuerdo a los métodos estandarizados de AOAC (1993): humedad por secado a $105 \pm 1^\circ\text{C}$ hasta peso constante, lípidos por hidrólisis ácida, proteínas por Kjeldhal (factor 6.25) y cenizas por calcinación a $500 \pm 5^\circ\text{C}$. El contenido de NaCl se determinó mediante el método de Mohr (Kirk y col., 1996). El pH se determinó por medición de la muestra homogeneizada con 10 ml de H_2O , utilizando un electrodo combinando de vidrio. La a_w se midió mediante un higrómetro digital Aqualab, modelo CX-2T (Decagon®, Pulman, Estados Unidos).

Índices fisicoquímicos

Se monitorea el proceso de maduración mediante los índices Nitrógeno Básico Volátil Total (NBV-T) y Nitrógeno no Proteico/Nitrógeno Total (NNP/NT). El NBV-T se determinó mediante el método de destilación directa (Gianinni y col., 1979). La relación NNP/NT se calculó a partir de la determinación de nitrógeno total según el método de Kjeldahl (AOAC, 1993), en la muestra (NT) y en el extracto obtenido luego del tratamiento con TCA 7.5 % p/p (NNP) (Hernández-Herrero, 1999).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados se analizaron mediante un Análisis de Varianza (ANOVA) a fin de determinar la existencia de diferencias entre los lotes y el efecto del tiempo de ma-

duración sobre los distintos parámetros estudiados. En aquellos casos en los cuales se observaron diferencias estadísticamente significativas, se utilizó a posteriori un test de comparaciones múltiples (test de Tukey). Los resultados experimentales se procesaron con STATISTICA 5.1 (Statsoft, Inc., Tulsa, USA).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Figura 2 muestra la evolución de los índices NBV-T y NNP/NT durante la maduración de los lotes C-A y MP-A. Se observó un aumento neto tanto en el contenido de NBV-T como en la relación NNP/NT durante el proceso para todos los lotes estudiados. Este incremento se ajustó adecuadamente a un modelo cinético de orden 0 para ambos índices, cuyas constantes de velocidad se resumen en la Tabla 2. Al comparar los resultados obtenidos para C-A y MP-A se observa que MP-A registró una menor velocidad de generación de NBV-T así como un menor valor en el producto obtenido al finalizar el periodo de maduración estudiado ($p < 0,01$) (Figura 2a y Tabla 2). Resultados análogos se obtuvieron en los lotes C-B y MP-B, donde la maduración de filetes se tradujo en un menor contenido de NBV-T en el producto obtenido (MP-B: $79,16 \pm 0,62$ mg%NBV-T; C-B: $90,98 \pm 0,06$ mg%NBV-T) ($p > 0,01$). Este efecto puede estar dado en parte, por una mayor difusión de las bases hacia la salmuera en el caso del filete, facilitada por la exposición directa del músculo y también debido a la ausencia de las enzimas digestivas, las cuales podrían aportar un mayor incremento del NBV-T. En cuanto al índice NNP/NT, no se encontraron diferencias significativas en su evolución para los lotes procesados según el método tradicional o el modificado ($p < 0,01$).

Con respecto a la composición química proximal, la misma no mostró diferencias importantes al comparar el producto obtenido mediante el procesamiento tradicional o el modificado. A su vez, el contenido de NaCl y los valores de a_w y pH fueron similares en los cuatro lotes (Ver Tabla 3).

En la Figura 3 se presenta la evolución del puntaje sensorial global para los distintos lotes C-A y MP-A. Este puntaje se calculó como el promedio de los valores otorgados por los jueces a los descriptores aroma, adherencia al espinazo, color, textura y sabor (Filsinger y col., 1982). Puede observarse que el lote MP-A obtuvo una menor puntuación global durante el periodo estudiado, indicando un menor grado de maduración, en concordancia con lo observado a partir del índice NBV-T.

Los gráficos radiales presentados en la Figura 4 permiten analizar individualmente la incidencia de la modificación propuesta sobre las características sensoriales del producto obtenido a 120 y 390 días de maduración. Como puede observarse, el producto obtenido a partir del proceso modificado (MP-A y MP-B) presentó luego de 120 días de maduración una menor puntuación para el color y la textura ($p < 0.01$) y similares puntajes para el resto de los atributos (figuras 4a y 4b). En el caso de las experiencias realizadas bajo las condiciones operativas B, la maduración se produce más rápidamente debido a la menor presión aplicada (19 g/cm^2 en B y 80 g/cm^2 en A). Por este motivo, luego de 120 días se finalizó el proceso ya que el lote control alcanzó puntajes cercanos y en algunos casos superiores a 6 (puntaje que representa las características sensoriales óptimas). Resulta interesante señalar el comportamiento de los lotes C-A y MP-A, en los cuales al proseguir el proceso de maduración (390 días, Figura 4c) los filetes obtuvieron mayor puntaje en aroma y sabor, adquiriendo características de un producto sobremadurado, que en este caso de acuerdo a lo manifestado por los jueces y los valores obtenidos previamente para el TBA (Czerner y col., 2011), no sería atribuible a la oxidación de las grasas sino a productos de la proteólisis o de la actividad microbiana.

La medición instrumental del color superficial permitió cuantificar las diferencias observadas en el producto obtenido por el método tradicional y el modificado. El efecto sobre el color se evidenció claramente en los valores del parámetro a^* , que en el rango de las mediciones realizadas se asocia al color rojo. Este valor se incrementa durante la maduración debido a la coloración que toma el músculo, el cual inicialmente presenta un color perláceo con la zona del espinazo rojo oscuro y adquiere progresivamente un tono rosado intenso uniforme (Czerner y col., 2011). Los valores de L^* , a^* y b^* registrados en los distintos lotes se presentan en la Tabla 4. Se observa que el valor a^* resulta sensiblemente menor cuando se realiza la maduración de filetes (proceso modificado) en comparación con la maduración de anchoíta H&G. Esta diferencia puede atribuirse al mayor desangrado que se produce en los filetes en la etapa de presalado, el cual lleva a una menor intensidad de color en el producto madurado. Cabe señalar que los jueces coincidieron en que si bien el color obtenido en la muestra no se corresponde con el color tradicional, el mismo resulta agradable y aceptable para su consumo.

De acuerdo a los resultados hallados, la presencia de parte de las vísceras (tracto pilórico) durante el madurado influiría en el desarrollo de las características senso-

riales. Distintos autores han indicado previamente que una evisceración y limpieza rigurosas llevan a una maduración más lenta y a un producto que no adquiere el flavor característico (Voskresensky, 1965; Steffánson y Guðmundsdóttir, 1995; Hernandez-Herrero y col., 1999). Los resultados obtenidos para los lotes en los cuales se llevó a cabo la maduración de filetes (MP-A y MP-B) indican una evolución de los atributos sensoriales adherencia al espinazo, aroma, textura y sabor hacia un producto madurado, si bien a una menor velocidad. A su vez, se verificó un aumento del NBV-T en los mismos. Este hecho podría sugerir que si bien la completa eliminación de las vísceras lentifica el proceso, podría existir una contribución de los sistemas enzimáticos musculares y microbianos al madurado del producto, afianzando la idea de que el proceso se desarrolla en virtud de una combinación de factores endógenos y microbianos.

5. CONCLUSIONES

En este trabajo se propone una modificación al proceso de salado-madurado de anchoíta que consiste en realizar el fileteado previo a la etapa de presalado, lo que implica la maduración de filetes en vez de los tradicionales ejemplares H&G. Esta alternativa tecnológica resuelve el peligro que implica la potencial contaminación de anchoíta salada-madurada con el parásito *Anisakis simplex*. Los valores determinados para los índices NBV-T y NNP/NT indican que existen modificaciones fisicoquímicas asociadas a la maduración, si bien ocurren a una menor velocidad que en el proceso tradicional. A su vez, la maduración de filetes lleva a un menor desarrollo de los atributos sensoriales así como el producto obtenido no presenta el color rosado uniforme característico, sino un color más claro. No obstante, resultó un producto, si bien diferente al tradicional pero agradable al consumo.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOAC.(1993). Official methods of analysis (16th Ed.).Association of Official Analytical Chemists. Washington DC.
- Czerner, Marina; Tomás, Mabel C.; Yeannes, María I. (2011). Ripening of salted anchovy (*E. anchoita*): development of lipid oxidation, color and other sensorial characteristics. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91 (4): 609-615.

- Filsinger, B; Barassi, CA; Lupín, HM; Trucco, RE. (1982). An objective index for the evaluation of the ripening of salted anchovy. *Int. J. Food Sci. Technol.* 17 (2): 193-200.
- Giannini, D, Davidovich, L, Lupín, HMM.(1979). Adaptación de método de uso comercial para la determinación de Nitrógeno Básico Volátil en merluza (*Merluccius hubbsi*). *Red AgroquimTecnol. Aliment*, 19 (1): 55-60.
- Kirk, R; Sawyer, R; Egan, H. (1996). Composición y Análisis de Alimentos de Pearson. Segunda Edición. Editorial Continental S.A. De C.V. México.
- Hernández-Herrero, MM; Roig-Sagués, AX; López-Sabater, EI; Rodríguez-Jerez, JJ; Mora-Ventura, MT.(1999b). Protein hydrolysis and proteinase activity during the ripening of salted anchovy (*Engraulis encrasicolus l.*). A microassay method for determining the protein hydrolysis. *J. Agric. Food Chem.* 47 (8): 3319-3324.
- PastousMadureira, 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., FernándezAmorín, S. (2009). Current and potential alternative food uses of the Argentine anchoita (*Engraulis anchoita*) in Argentina, Uruguay and Brazil. In M.R. Hasan and M. Halwart (Eds.), *Fish as feed inputs for aquaculture: practices, sustainability and implications* (pp. 269–287). FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper.No. 518. Rome, FAO.
- Steffánson, G; Guðmundsdóttir G. (1995). Free amino acids and their relationship to taste in (salt) ripened pelagic fish species. Rf Report 91, Icelandic Fish Laboratories.
- Voskresensky, NA. (1965). Salting of herring. En *Fish as Food*, Vol III. Ed.: Borgstrom, G. Academic Press, Londres. pp. 107-131.

7- TABLAS Y FIGURAS

TABLA 1. Denominación de las muestras y diseño experimental

		Corte		Nivel de Prensa (g/cm ²)	Temperatura de maduración (°C)
		Presalado	Madurado		
Proceso tradicional (Figura 1a)	C-A	Entero	HyG	80	15
	C-B	Entero	HyG	19	20
Proceso modificado (Figura 1b)	MP-A	Filete	Filete	80	15
	MP-B	Filete	Filete	19	20

TABLA 2. Constante cinética para los índices de maduración NBV-T (mg NBV-T/100g/día) y NNP/NT, considerando cinética de orden 0

		NBV-T		NNP/NT	
		k_0	R^2	k_0	R^2
Proceso tradicional	C-A	0,3627 ± 0,0349	0,9230	0,048 ± 9,14 x 10 ⁻⁴	0,9965
Proceso modificado	MP-A	0,3023 ± 0,0245	0,9443	0,051 ± 5,98 x 10 ⁻⁴	0,9986

TABLA 3. Composición proximal, contenido de NaCl, aw y pH de anchoíta salada-madurada obtenida luego de 390 días de maduración para C-A y MP-A, y 120 días para C-B y MP-B

	Procesotradicional		Proceso modificado	
	C-A	C-B	MP-A	MP-B
Humedad	52,65 ± 0,28 ^a	55,52 ± 0,81 ^b	53,83 ± 0,10 ^{ac}	55,89 ± 0,58 ^b
Proteínas	4,57 ± 0,29 ^a	8,88 ± 0,35 ^b	4,60 ± 0,09 ^a	9,15 ± 0,62 ^b
Lípidos	21,51 ± 0,20 ^a	14,81 ± 0,65 ^b	22,53 ± 0,78 ^a	15,03 ± 0,98 ^b
Cenizas	20,25 ± 0,04 ^a	20,22 ± 0,06 ^a	18,32 ± 0,05 ^b	19,85 ± 0,08 ^c
NaCl	17,75 ± 0,17 ^a	17,96 ± 0,25 ^a	15,67 ± 0,07 ^b	17,66 ± 0,30 ^a
aw	0,759 ± 0,002	0,770 ± 0,004	0,749 ± 0,006	0,775 ± 0,004
pH	5,36	5,68	5,63	5,82

TABLA 4. Coordenadas L^* , a^* y b^* registrados para anchoíta salada-madurada

		L^*	a^*	b^*
Proceso tradicional	C-A	40,9 ± 2,6	22,0 ± 2,0	11,7 ± 0,4
	C-B	37,7 ± 4,65	19,84 ± 2,62	10,25 ± 1,29
Proceso modificado	MP-A	43,1 ± 3,1	16,3 ± 1,3	9,8 ± 1,3
	MP-B	48,86 ± 1,74	10,87 ± 1,79	9,59 ± 1,34

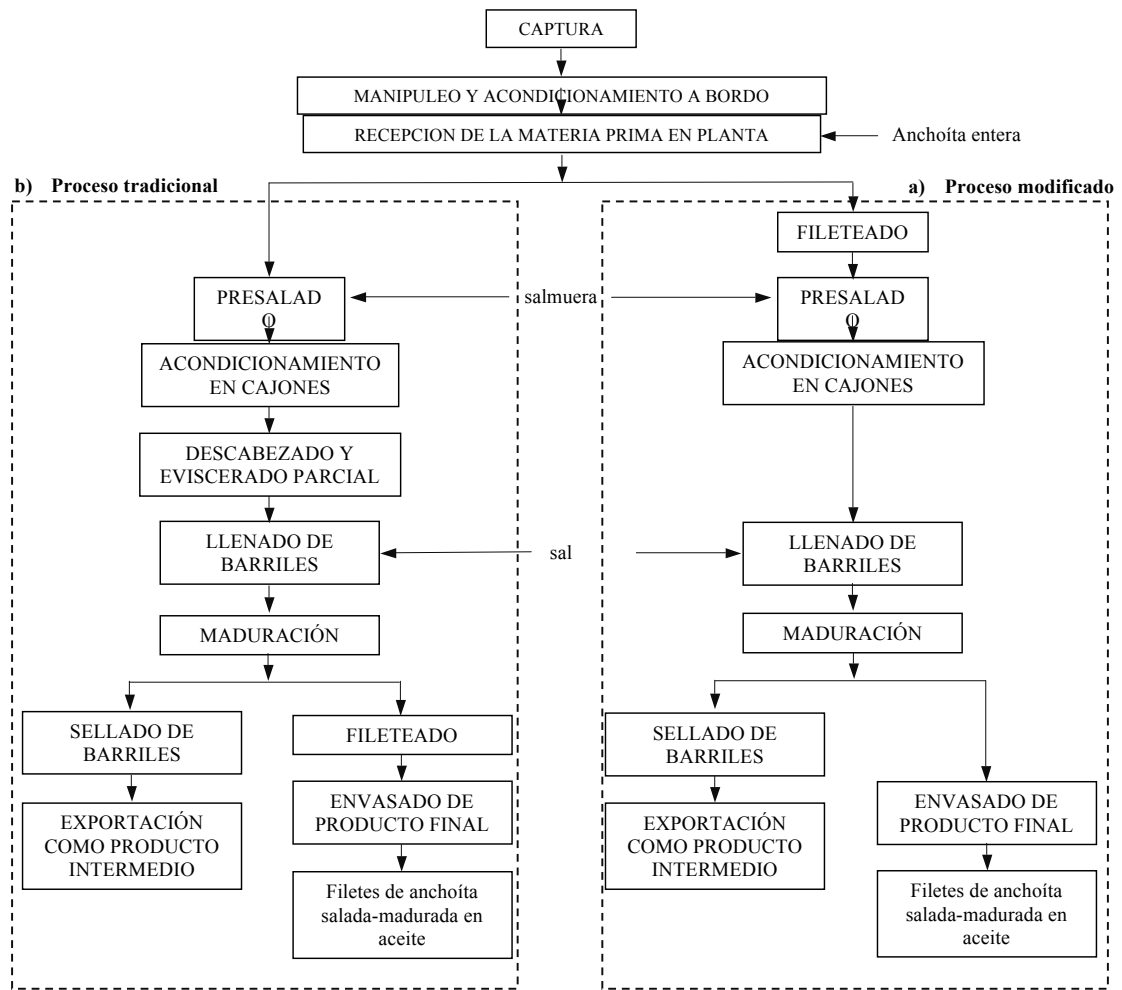


FIGURA 1. Diagrama de flujo de proceso de salado-madruado de anchoíta

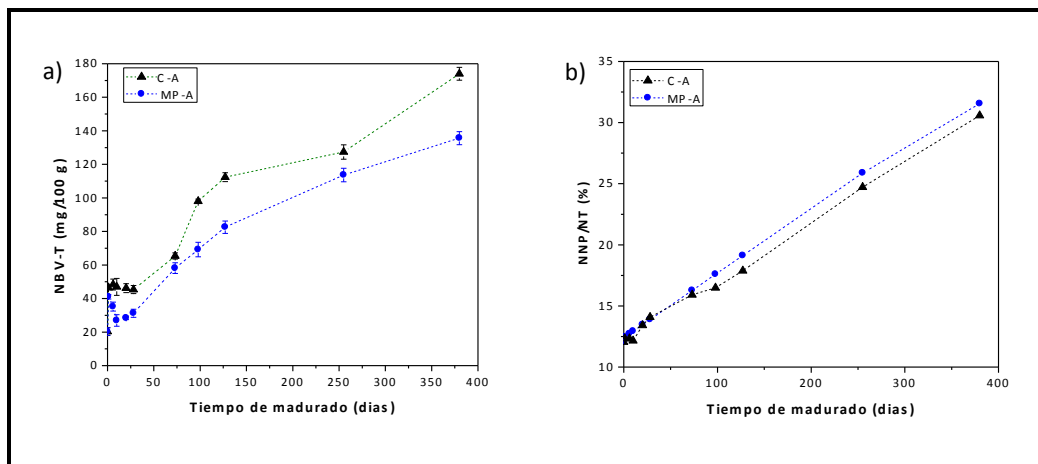


FIGURA 2. Evolución de los índices de maduración NBV-T (Figura 2a) y NNP/NT (Figura 2b) durante la maduración efectuada según el proceso tradicional (C-A) y el proceso modificado (MP-A)

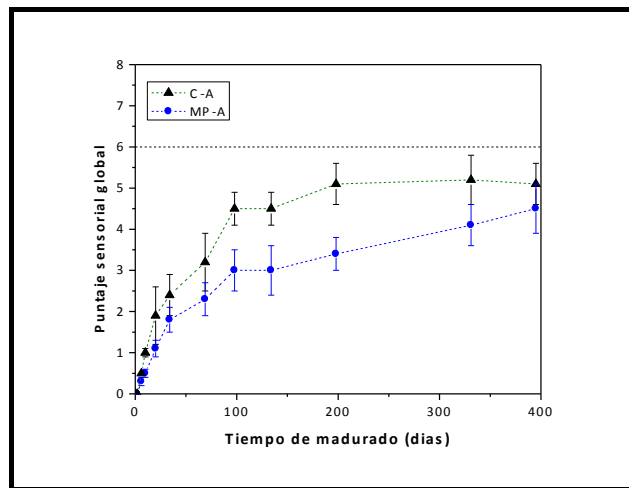


FIGURA 3. Evolución del puntaje sensorial global durante la maduración efectuada según el proceso tradicional (C-A) y el proceso modificado (MP-A)

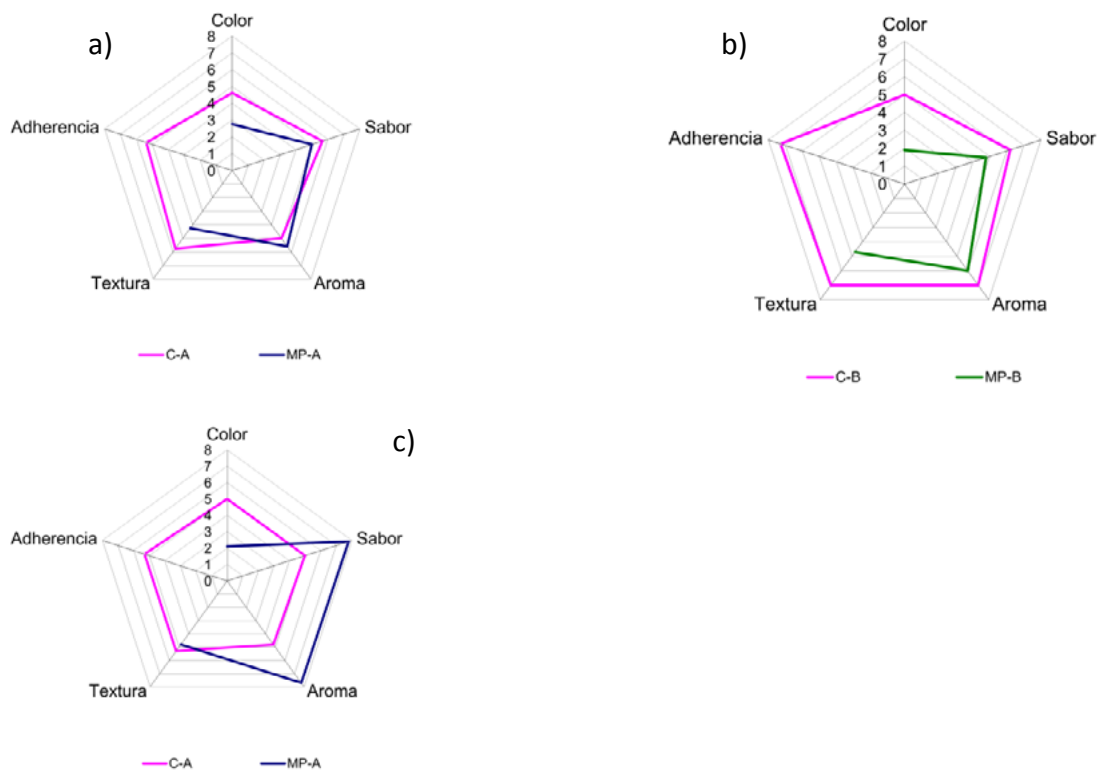


FIGURA 4. Influencia del tipo de proceso (tradicional, modificado) sobre las características sensoriales de anchoíta salada-madurada. (a) Nivel de prensa 80 g/cm², Temperatura 15 °C, t=120 d, (b) Nivel de prensa 19 g/cm², Temperatura 20 °C, t=120 d (c) iguales condiciones que (a), t=385 d

ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE GOMA ARÁBIGA FRENTE A MICROORGANISMOS PSICRÓTROFOS EN LECHE

Virginia Gonzalez Estevez¹, María Laura Boiero¹, Mariana Angélica Montenegro^{1,2}

1. RESUMEN

La gran mayoría de los alimentos durante su procesamiento, almacenamiento y/o transporte sufren deterioros por la acción de microorganismos (MO) presentes en su matriz. Su desarrollo puede traer aparejada la producción de enzimas líticas termorresistentes, provocar modificaciones organolépticas (*off-flavour*) y la degradación de nutrientes valiosos, generando importantes pérdidas en la calidad del producto. La leche, rica en sustancias nutritivas y con una elevada a_w , resulta un medio susceptible al ataque microbiano. La refrigeración a bajas temperaturas, método ampliamente utilizado para prevenirlo, puede favorecer la selección de MO psicrótrofos. Existe una nueva tendencia a la preservación de los alimentos mediante el empleo de compuestos naturales (CN) biológicamente activos. Específicamente en la industria láctea, se adicionan CN con un rol tecnológico definido, como es el caso de Goma Arábiga (GA), un polímero previsto como espesante/estabilizante por el Código Alimentario Argentino. El objetivo del presente trabajo fue evaluar, si GA grado alimentario (GAA) además de su función tecnológica, tiene actividad antimicrobiana (AAM). En particular, se determinó su capacidad para reducir la velocidad de crecimiento (μ) de MO psicrótrofos, tanto frente a una cepa de referencia *Pseudomonas aeruginosa* ATCC® 27853™ (Pa), como a una cepa aislada de leche cruda e identificada genotípicamente como *Pseudomonas* sp. (Ps). Debido a que GAA tiene una pureza moderada, se estudia también GA de alta pureza (GAP) para comparar las propiedades de ambos compuestos. Se determinó la AAM a

CONTACTO: Virginia Gonzalez Estevez virginia_ge@frvm.utn.edu.ar

1. Dpto de Ing. Química, Universidad Tecnológica Nacional, Facultad Regional Villa María, Argentina.

2. Centro de Investigaciones y Transferencia Villa María (CITVM – CONICET), Universidad Nacional de Villa María, Argentina.

través de recuento en placa por triplicado en agar PCA. Los resultados obtenidos indican que GAA y GAP poseen AAM frente a ambos MO ejerciendo un efecto bacteriostático, siendo GAA más eficiente, lo que estaría demostrando una mayor funcionalidad del CN estudiado, con una potencial aplicación en la preservación de la leche.

2. INTRODUCCIÓN

La gran mayoría de los alimentos durante su procesamiento, almacenamiento y/o transporte pueden sufrir deterioro por la acción de MO presentes en su matriz. Su desarrollo provoca alteraciones organolépticas (*off-flavour*) debido a la generación de compuestos volátiles (Karatapanis et. al., 2006; Kilcast y Subramaniam, 2000) y degradación de nutrientes (utilizados como sustratos) valiosos para la alimentación humana y necesarios para obtener buenos resultados en la elaboración de productos derivados del alimento afectado. La leche es una matriz compleja, rica en sustancias nutritivas, con una elevada actividad de agua, factores que la convierten en un medio sumamente susceptible al ataque microbiano.

En la industria de alimentos en general y, en la industria láctea en particular, se emplean CN con un rol tecnológico definido como es el caso de GA, cuyo uso está previsto como espesante/estabilizante de productos lácteos en el CAA.

El objetivo del presente trabajo consistió en evaluar una funcionalidad adicional de GAA, su capacidad antimicrobiana. Las tendencias mundiales hacia el reemplazo de los aditivos artificiales por los de origen natural, potencian el desarrollo de esta investigación. Paralelamente, debido a que GAA tiene una pureza moderada, se evalúa también esta propiedad en GAP de manera de poder comparar esta propiedad en ambos compuestos.

Debido a que, durante su transporte desde el tambo a la fábrica y una vez en ella, la leche se almacena a bajas temperaturas, el efecto de los compuestos antes mencionados se evalúa frente a un MO aislado de leche cruda, *Pseudomonas* sp. (Ps) y la cepa de referencia *Pseudomonas aeruginosa* (Pa), ambos psicrótrofos. La elección de los MO a estudiar se llevó a cabo teniendo en cuenta que más del 50 % de los aislamientos psicrótrofos de leche cruda pertenecen al género *Pseudomonas* (McKellar, 1989; Cousin, 1982; Chandler et al., 1985; Mc Phee et al., 2002). Además, cuando la leche cruda se almacena a 4 °C, *Pseudomonas* sp. puede producir suficientes proteasas

como para hidrolizar toda la caseína disponible transformándola en péptidos solubles (Mc Kellar, 1989; Sørhaug *et al.*, 1997) y constituye la preocupación principal con respecto a la degradación lipolítica de la leche (Shah, 1994; Mc Phee *et al.*, 2002). En base a lo anteriormente expuesto, se propuso la determinación de la capacidad de los compuestos antes mencionados para reducir la velocidad de crecimiento (μ) de estos MO, empleando la técnica de recuento en placa, a través de siembra en profundidad.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Compuestos naturales

Se estudiaron Goma Arábica Samspray 1 LQ (GAA) y Goma Arábica Purísima Biopack (GAP).

Microorganismos

Se utilizó *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC® 27853™) como cultivo de referencia.

Aislamiento y caracterización de MO de leche

El aislamiento de los MO a partir de leche cruda (almacenada a 4 °C inmediatamente concluido el ordeño), se realizó a través de siembra en profundidad de una dilución 10^{-2} de la muestra, empleando PlateCount Agar (PCA) y agar Cetrimide (AC), un medio selectivo para el género *Pseudomonas*. Las placas fueron incubadas a 4 °C durante 10 días. Cultivos puros fueron obtenidos tras sucesivos repiques en PCA. Se realizó además la caracterización morfológica y bioquímica preliminar de los aislamientos obtenidos mediante tinción de Gram, pruebas de la catalasa y oxidasa, etc. Ciertas cepas de interés fueron seleccionadas, para continuar con su caracterización genotípica.

Caracterización genotípica de los aislamientos

La extracción de ADN genómico de los aislamientos seleccionados se llevó a cabo a partir de cultivos en fase exponencial tardía, crecidos en caldo nutritivo, empleando el kit comercial WizardGenomic DNA-Purification Kit (Promega, USA) según las especificaciones del fabricante. El ADN obtenido se empleó como templado para la realización de los ensayos de biología molecular llevados a cabo en este estudio.

Amplificación y secuenciación del gen 16S ARNr

Se realizó la identificación genotípica mediante amplificación y secuenciación del gen marcador molecular 16S ARNr. La región de interés se amplificó, a partir del ADN templado, empleando los cebadores universales 27f (5'-AGAGTTTGATC-MTGGCTCAG-3') y 1492r (5'-TACGGYTACCTTGT TACGACTT -3') (Weisburg *et al.*, 1991). Los productos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) fueron precipitados y purificados (DNA Clean and Concentrator-5, ZymoResearch, USA) y posteriormente, fueron enviados para su secuenciación, en el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA Castelar, Buenos Aires, Argentina). Los electroferogramas obtenidos se analizaron y editaron manualmente (BioEditSequence Alignment Editor) para obtener las secuencias completas (1300-1500 pb) del gen 16S ARNr. Se analizaron las secuencias del gen 16S ARNr, con el objetivo de determinar el género y la especie más cercana, empleando la base de datos del Ribosomal Data Project (RDP), disponible en <http://rdp.cme.msu.edu/>, utilidad SeqMatch, y también, Basic Local AlignmentSearchtool (BLAST), disponible en <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>. Los análisis fueron además, respaldados con el sitio List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (LPSN), disponible en <http://www.bacterio.net/>.

Determinación de actividad antimicrobiana

Para determinar la curva de crecimiento de Pa (MO de referencia) y de Ps (aislado de leche cruda), con y sin la adición de los antimicrobianos GAA y GAP, se desarrolló la técnica de recuento microbiano con cada uno de ellos. A partir de un inóculo overnight (12 h) en caldo nutritivo, de cada microorganismo estudiado, se preparó un inóculo general, en un frasco con leche en polvo reconstituida en agua estéril, ajustando la concentración a una absorbancia de 0,002, a 600 nm, que equivale a 10^6 UFC/ml. Posteriormente, cada muestra se dividió en porciones iguales, a una de ellas se la reservó y, a las restantes, se les adicionaron los compuestos a estudiar. La proporción en las que fueron adicionados, corresponde a cinco veces las concentraciones permitidas por el CAA, con el objetivo de evaluar la efectividad en una concentración algo más elevada y, posteriormente, diluir la leche adicionada, con leche fresca para alcanzar la cantidad permitida (5 g/l de GA). De esta manera, se logra que el inóculo inicial sea exactamente el mismo en la muestra con y sin antimicrobianos (AM). Las muestras se incubaron a 4 °C durante 10 días. Cada 24

h, se realizó el recuento a través de siembra en profundidad (ICMSF, 2000). Para ello, se tomó una alícuota de cada muestra a diferentes intervalos de tiempo y, tras diluciones seriadas en agua peptonada estéril (0,1 %), se siembra 1 ml en una placa estéril, a la que luego se adicionan 12 ml de PCA. Las placas se incubaron durante 48 h a 37 °C. Una vez transcurrido el tiempo de incubación, se realizó el recuento microbiano de las placas que presentaron entre 30 y 300 colonias, expresando los resultados como unidades formadoras de colonia por mililitro (UFC/ml) y graficándolos en función del tiempo. La μ , (h^{-1}) de cada cultivo microbiano en leche, se determinó a partir de la porción lineal de la pendiente (crecimiento exponencial) de las curvas de crecimiento del MO, con y sin agregado de AM.

El porcentaje de reducción del crecimiento microbiano (%R) ejercido por los compuestos estudiados, fue calculado a través de la Ecuación 1.

$$\%R = \frac{\mu - \mu'}{\mu} \cdot 100 \quad (1)$$

Donde μ y μ' , son las velocidades de crecimiento bacteriano en ausencia y presencia del compuesto estudiado, respectivamente.

Todos los experimentos fueron realizados por triplicado en Cabina de Seguridad Microbiológica Biohazard Clase II (BIO-II-A) bajo flujo laminar. Además todos los materiales usados en los experimentos fueron previamente esterilizados.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Aislamiento e identificación de MO de leche

De los MO que se desarrollaron en medios ricos a 4 °C (psicrótrofos), fueron aisladas y purificadas 13 cepas, siguiendo la metodología anteriormente expuesta. A partir de los cultivos puros, las cepas fueron caracterizadas en base a la morfología de colonia, tinción de Gram, filancia y pruebas bioquímicas. De ellos, fue seleccionado un bacilo corto Gram negativo, catalasa y oxidasa positivos, identificado preliminarmente como Ps, hipótesis respaldada por su crecimiento selectivo en AC.

Como se indicó inicialmente, para confirmar la identificación de género se empleó la utilidad Classifier de RDP (a través de sus aplicaciones Classifier y Seqmatch) y para la identificación de la especie más probable se empleó la base de datos RDP. La identificación genética confirmó que el MO aislado corresponde

al género propuesto. Según la utilidad Classifier de la base de datos RDP, la cepa aislada seleccionada pertenece al dominio Bacteria, phylum Proteobacteria, clase Gammaproteobacteria, orden Pseudomonadales, familia Pseudomonadaceae, género Pseudomonas y fue específicamente identificado como *Pseudomonas* sp., con alta probabilidad de corresponder a la especie *Pseudomonas aeruginosa* (N° de acceso: X3; AY631240) con un 100,0 % de similitud, según RPD.

Determinación de actividad antimicrobiana

La Figura 1 muestra las curvas de crecimiento de Pa a 4 °C en leche, con y sin la adición de GAA y GAP. La Figura 2, corresponde a las mismas gráficas, pero para Ps. En todos los casos puede observarse una disminución de la velocidad de crecimiento de los MO con la adición de los compuestos estudiados, siendo más efectiva GAP.

Resulta importante destacar que, más allá de la reducción de μ , como puede apreciarse en la Figura 2.a., cerca de las 150 h, GAA comienzan a generar una fase de latencia, mientras que el MO, en ausencia de ella, continúa en fase exponencial, esto resultaría en un recuento microbiano final menor. GAP resultó particularmente efectiva frente a Pa generando un %R del 37 %.

En la Tabla 1, se muestran las velocidades de crecimiento calculadas a partir de las curvas antes mencionadas. Allí puede verse que todos los compuestos presentan AAM. La unidad de concentración empleada es g/l debido a que, al trabajar con un aditivo grado alimentario, no se conoce su peso molecular y, esa es la unidad que se utiliza en el CAA para indicar los límites permitidos. Por otro lado, para poder llevar a cabo una comparación más apropiada, se utilizó la misma cantidad de GAP.

Teniendo en cuenta que GAA no es un compuesto puro y que se la emplea actualmente con un propósito tecnológico completamente distinto al que se está evaluando, el %R provocado por su presencia, es importante. Por otra parte, los mayores %R encontrados para GAP resultan lógicos si se tiene en cuenta que el compuesto bioactivo se encuentra en una mayor proporción.

Discusión

Los resultados de las curvas de crecimiento evidencian que GA ejerce un efecto bacteriostático frente tanto a MO de referencia como aislados de leche cruda, causando una reducción de la velocidad de crecimiento, sin provocar su inhibición, lo cual concuerda con numerosos estudios sobre la capacidad antimicrobiana de CN. Además,

como se mencionó anteriormente, GAP presenta una mayor AAM que GAA, lo que se relaciona directamente con la concentración del compuesto bioactivo.

La AAM mostrada puede atribuirse a enzimas como oxidasas, peroxidasas y pectinasas presentes en su fracción proteica. Se han demostrado las propiedades antimicrobianas de algunas de estas enzimas (Tyler *et al.*, 1977; Kirtikar *et al.*, 1984).

Para que los AM alcancen su diana o sitio de acción, deben atravesar la cubierta bacteriana. Las bacterias Gram negativas, como Pa y Ps ofrecen mayor resistencia que las Gram positivas a la entrada de antimicrobianos, ya que poseen una membrana celular externa, que rodea la capa de péptidoglucano. Por ello, en las bacterias Gram positivas, el límite de exclusión es mucho mayor que el tamaño de la mayoría de los antimicrobianos (Calvo *et al.*, 2009). Esto indicaría que GA tendrían una AAM aún mayor a la obtenida en este estudio, frente a bacterias Gram positivas lo que abre el panorama para futuras investigaciones.

5. CONCLUSIONES

Se demostró que GA, en las dos versiones estudiadas, tienen una importante AAM frente a los MO analizados si se tiene en cuenta que se la adiciona durante el procesamiento de leche con una funcionalidad tecnológica completamente distinta a la que se investigó en este estudio. Este hecho resulta sumamente relevante desde el punto de vista tecnológico considerando que una sencilla modificación en el momento en el que se adicionan los CN podría traducirse en un beneficio tecnológico adicional. En la actualidad, GAA se incorpora a la leche una vez que ha sido tratada térmicamente y que se ha definido el producto a elaborar. Lo que se propone, es adicionarla inmediatamente después del ordeño, en un múltiplo de las cantidades permitidas (se evaluó una concentración cinco veces mayor) en la leche cruda, cuyo destino sea un producto lácteo definido, de manera de conocer estas cantidades y poder diluirla posteriormente para alcanzar los límites admitidos pero habiendo potenciado su capacidad. La GAA ejercería su AAM en el tambo, el transporte y el almacenamiento refrigerado en la planta procesadora, previamente al tratamiento térmico. La disminución en la μ de los microorganismos psicrótrofos reduciría su número y, por ende, la cantidad de enzimas proteolíticas y lipolíticas producidas. Esto se traduciría en un menor número de nutrientes dañados, valiosos tanto para la nutrición humana como para la obtención de mayores rendimientos en la elaboración de productos lácteos derivados.

Los resultados obtenidos, junto a la actitud del consumidor actual frente a los compuestos sintéticos, potencian la aplicación de aditivos de origen natural frente a los artificiales, también permitidos con la misma funcionalidad tecnológica que el evaluado, pero que no presentan esta ventaja adicional de proteger la calidad microbiológica del alimento e, indirectamente, su calidad nutricional.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CALVO, J., Martínez-Martínez, L. 2009. Mecanismos de acción de los antimicrobianos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 27, 1, 44-52.
- CHANDLER, R.E.; McMeekin, T.A. 1985. Temperature function integration and its relationship to the spoilage of pasteurized, homogenized milk. *Australian Journal of Dairy Technology*. 40, 37-41.
- COUSIN, M.A. 1982. Presence and activity of psychrotrophic microorganisms in milk and dairy products: A review. *Journal of Food Protection*. 45, 172-207.
- ICMSF (International commission on microbiological specifications for foods, of the international union of microbiological societies). 2000. *Microorganismos de los Alimentos, Volumen 1. Su significado y métodos de enumeración*. Ed. Acribia, S.A. Zaragoza España. Segunda Edición. ISBN: 84-200-0908-3.
- KARATAPANIS, A. E.; Badeka, A. V.; Riganakos, K. A.; Savvaidis, I. N.; Kontominas, M. G. 2006. Changes in flavour volatiles of whole pasteurized milk as affected by packaging material and storage time. *International Dairy Journal*. 16: 750-761.
- KILCAST, D., Subramaniam, P. 2000. Introduction. In D. Kilcast, & P. Subramaniam (Eds.). *The stability and shelf-life of food* (pp. 1-19). Cambridge, UK: Woodhead Publishing.
- KIRTIKAR, K.R., Basu, B.D. 1984. *Indian medicinal plants*. (2nd ed.). Delhi, Periodical Expert Book Agency, 3, 1596 -1598.
- MCKELLAR, R.C. 1989. *Enzymes of psychrotrophs in Raw Food*, CRC Press
- MC PHEE, J.D., Griffiths, M.W., 2002. Psychrotrophic bacteria, *Pseudomonas* spp. In: Roginsky, H., Fuquay, J.W., Fox, P.F. (Eds.), *Encyclopedia of Dairy Sciences*, vol. 4. Academic Press, New York, pp. 2340-2351.
- SHAH, N.P. 1994. Psychrotrophs in milk: a review. *Milchwissenschaft*. 49, 432-437.
- SØRHAUG, T., Stepaniak, L. 1997. Psychrotrophs and their enzymes in milk and dairy products: Quality aspects. Review Article. *Trends in Food Science & Technology*. 8, 2, 35 - 41.

TYLER, V., Brady, L., & Robbers, J. 1977. *Pharmacognosy*. 7th ed (p. 66–80). Philadelphia: Lea &Febiger.

WEISBURG W.G., Barns S.M., Pelletier D.A., Lane D.J., 1991. 16S Ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *Journal of Bacteriology*. 173, 2, 697-703.

7. TABLAS Y FIGURAS

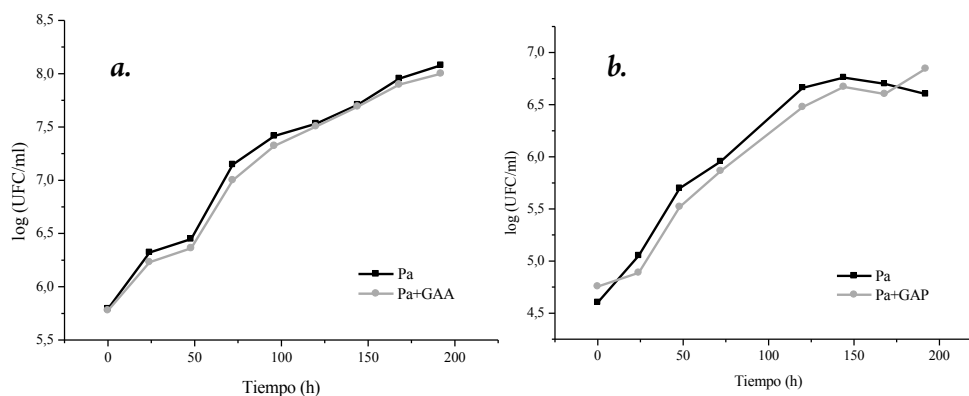


FIGURA 1. Curvas de crecimiento de Pa en leche a 4 °C con y sin adición de *a.* GAA y *b.* GAP

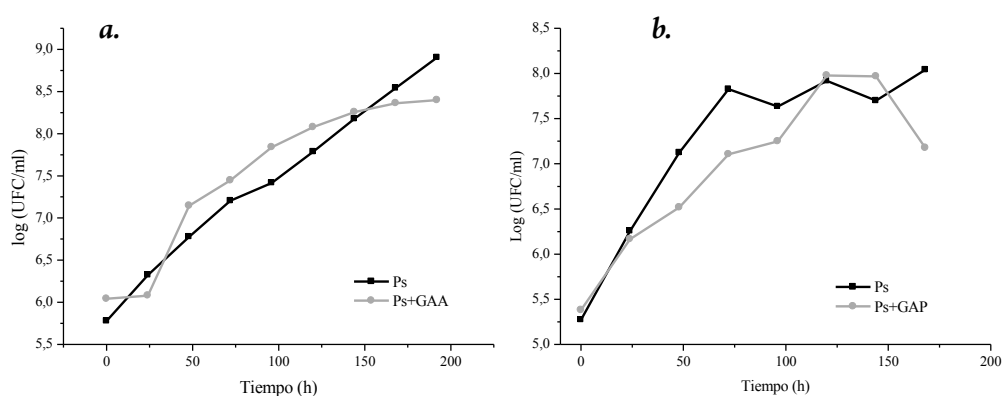


FIGURA 2. Curvas de crecimiento de Ps en leche a 4 °C con y sin adición de *a.* GAA y *b.* GAP

TABLA 1. μ y % R de Pa y Ps en leche con y sin agregado de GAA y GAP

Compuesto	Concentración (g/l)	Pa		Ps	
		μ (h ⁻¹)	%R	μ (h ⁻¹)	%R
GAA	0	0,043± 0,003	-	0,034± 0,002	-
	25	0,039± 0,002	12	0,029± 0,002	15
GAP	0	0,037± 0,004	-	0,073± 0,001	-
	25	0,023± 0,002	37	0,055± 0,001	24

TECNOLOGÍA DE RECUBRIMIENTOS CON ACTIVIDAD PREVENTIVA EN EL CONTROL DE *PENICILLIUM DIGITATUM* EN NARANJAS

Gustavo Daniel Suárez, Lauro Rafael Bordenave, Delia Elisa Locaso,
Valeria Carina Bordagaray, Mario Pisonero

1. RESUMEN

Uno de los desafíos actuales en la citricultura mundial plantea el uso sostenible de fitosanitarios lo que conlleva a desarrollar tecnologías que tengan en cuenta la problemática de los residuos de agroquímicos, en especial en los productos aplicados en la postcosecha. Preservar la seguridad de los seres humanos y del ambiente deben ser criterios primordiales al momento de seleccionar nuevos compuestos. La propuesta de esta investigación es una tecnología de recubrimientos que utiliza el biopolímero quitosano, el cual se obtiene como subproducto de los desechos de la industria pesquera. El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de dicha tecnología de recubrimiento frente a tratamientos convencionales en el control preventivo de la podredumbre por *Penicillium digitatum*. Asimismo, se evaluó la deshidratación como parámetro relevante en la calidad comercial. Se trabajó con naranjas Valencia recubiertas en línea de empaque experimental, con el recubrimiento propuesto RQ solo y combinado con 250 ppm de imazalil (RQ+F) frente a un tratamiento con una cera comercial sola (T) y combinada con 250 ppm imazalil (T+F). Se determinó la pérdida de peso en naranjas refrigeradas a 5 °C y 90 %HR, durante 42 días. Se contabilizó la incidencia de podridos en frutos almacenados a 20±2 °C y 98 %HR, durante 7 y 15 días, para lo cual previamente las naranjas se inocularon artificialmente con 1.10⁶ esporas por mL de *Penicillium digitatum*. El resultado de esta experiencia indica que el recubrimiento RQ permitió controlar la incidencia de podridos en un 55 %, resultando con un efecto similar a los trata-

CONTACTO: Gustavo Daniel Suárez suarezg@fcal.uner.edu.ar
Laboratorio de Investigación en Postcosecha de Frutas, Facultad de
Ciencias de la Alimentación, Universidad Nacional de Entre Ríos,
Argentina.

mientos RQ+F y T+F, y mostrando una diferencia significativamente mayor que el tratamiento T. En cuanto a la pérdida de peso se obtuvo un efecto similar al de la cera comercial. La aplicación de la tecnología de recubrimiento propuesta tendría un efecto preventivo en el control de la podredumbre verde en postcosecha de naranjas. Es de destacar que esta tecnología de recubrimiento es sostenible y no presenta la desventaja de los residuos de fungicidas de síntesis química.

2. INTRODUCCIÓN

Uno de los desafíos actuales en la citricultura mundial plantea el uso sostenible de fitosanitarios lo que conlleva a desarrollar tecnologías que tengan en cuenta la problemática de los residuos de agroquímicos, en especial en los productos aplicados en la postcosecha. Los cítricos son susceptibles a un gran número de enfermedades fúngicas de postcosecha. La podredumbre verde –cuyo agente causal es el *Penicillium digitatum* Sacc.– es la enfermedad postcosecha más generalizada alrededor del mundo y la más importante por los daños económicos que ocasiona; y afecta a no sólo a las naranjas, sino también a mandarinas y limones.

Los estudios a nivel mundial sugieren que el problema se presenta de modo diferente en cada región; tanto por el tipo de manejo, como por las condiciones del suelo, clima y variedad del fruto. Por lo tanto, es necesario estudiar cada caso y no se debe generalizar sobre la incidencia de estas enfermedades ni de su control (Gúedez y col., 2010).

A la fecha, el control de los principales patógenos postcosecha de la fruta cítrica se efectúa principalmente utilizando fungicidas sintéticos, tales como imazalil, guazatina, tiabendazol o ortofenilfenato sódico (Obagwu y Korten, 2003). En particular, el imazalil es un fungicida sistémico N-sustituido derivado del imidazol, que se emplea en los tratamientos fitosanitarios desde principios de la década del 70 (Barkai-Golan, 2001) para el control de *Penicillium digitatum* y *Penicillium italicum*, y aislados resistentes a TBZ, benomyl y SOPP (Eckert y Ogawa, 1985). Es un producto de amplio espectro que inhibe la biosíntesis del ergosterol en las células fúngicas y la esporulación del *P. digitatum* y *P. italicum* (Siegel, Kerkenaar y Kaars-Sijpesteijn, 1977). En virtud de estas propiedades, el imazalil se convirtió en el fungicida postcosecha más popular para el control de las enfermedades de los frutos cítricos. Sin embargo, la degradación de los residuos del fungicida es más lenta en el caso de una aplicación postcosecha

que en los tratamientos de campo, puesto que no tienen influencia los principales elementos de eliminación que son los factores climáticos.

Debido al incremento en el uso de compuestos químicos potencialmente peligrosos para la salud humana y el ambiente, las investigaciones actuales se orientan al desarrollo de nuevas alternativas para reducir el uso de fungicidas de síntesis química. Preservar la integridad y seguridad de los seres humanos y del medio ambiente deben ser los criterios primordiales al momento de seleccionar nuevos compuestos que se desarrollen comercialmente y que tengan un efecto eficaz (James y col., 1993).

En este sentido, el quitosano es un polímero catiónico biodegradable, con actividad antimicrobiana, ampliamente investigado (Jung and Kim, 1999; Cuero, 1999; No y col., 2001; Tharanathan y Kittur, 2003; Zheng y Zhu, 2003). La carga neta positiva del compuesto confiere una variedad única de propiedades biológicas y fisiológicas (Jeon y col., 2001). La actividad fungicida del quitosano se ha estudiado, tanto a nivel “*in vitro*” (El Ghaouth y col., 1992) como “*in vivo*” (Li y Yu, 2001; Yu y col., 2007). Diversos estudios han demostrado que el quitosano no solo es efectivo en inhibir el crecimiento del patógeno sino que además induce marcados cambios morfológicos, alteraciones estructurales y desorganización el molecular de las células fúngicas (Benhamou, 1996; El Gaouth y col., 1999; Ait Barka y col., 2004).

Además, el quitosano es un elicitador exógeno que puede inducir resistencia por incremento de la actividad de varias enzimas relacionadas con la defensa, tales como fenilalanina amonio liasa (PAL), quitinasa, β -1,3-glucanasa (Zhang y col., 2011). El quitosano, debido a su capacidad para formar un recubrimiento semipermeable extiende la vida útil de frutas y hortalizas reduciendo la tasa respiratoria y disminuyendo la pérdida de agua (Bautista Baños y col., 2006).

El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de un recubrimiento biodegradable frente a tratamientos convencionales en el control preventivo de la podredumbre por *Penicillium digitatum*.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

PREPARACIÓN DE LAS SOLUCIONES FORMADORAS DE PELÍCULAS

Solución de quitosano

Se prepara una solución madre a partir de quitosano (grado de desacetilación de 98,6 % (Lote 71129A, Parafarm, Argentina) y un peso molecular promedio de 246

kDa, conteniendo una concentración de 4 mg/mL según García y col., (2004), por solubilización en una solución de ácido acético glacial al 1 % (v/v) mediante una dispersora Ultraturrax T25 (Ika, Alemania). El pH de la solución se ajustó a 4,5 con una solución 1 M de NaOH.

A partir de la formulación anterior se obtiene una emulsión formadora de recubrimiento (RQ), con 5 % de sólidos y 2,4 mg/mL del principio activo, por la emulsificación con una cera biodegradable según la metodología empleada por Locaso y Cruaños, (2011).

EVALUACIÓN “IN VIVO”

Materia prima

Se trabaja con naranjas Citrus sinesis var. Valencia Delta cosechadas manualmente a finales del mes de octubre con un índice de madurez (IM) de 10, de un lote bajo control de la Estación Experimental Agropecuaria (EEA) del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) ubicada en el Dpto. Concordia, Entre Ríos, Argentina.

Acondicionamiento de la materia prima

Se seleccionan los frutos sin lesiones superficiales por calibre y color. El lote constituido por naranjas preseleccionadas, sin tratamiento postcosecha, se desinfecta por inmersión en una solución de 200 ppm de hipoclorito de sodio ajustada a pH 7, durante 1 minuto, a continuación se lava con detergente biodegradable neutro y seca a 45 °C en un túnel de aire caliente. Estas operaciones se realizan en el empaque piloto de la EEA del INTA Concordia.

Aislamiento e identificación de la cepa fúngica

La cepa de *Penicillium digitatum* se aísla a partir de naranjas enfermas de la región. Las esporas del moho se siembran en agar papa dextrosa (Laboratorios Britania S.A., Argentina) y se incuban a 25 °C por 7 días. Se verifican las características macroscópicas y microscópicas de acuerdo con Pitt y Hocking (1997); Pitt (1990).

Preparación del inóculo

Los conidios de la superficie del cultivo del *Penicillium digitatum* de 7 días, se suspenden en 20 mL de agua estéril y luego se frota la superficie del agar con una varilla

de vidrio estéril (Poppe y col., 2003). Finalmente, la concentración de la suspensión de esporas se ajusta hasta obtener una concentración de 1.10^6 esporas/mL. Esta concentración se determina por su densidad óptica (0,1 a 425 nm) en un espectrofotómetro Shimadzu UV-1630 según la técnica de Eckert y Brown (1986).

Diseño experimental

El total de frutas se divide en 4 lotes homogéneos denominados según los siguientes tratamientos (Figura 1): a) T: lote tratado por inmersión en agua a temperatura ambiente por 1 minuto, seguido de una aplicación con cera comercial con 18 % sólidos (Brillocera Sudamericana S.A.).

b) RQ: lote tratado por inmersión en agua a temperatura ambiente por 1 minuto, seguido de una aplicación con el recubrimiento propuesto.

c) T+F: lote tratado por inmersión en baño fungicida a temperatura ambiente compuesto por 250 ppm de imazalil durante 1 minuto, seguido de una aplicación con cera comercial con 18 % sólidos.

d) RQ+F: lote tratado por inmersión en baño fungicida a temperatura ambiente compuesto por 250 ppm de imazalil durante 1 minuto, seguido de una aplicación con el recubrimiento propuesto.

Para obtener cada uno de los tratamientos, las naranjas fueron sumergidas en los baños de inmersión y luego recubiertas por aspersión mediante aplicadores de discos giratorios sobre un sistema de cepillos. Posteriormente, las frutas tratadas fueron secadas en túnel de aire caliente 45 °C.

Evaluación de la actividad preventiva de los recubrimientos

Para probar la actividad preventiva, la fruta se recubre e inocula con la solución de 1.10^6 esporos por mL de *Penicillium digitatum* mediante una incisión en la zona ecuatorial del fruto, utilizando un punzón de 1 mm de ancho y 2 mm de longitud. Cada tratamiento se aplica a tres réplicas de 30 frutos.

La Incidencia de la enfermedad (%) se determina a los 7 y 15 días de incubación a 20 °C y 98 %HR.

Control de la deshidratación de la fruta

El control se realiza en los frutos no inoculados de cada tratamiento. La pérdida de peso se determina en una balanza OHAUS Modelo Scout Pro (Ohaus Corporation,

USA). Las determinaciones sobre 30 frutas individualizadas por cada tratamiento, se efectúa a la primera semana, a los 15 días y a los 42 días durante el período bajo conservación en frío a 5 °C y 90 %HR. El resultado se expresa en porcentaje de pérdida de peso respecto del peso inicial de cada fruto.

Análisis estadístico de los datos

Los datos se analizan mediante un análisis de varianza simple (ANOVA) utilizando el software Statgraphics Plus, versión 5.1. En el estudio de la incidencia de podredumbres se determina las diferencias significativas entre las medias de los tratamientos mediante el Test de Fisher LSD ($p < 0,05$). En el estudio del porcentaje de pérdida de peso las diferencias significativas entre las medias de los tratamientos fue realizado mediante el Test Tukey HSD ($p < 0,05$).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CONTROL DE LA DESHIDRATACIÓN DE LA FRUTA

El resultado de las pérdidas de peso durante la conservación frigorífica de las naranjas Valencia ensayadas, se puede observar en la Tabla 1.

La pérdida de peso de las naranjas con cera comercial (T), a los 15 días de conservación en frío, resulta significativamente mayor que los demás tratamientos (RQ, RQ+F, T+F). Al finalizar los 42 días bajo refrigeración, la pérdida de peso de la fruta con el recubrimiento propuesto RQ fue de 5,3 % y el estudio estadístico muestra que no se encuentran diferencias significativas con los demás tratamientos ensayados. Estos resultados muestran que el efecto del recubrimiento RQ (5 % de sólidos) sobre la pérdida de peso en las naranjas, es similar al efecto proporcionado por la cera comercial (18 % de sólidos), lo que indicaría un efecto beneficioso de la tecnología propuesta en el control de la deshidratación.

Salvador y col. (2003); Chien y col. (2007) han encontrado que recubrimientos conteniendo quitosano fueron efectivos en el control de la pérdida de peso de mandarinas. Cháfer y col. (2012) determinaron que hubo una ligera reducción de la pérdida de peso en naranjas Navel con recubrimientos de quitosano conteniendo aceite de bergamota. Por otro lado, Coyotzi y col. (2002) no obtuvieron efecto en reducir la deshidratación en limones recubiertos con cera de candelilla/quitosano durante el almacenamiento a 10 °C durante 24 días. En estos trabajos las diferencias

encontradas podrían explicarse por la variabilidad en la composición de las fuentes naturales utilizadas en las formulaciones, y demás componentes, que inciden en la propiedad de barrera al vapor de agua de los recubrimientos.

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD PREVENTIVA

A los 7 días de almacenamiento a 20 ± 2 °C y 98 %HR, se observó una reducción significativa en la incidencia de podridos en las frutas tratadas con RQ, RQ+F, y T+F respecto a la fruta testigo recubierta con T. Al finalizar el ensayo a los 15 días de almacenamiento, los resultados evidenciaron un aumento en la incidencia de podredumbres en todos los tratamientos (Figura 2).

El recubrimiento RQ alternativo propuesto evidenció un menor porcentaje de podredumbre verde (59 %) con respecto a la cera comercial (88 %) resultando esta diferencia estadísticamente significativa.

Es de destacar que el recubrimiento RQ, sin imazalil, tuvo el mismo efecto que los tratamientos adicionados con el fungicida de síntesis en el control de podredumbres en la fruta inoculada artificialmente con *Penicillium digitatum* en las condiciones de almacenamiento ensayadas.

Estos resultados estarían indicando que la tecnología de recubrimiento propuesta, demuestra capacidad para prevenir infecciones ocasionadas por *Penicillium digitatum*.

En la bibliografía consultada se encontraron escasos resultados respecto a la actividad preventiva en naranjas recubiertas con quitosano. En el trabajo efectuado por Valencia-Chamorro y col. (2008), los recubrimientos con quitosano comercial (1,88 %) no lograron controlar la podredumbre verde en naranjas Valencia Late. En publicaciones relacionadas a la actividad antifúngica contra *Penicillium digitatum* frente a la acción de quitosano y diversos fungicidas de síntesis; Chien y col. (2007) reportaron valores menores del 58 % de infección de *Penicillium digitatum* y *Penicillium italicum* en mandarinas Murcott tras la aplicación de quitosano, exhibiendo mayor actividad antifúngica que el Tiabendazol (TBZ). Fortiz Hernández y col. (2011) encontraron que el quitosano redujo en forma similar la incidencia de podredumbres que la cera comercial que contiene 1 % del fungicida ortofenilfenato de sodio (SOPP). Los diversos resultados encontrados podrían explicarse por las diferencias en las formulaciones de recubrimientos antimicrobianos y la capacidad de liberación del principio activo. Por lo tanto, es necesario estudiar cada caso y no se debe generalizar sobre la incidencia de estas enfermedades ni de su control (Guédez y col., 2010).

5. CONCLUSIONES

Los factores epidemiológicos determinan que el control efectivo del moho responsable de la podredumbre verde requiere de tratamientos que proporcionen simultáneamente actividades tanto curativas como preventivas. Esta investigación aporta evidencia de que la tecnología de recubrimiento con quitosano presenta actividad preventiva en el control de la podredumbre verde. La estrategia a continuar implica el diseño de tratamientos combinados de control alternativo a los fungicidas convencionales usados actualmente en los empaques cítricos.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AIT BARKA, E., Eullaffroy, P., Clement, C., y Vernet, G. (2004). Chitosan improves development, and protects *Vitis vinifera* L. against *Botrytis cinerea*. *Plant Cell Rep.*, 22, 608–614.
- BARKAI-GOLAN, R. (2001). *Postharvest Diseases of Fruits and Vegetables: Development and Control*. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier Science B.V.
- BAUTISTA-BAÑOS, S., Hernández-Lauzardo, A. N., Velázquez del Valle, M. G., Hernández-López, M., Ait Barka, E., Bosquez-Molina, E., y Wilson, C.L. (2006). Chitosan as a potential natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities. *Crop Protection*, 25(2), 108-118.
- BENHAMOU, N. (1996). Elicitor-induced plant defense pathways. *Trends Plant Sci.*, 1, 233–240.
- CHÁFER, M., Sánchez-González, L., González-Martínez, Ch., y Chiralt, A. (2012). Fungal decay and shelf life of oranges coated with chitosan and bergamot, thyme, and tea tree essential oils. *J Food Sci.*, 77(8), E182-7.
- CHIEN, P. J., Sheu, F., y Lin, H. R. (2007). Coating citrus (*Murcott tangor*) fruit with low molecular weight chitosan increases postharvest quality and shelf life. *Food Chem.*, 100, 1160-1164.
- COYOTZI, A., Avila, R., Bozquez, E., Domínguez, J., y Vernon, J. (2002). Efecto de la aplicación de recubrimientos a base de quitosano, cera de candelilla y abeja en la conservación postcosecha del limón mexicano (*Citrus aurantifolia* Swingle). *Rev. Iber. Tecnología Postcosecha*, 12(2), 164-174.
- CUERO, R. G. (1999). Antimicrobial action of exogenous chitosan. *EXS*, 87, 315-333.
- ECKERT, J. W., Brown, G. E. (1986). Evaluation of postharvest treatments for citrus fruits. In: Hickey, K. D. (Ed.), *Methods for Evaluating Pesticides for Control of Plant Pathogens* (pp 92–97). St. Paul, MN, USA: American Phytopathological Society Press.

- ECKERT, J. W., y Ogawa, J. M. (1985). The chemical control of postharvest diseases subtropical and tropical fruits. *Annual Review of Phytopathology*, 23, 421-454.
- EL GHAOUTH, A., Arul, J., Grenier, J., y Asselin, A. (1992). Effect of chitosan and other polyions on chitin deacetylase in *Rhizopus stolonifer*. *Experimental Mycology*, 16, 173-177.
- EL GHAOUTH, A., Smilanick, J. L., Brown, G. E., Wisniewski, M., y Wilson, C. L. (1999). Application of *Candida saitoana* and glycolchitosan for the control of postharvest diseases of apple and citrus fruit under semi-commercial conditions. *Plant Dis.*, 84, 243-248.
- FORTIZ HERNÁNDEZ, J., Mercado Ruiz, J., y Rodríguez, A. J. (2011). Efecto de recubrimiento con quitosano y cera comercial en la calidad de naranja 'valencia' durante el almacenamiento. *Rev. Iber. Tecnología Postcosecha*, 12(2), 164-174.
- GARCÍA, M. A., Pinotti, A., Martino, M. N. y Zaritzky, N. E. (2004). Characterization of Composite Hydrocolloid Films. *Carb. Pol.*, 56, 339-345.
- Guédez, C., Cañizalez, L., Castillo C., Olivar, R., y Maffei, M. (2010). Alternativas para el control de hongos postcosecha en naranjas Valencia Citrus sinensis. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 30, 43-47.
- JAMES, J. R., Tweedy, B., y Newby, L. C. (1993). Efforts by Industry to Improve the Environmental safety of Pesticides. *Annual Review of Phytopathology*, 31, 423-439.
- JEON, Y. J., Park, P.J., y Kim, S. K. (2001). Antimicrobial effect of chitooligosaccharides produced by bioreactor. *Carbohydrate Polymer*, 44, 71-76.
- JUNG, B., y Kim, C. (1999). Preparation of amphiphilic chitosan and their antimicrobial activities. *J. Appl. Polym. Sci.*, 72, 1713-1719.
- LI, H., y Yu, Y. (2001). Effect of chitosan on incidence of brown rot, quality and physiological attributes of postharvest peach fruit. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81, 269-274.
- LOCASO, D. L., y Cruañes, M. C. (2011). Empaque sin costo ambiental formulado con quitosano para reducir la podredumbre verde en postcosecha de naranjas. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 12(1), 35-43. ISSN: 1665-0204.
- NO, H. K., Park, N. Y., Lee, S. H., y Meyers, S.P. (2001). Antibacterial effect of chitosan and chitosan oligomers with different molecular weights. *Int. J. Food Microbiol.*, 74, 65-72.
- OBAGWU, J., y Korsten, L. (2003). Integrated control of citrus green and blue molds using *Bacillus subtilis* in combination with sodium bicarbonate or hot water. *Postharvest Biology Technology*, 28, 187-194.
- PITT, J. I. (1990). PENNAME, A Computer Key to Common *Penicillium* Species. In: Samson, R. A., y Pitt, J. I. (Eds.), *Modern concepts in Penicillium and Aspergillus Classification* (1a. ed., 185(6), pp 279-281). EE.UU.: Springer. DOI: 10.1007/978-1-4899-3579-3_24.

- PITT, J. I., Hocking, A. D. (Eds.). (1997), *Fungi and Food Spoilage*. London: Blackie Academic and Professional.
- POPE, L., Vanhoutte, S., y Hofte, M. (2003). Modes of action of *Pantoea agglomerans* CPA-2, an antagonist of postharvest pathogens on fruits. *European Journal Plant Pathology*, 109, 963-973.
- SALVADOR, A., Cuquerella, J., y Monterde, A. (2003). Efecto del quitosano aplicado como recubrimiento en mandarinas Fortune. *Rev. Iber. Tecnología Postcosecha*, 5(2), 122-127.
- SIEGEL, M. R., Kerkenaar, A., y Kaars Sijpesteijn, A. (1977). Antifungal activity of the systemic fungicide imazalil. *Neth. J. Plant Pathol.*, 83 (Suppl. 1), 121-133.
- THARANATHAN, R., y Kittur, F. (2003). Chitin-The undisputed biomolecule of great potential. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 43(1), 61-87.
- VALENCIA-CHAMORRO, S., Rojas Argudo, C., Pérez Gago, M. B. y Palou, L. (2008). Efecto del recubrimiento con quitosano en el control de las podredumbres verdes y azul de los cítricos. En Oria R., Val J., y Ferrer, A. (Eds.), *Avances en maduración y postrecolección de frutas y hortalizas*. Zaragoza, España: Acribia.
- YU, T., Li, H., y Zheng, X. (2007). Synergistic effect of chitosan and *Cryptococcus laurentii* on inhibition of *Penicillium expansum* infections. *International Journal of Food Microbiology*, 114, 261-266.
- ZHANG, H., Lie, R., y Liu, W. (2011). Effects of chitin and its derivative chitosan on postharvest decay of fruits: a review. *Int. J. Mol. Sci.*, 12, 197-934.
- ZHENG, L. Y., y Zhu, J. F. (2003). Study on antimicrobial activity of chitosan with different molecular weights. *Carbohydr. Polym.*, 54, 527-530.

7. TABLAS Y FIGURAS

TABLA 1. Porcentaje de pérdida de peso en naranjas recubiertas con los tratamientos T, RQ, T+F y RQ+F. Los se miden a los 7, 15 y 42 días de almacenamiento a 5 °C y 90 %HR, y representan valores promedios de réplicas \pm desviación estándar (SD). Valores con la misma letra por cada período de tiempo indican que no difieren significativamente ($p < 0,05$) de acuerdo al Test de Tukey HSD

Tiempo (días)	Pérdida de peso (%)			
	T	RQ	T+F	RQ+F
7	0,82 \pm 0,26 ^a	0,81 \pm 0,35 ^a	0,88 \pm 0,17 ^{ab}	1,02 \pm 0,80 ^b
15	1,91 \pm 0,46 ^a	1,42 \pm 0,34 ^b	1,64 \pm 0,32 ^b	1,60 \pm 0,77 ^b
42	5,09 \pm 0,77 ^a	5,32 \pm 0,66 ^a	4,20 \pm 0,82 ^a	4,75 \pm 0,88 ^a

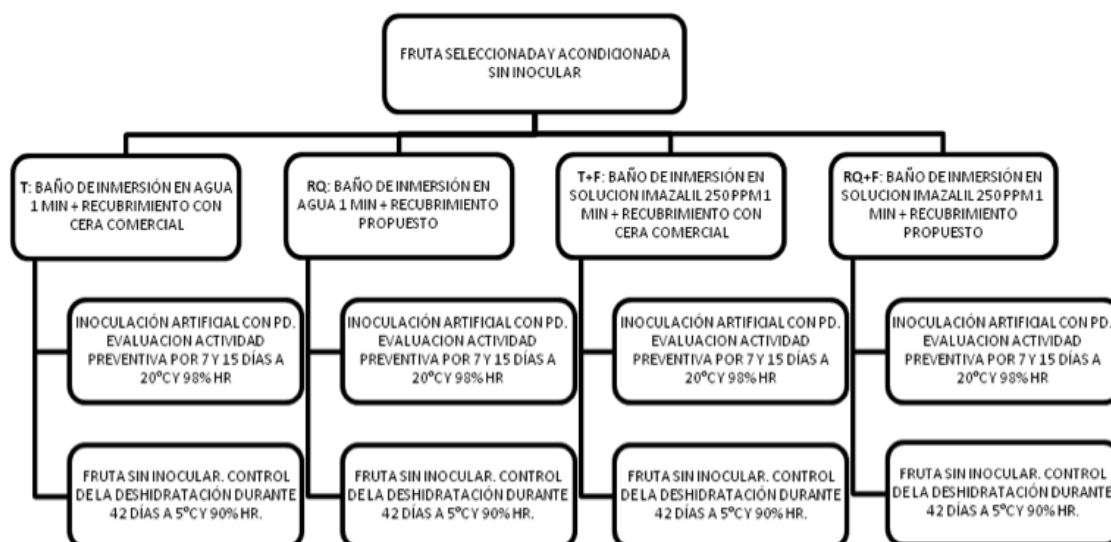


FIGURA 1. Esquema de los tratamientos utilizados

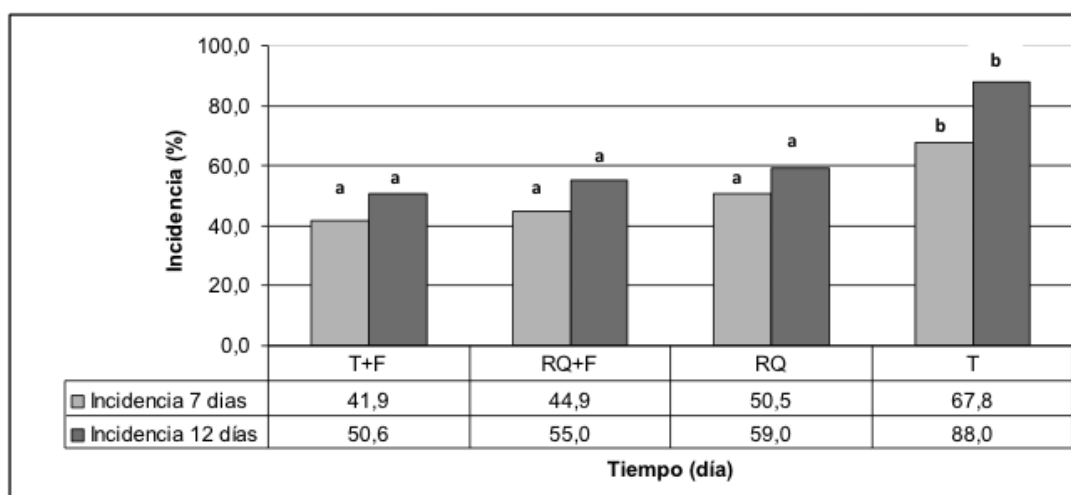


FIGURA 2. Porcentaje de Incidencia de podredumbre verde en naranjas recubiertas con recubrimiento natural propuesto solo (RQ) y combinado con 250 ppm de imazalil (RQ+F); con cera comercial sola (T) y combinada con 250 ppm imazalil (T+F). Valores medios de tres experimentos. En cada período de almacenamiento, las columnas con la misma letra indican que las medias no difieren significativamente ($p < 0,05$, LSD)

ÁREA 6

Latest trends in food
quality evaluation

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

DETERMINACIÓN DE COLOR EN EL ESPACIO CIELAB A PARTIR DE IMÁGENES DIGITALES

Sandro Goñi^{1,2}, Daniela Olivera^{1,3}, Viviana Salvadori^{1,2}

1. RESUMEN

En este trabajo se evalúa la factibilidad de uso de un sistema de visión computacional para realizar mediciones de color de alimentos. El sistema de visión computacional está formado por una cámara digital y un ambiente de iluminación controlada. Generalmente la evaluación del color de alimentos se realiza usando colorímetros digitales, los cuales brindan información de color en el espacio *CIELAB*. Este tipo de equipamiento es fácil de utilizar y calibrar, pero presenta una serie de desventajas y/o limitaciones: su costo de adquisición y/o reparación es alto, realiza mediciones en áreas pequeñas de las muestras, la superficie a medir debe tener un color uniforme, la medición de superficies grandes y no homogéneas es dificultosa, y debe ponerse en contacto con la superficie a medir. Por otro lado, el uso de cámaras digitales permite obtener una gran cantidad de información espacial, la cual puede incluir una muestra completa, la información de color se obtiene para cada píxel de la imagen obtenida, es un equipo de menor costo y con diversidad de marcas y modelos, y evita los problemas de contacto con las muestras. La principal dificultad de la utilización de cámaras digitales para medir color es que las mismas utilizan el espacio de color *RGB*, por lo cual las imágenes obtenidas deben ser transformadas al espacio de color *CIELAB*. En este trabajo se construyó un gabinete de adquisición de imágenes con iluminación controlada, y se empleó una cámara NIKON D3100, usando el modo manual que permite fijar la velocidad de

CONTACTO: Daniela Olivera df_olivera@yahoo.com.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.

obturación y apertura del diafragma. Se probaron diferentes transformaciones entre los espacios de color *RGB* y *CIELAB*, como relaciones polinómicas, y un ajuste de la transformación teórica directa. Como patrones de color se usó una carta de colores X-Rite ColorChecker Passport, la cual está formada por 24 parches de diferentes colores. La diferencia de color total ΔE promedio entre los valores medidos y los valores reales fue de 5.39, 4.19, y 2.45 usando una relación lineal, cuadrática y cuadrática más interacciones, respectivamente. La relación directa dio buenos resultados para L^* y b^* , pero no así para a^* . Se midió el color de diferentes muestras de alimentos usando tanto el colorímetro como el sistema de visión computacional, y en general se encontraron resultados aceptables.

2. INTRODUCCIÓN

Generalmente la evaluación del color de alimentos se realiza usando colorímetros digitales, los cuales brindan información de color en el espacio *CIELAB*. Este tipo de equipamiento es fácil de utilizar y calibrar, pero presentan una serie de desventajas y/o limitaciones: su costo de adquisición y/o reparación es alto, realiza mediciones en áreas pequeñas de las muestras, la superficie a medir debe tener un color uniforme, la medición de superficies grandes y no homogéneas es dificultosa, y debe ponerse en contacto con la superficie a medir. Por otro lado, el uso de cámaras digitales permite obtener una gran cantidad de información espacial, la cual puede incluir una muestra completa, la información de color se obtiene para cada píxel de la imagen, es un equipo de menor costo y con diversidad de marcas y modelos, y evita los problemas de contacto con las muestras. Algunos ejemplos de modelos de transformación y/o calibración de sistemas de visión computacional pueden encontrarse en León *et al.* (2006), Mendoza *et al.* (2006), Purlis y Salvadori (2007, 2009), Quevedo *et al.* (2008), Lee *et al.* (2008), Valous *et al.* (2009), Zheng y Sun (2008), etc. Recientemente, Wu y Sun (2013) presentaron una revisión de medición de color por visión computacional. La principal dificultad de la utilización de cámaras digitales para medir color es que las mismas utilizan el espacio de color *RGB*, por lo cual las imágenes obtenidas deben ser transformadas al espacio de color *CIELAB*. En este trabajo se evaluó la factibilidad de la utilización de un sistema de visión computacional para realizar mediciones de color de alimentos. Se realizaron mediciones de color de diferentes muestras y los resultados obtenidos fueron satisfactorios.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

El sistema de visión computacional (SVC) desarrollado para realizar mediciones de color de alimentos, está formado por tres elementos:

- (I) una cámara digital
- (II) un gabinete de adquisición de imágenes y un sistema de iluminación
- (III) un sistema de procesamiento de la información obtenida (no tratado en este trabajo)

Se empleó una cámara NIKON D3100, usando el modo manual que permite fijar la velocidad de obturación y apertura del diafragma. El gabinete de adquisición de imágenes se construyó en madera, y está formado por las cuatro paredes y el fondo. Las maderas fueron pintadas con pintura negro mate, de manera de reducir las reflexiones de luz. El gabinete cuenta además con un soporte para fijar la cámara en diferentes posiciones. El piso del gabinete, donde se colocan las muestras, puede colocarse a diferentes alturas. El sistema de iluminación está formado por 4 tubos fluorescentes colocados sobre las paredes laterales en la parte superior del gabinete. La Figura 1 muestra el gabinete de adquisición de imágenes.

Para realizar la calibración y/o prueba del sistema se usó como patrones de color el objetivo clásico de una carta de colores X-Rite ColorChecker Passport, la cual está formada por 24 parches de diferentes colores, para los cuales se conocen sus valores L^* , a^* y b^* .

Se probaron diferentes transformaciones entre los espacios de color *RGB* y *CIE-LAB*, como relaciones polinómicas, y un ajuste de la transformación teórica directa. Las relaciones polinómicas usadas fueron una relación lineal, una cuadrática, y una cuadrática más interacciones, las cuales se muestran en las ecuaciones (1) a (3), respectivamente, donde c^* se refiere a L^* , a^* o b^* .

$$c^* = \alpha_1 R + \alpha_2 G + \alpha_3 B + \alpha_4 \quad (1)$$

$$c^* = \alpha_1 R + \alpha_2 G + \alpha_3 B + \alpha_4 R^2 + \alpha_5 G^2 + \alpha_6 B^2 + \alpha_7 \quad (2)$$

$$c^* = \alpha_1 R + \alpha_2 G + \alpha_3 B + \alpha_4 R^2 + \alpha_5 G^2 + \alpha_6 B^2 + \alpha_7 RG + \alpha_8 RB + \alpha_9 GB + \alpha_{10} RGB + \alpha_{11} \quad (3)$$

La relación teórica directa se resume a continuación: 1° se transforman los valores R , G y B a valores triestímulo X , Y , Z , usando la función g (IEC 61966-2-1, 1999):

$$XYZ = \begin{pmatrix} 0.4124 & 0.3575 & 0.1804 \\ 0.2126 & 0.7151 & 0.0721 \\ 0.0193 & 0.1191 & 0.9504 \end{pmatrix} g(RGB') \quad (4)$$

$$g(x) = 100 \begin{cases} \left(\frac{x + 0.055}{1.055} \right)^{2.4}, & x > 0.04045 \\ \frac{x}{12.92}, & x \leq 0.04045 \end{cases} \quad (5)$$

donde RGB' son los valores R , G y B escalados al intervalo $[0 \ 1]$.

Luego, se convierten los valores triestímulo a valores $L^*a^*b^*$, usando la función h (Gonzalez y Woods, 2002):

$$\begin{aligned} L^* &= 116h\left(\frac{Y}{Y_R}\right) - 16 \\ a^* &= 500\left(h\left(\frac{X}{X_R}\right) - h\left(\frac{Y}{Y_R}\right)\right) \\ b^* &= 200\left(h\left(\frac{Y}{Y_R}\right) - h\left(\frac{Z}{Z_R}\right)\right) \end{aligned} \quad (6)$$

$$h(x) = \begin{cases} x^{1/3}, & x > \left(\frac{6}{29}\right)^3 \\ \frac{1}{3}\left(\frac{29}{6}\right)^2 x + \frac{4}{29}, & x \leq \left(\frac{6}{29}\right)^3 \end{cases} \quad (7)$$

X_R , Y_R y Z_R son los valores de referencia del iluminante; en este caso se uso un iluminante D65. Se evaluó una variación del modelo directo, donde se ajustaron los parámetros mostrados (α, β, θ) :

$$\begin{aligned} L^* &= \alpha_1 h\left(\frac{Y}{Y_R}\right) + \alpha_2 \\ a^* &= \beta_1 h\left(\frac{X}{X_R}\right) + \beta_2 h\left(\frac{Y}{Y_R}\right) + \beta_3 \\ b^* &= \theta_1 h\left(\frac{Y}{Y_R}\right) + \theta_2 h\left(\frac{Z}{Z_R}\right) + \theta_3 \end{aligned} \quad (8)$$

Como medida de error se usaron las desviaciones absolutas promedios (Ec. (9), c^* se refiere a L^* , a^* o b^*) y la diferencia de color promedio (Ec. (10)).

$$|\Delta c^*| = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n |c_{pred}^* - c_{exp}^*| \quad (9)$$

$$\Delta E = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \sqrt{(L_{pred}^* - L_{exp}^*)^2 + (a_{pred}^* - a_{exp}^*)^2 + (b_{pred}^* - b_{exp}^*)^2} \quad (10)$$

Los valores experimentales o reales de la carta de colores X-Rite fueron obtenidos de Pascale (2006), y también se midieron utilizando un colorímetro Minolta.

Adicionalmente se realizaron mediciones de color de diferentes muestras (bizcochuelo, salchichón primavera, masitas de diferentes colores, etc.) usando tanto el colorímetro como el sistema de visión computacional.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las desviaciones absolutas promedios para cada parámetro de color y la diferencia de color total DE entre los valores medidos y los valores reales, para el proceso de calibración, se muestran en la Tabla 1. DE fue en promedio de 5.39, 4.19, y 2.45 para la relación lineal, cuadrática y cuadrática más interacciones, respectivamente. La relación directa no dio resultados aceptables, lo que indica que el sistema (la iluminación, la cámara, o ambos), no representan las condiciones estándar. La relación directa ajustada dio resultados aceptables para L^* y b^* , pero no así para a^* , por lo cual es globalmente no satisfactoria. La Figura 2 muestra los valores predichos vs. los valores experimentales de color.

Es importante mencionar que los valores de referencia de la carta de colores considerados reales, fueron los obtenidos usando el colorímetro. Si los valores reales se toman de Pascale (2006), las medidas de error se incrementan levemente. Si no se dispone de un colorímetro para determinar los valores $L^*a^*b^*$ de los patrones de color, usar valores bibliográficos resulta aceptable.

La medición de color de las muestras adicionales de alimentos (24 en total) se realizaron usando el modelo cuadrático más interacciones. Las medidas de errores obtenidas fueron $|\Delta L^*| = 2.23$, $|\Delta a^*| = 1.52$, $|\Delta b^*| = 2.14$ y $\Delta E = 4.31$.

La Figura 3 muestra valores de color obtenidos con el colorímetro y con el sistema de visión computacional en diferentes regiones de la superficie de la muestra de bizcochuelo; para dichos valores se obtuvo $|\Delta L^*| = 3.10$, $|\Delta a^*| = 1.30$, $|\Delta b^*| = 0.84$ y $\Delta E = 3.80$.

La figuras 4 y 5 muestran la distribución de valores $L^*a^*b^*$ predichos en toda la superficie de la muestra de bizcochuelo y salchichón, respectivamente, junto a los valores promedios y desviaciones estándar. Una vez obtenidos los valores $L^*a^*b^*$ en toda la superficie de la muestra, o en las regiones deseadas, se puede continuar con técnicas de procesamiento de imágenes para continuar analizando las muestras (distribución de valores $L^*a^*b^*$, segmentación por colores en el espacio $L^*a^*b^*$, tamaño de objetos, número de objetos, etc.).

5. CONCLUSIONES

Se desarrolló un sistema de visión computacional para realizar mediciones de color de alimentos. La principal dificultad radica en realizar la transformación del espacio de color *RGB* al espacio de color *CIELAB*. La aplicación del modelo de transformación teórico entre espacios de color no fue satisfactoria, lo cual implica que el sistema en su conjunto no representa las condiciones estándar, por lo tanto se usaron transformaciones empíricas simples para realizar la calibración del sistema y su posterior uso. Los resultados obtenidos fueron satisfactorios, incluso usando un número bajo de patrones de color para realizar la calibración. Finalmente, es importante destacar que si se usan valores de color del patrón obtenidos de bibliografía, el uso del colorímetro no es requerido.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- GONZALEZ, R.C., Woods, R.E. (2002). *Digital Image Processing* (2nd Ed.). New Jersey, Prentice Hall.
- IEC 61966-2-1. (1999). *Colour Measurement and Management in Multimedia Systems and Equipment - Part 2-1: Default RGB Colour Space - sRGB*. 1^o Ed.
- LEE, D.-J., Archibald, J.K., Chang, Y.-C., Greco, C.R. (2008). Robust color space conversion and color distribution analysis techniques for date maturity evaluation. *Journal of Food Engineering*, 88, 364-372.
- LEÓN, K., Merry, D., Pedreschi, F., León, J. (2006). Color measurement in $L^*a^*b^*$ units from RGB digital images. *Food Research International*, 39, 1084-1091.
- MENDOZA, F., Dejmek, P., Aguilera, J.M. (2006). Calibrated color measurement of agricultural foods using image analysis. *Postharvest Biology and Technology*, 41, 285-295.

- PASCALE, D. (2006). RGB Coordinates of the Macbeth ColorChecker. [http://www.babelcolor.com/download /RGB%20Coordinates%20of%20the%20Macbeth%20ColorChecker.pdf](http://www.babelcolor.com/download/RGB%20Coordinates%20of%20the%20Macbeth%20ColorChecker.pdf) (accedido 30/10/2013).
- PURLIS, E., Salvadori, V.O. (2007). Bread browning kinetics during baking, *Journal of Food Engineering*, 80, 1107-1115.
- PURLIS, E., Salvadori, V.O. (2009). Modelling the browning of bread during baking, *Food Research International*, 42, 865-870.
- QUEVEDO, R.A., Aguilera, J.M., Pedreschi, F. (2008). Color of salmon fillets by computer vision and sensory panel. *Food and Bioprocess Technology*, 3(5), 637-643.
- VALOUS, N.A., Mendoza, F., Sun, D.-W., Allen, P. (2009). Colour calibration of a laboratory computer vision system for quality evaluation of pre-sliced hams. *Meat Science*, 81, 132-141.
- WU, D., Sun, D.-W. (2013). Colour measurements by computer vision for food quality control - A review. *Trends in Food Science & Technology*, 29, 5-20.
- ZHENG, C., Sun, D.-W. (2008). Object Measurement Methods. In: Sun, D.-W. (Ed.). *Computer Vision Technology for Food Quality Evaluation*, (pp. 57-80), Canada: Academic Press, Elsevier.

7. TABLAS Y FIGURAS

TABLA 1. Propiedades de ajuste de los diferentes modelos de predicción utilizados

Modelo	Número de parámetros	Valores promedios			
		$ DL^* $	$ Da^* $	$ Db^* $	DE
Lineal	12	1.93	2.98	3.27	5.39
Cuadrático	21	0.77	2.48	2.71	4.19
Cuadrático + interacciones	33	0.60	1.13	1.89	2.45
Directo ajustado	8	3.84	9.63	3.32	11.92

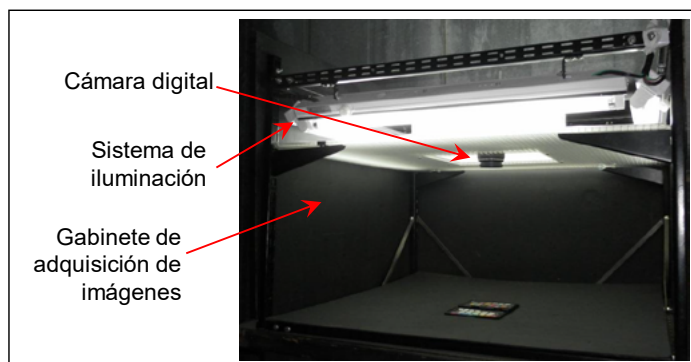


FIGURA 1. Disposición y elementos del sistema de visión computacional desarrollado

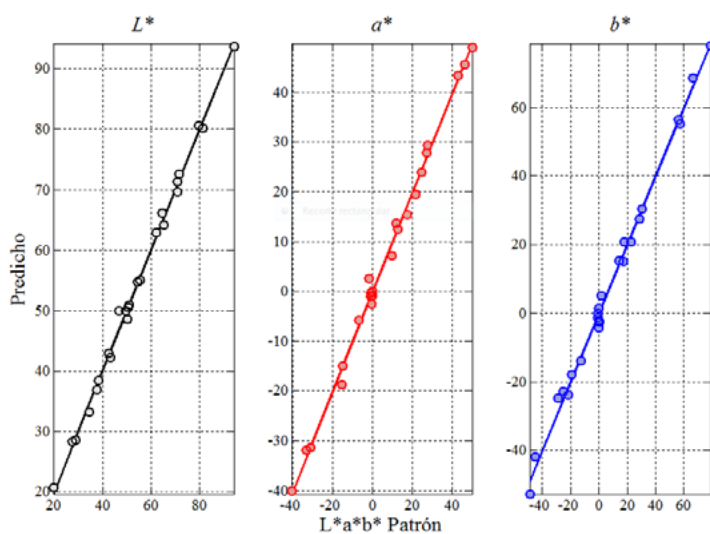


FIGURA 2. Valores predichos vs. experimentales de color durante el ajuste, para el modelo polinomial cuadrático más interacciones

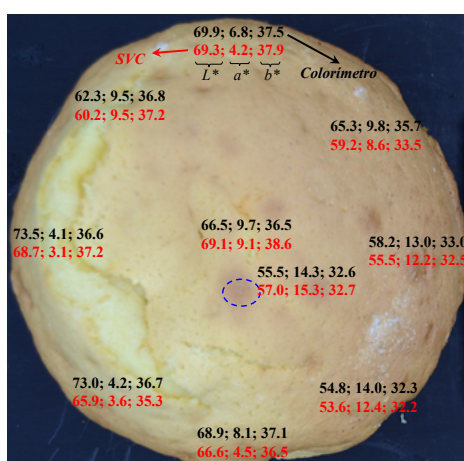


FIGURA 3. Comparación de valores de parámetros de color obtenidos con el colorímetro y el SVC para la muestra de bizcochuelo. El tamaño de la imagen es de 1370×1536 píxeles

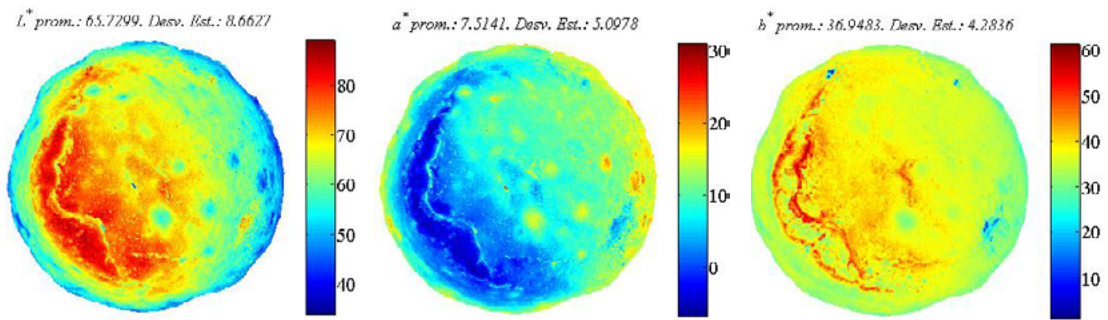


FIGURA 4. Distribución de parámetros de color $L^*a^*b^*$ para la muestra de bizcochuelo

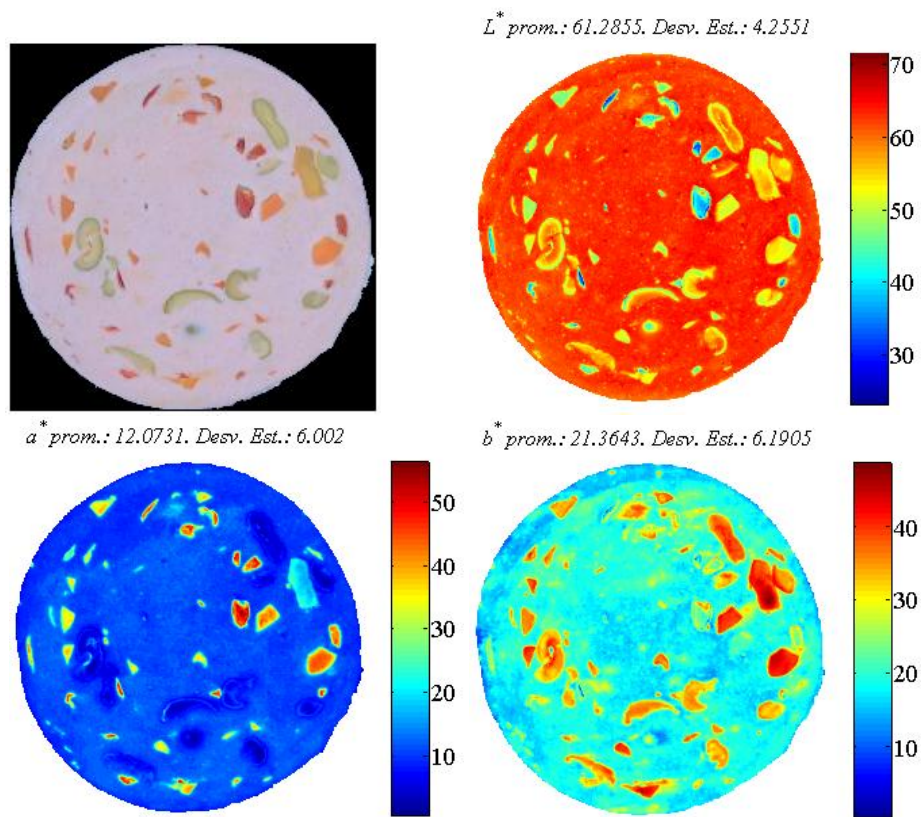


FIGURA 5. Imagen segmentada de la muestra de salchichón, y distribución de parámetros de color $L^*a^*b^*$

OMICS AS A USEFUL APPROACH TO GAIN INSIGHT INTO THE POSTHARVEST PHYSIOLOGY OF CITRUS

Alejandra S. Moreno¹, Valeria E. Perotti¹, Karina E. J. Trípodi¹, Florencio E. Podestá¹, Mariángeles Cocco², Fernando Bello², Daniel Vázquez²

1. ABSTRACT

Postharvest storage of citrus fruit is often necessary before commercialization, either required to extend shelf life during transportation to distant markets or as a quarantine procedure. Maintaining the quality is a mandatory requisite of postharvest storage. Among the most useful methods to control disease during this period are heat treatments (HT), which are low impact methods that applied alone or in combination with chemical treatments are known to induce defense mechanisms and physiological changes that help citrus to cope with stressful conditions during storage while preserving internal and external fruit quality. At present it is not clear how this treatment affects fruit metabolism and what is the molecular basis of the beneficial effects. Our approach to gain insight into this matter is the application of modern techniques called “omics”, mainly the use of proteomic analysis and metabolic profiling, to carry out a comparative parallel analysis of global changes elicited by HT and/or cold storage, facilitating an understanding of the relationships between changes in specific proteins and subsequent alterations in metabolites in response to the treatment. These comparative analyses were based on two-dimensional electrophoresis (2-DE) for proteomic and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and high-performance liquid chromatography/electrospray ionization-time of flight-mass spectrometry (HPLC-QTOF-MS) for metabolic

CONTACTO: Daniel Vázquez vazquez.daniel@inta.gob.ar

1. Centro de Estudios Fotosintéticos y Bioquímicos (CEFQBI),
Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad
Nacional de Rosario, Suipacha 531, Rosario, Argentina

2. Estación Experimental Concordia, Instituto Nacional de
Tecnología Agropecuaria (INTA), Colonia Yeruá, Argentina

profiling (the primary and the secondary metabolome, respectively). So far, our results show that this methodology can disclose a variety of metabolic changes that can be profitably used to understand the molecular basis of the HT effects.

2. INTRODUCTION

At the moment, induction of natural resistance to pathogens in citrus is a trend to avoid the application of fungicides that can induce resistance and be harmful to human health and the environment. The use of physical methods such as heat and UV light treatments before postharvest storage has proved to be successful for such purpose (Palou, 2013). However, the evaluation of a particular treatment is essential in order to select the best postharvest handling of commercially valuable fruits. Moreover, it is known that a single general protocol is not always applicable, since different fruits, or even diverse species within the same genus respond in a different way to heat treatment (Lurie, 1998; Schirra *et al.*, 2011). During post-harvest storage, soluble sugars, organic acids and the solid/acid ratio are important components of fruit quality that can be affected by both internal and external factors.

In this paper evidence is presented that supports the application of “omics” to unravel the molecular basis of metabolic responses in citrus after heat treatment and storage (Katz *et al.*, 2007; Lara *et al.*, 2009; Perotti *et al.*, 2011; Perotti *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2010).

Most frequently, analysis are restricted to endocarp. Nevertheless, epicarp analysis has been undertaken as well, since it has been described as a metabolically very active tissue (Falcone Ferreyra *et al.*, 2006) and, from a consumer viewpoint, critical to judge the fruit's quality. The levels and role of phenylpropanoids, as scoparone, probably involved in the induction of pathogen resistance in citrus fruit (Ballester *et al.*, 2013), is also analyzed in fruits infected with *Penicillium digitatum* and correlated with the application of heat treatment before storage.

Valencia orange response to HT was analyzed by the quantification of primary (sugars, alcohols, aminoacids and organic acids) and secondary (phenolic compounds and derivatives) metabolites and 2D-DIGE analysis of the protein content. Techniques utilized were gas and liquid chromatography coupled to mass spectrometry (GS-MS) for primary metabolites, two-dimensional electrophoresis (2-DE) coupled to MALDI-TOF for proteomics and HPLC/ electrospray ionization-time

of flight-mass spectrometry (HPLC-QTOF-MS) for secondary metabolite profiling. A similar approach was applied to Murcott and Ellendale tangerines, for which the phospholipids profile analysis by GC-MS was included. Both cultivars are abundantly produced in Argentina, with Murcott being more cold sensitive than Ellendale (Ragone, 1996).

3. MATERIALS AND METHODS

PLANT MATERIAL AND TREATMENTS

Assays were conducted with orange fruit [*C. sinensis*(L.) Osbeck] cv “Valencia late” and the tangors Murcott and Ellendale, grown in the Estación Experimental Agropecuaria INTA, Concordia, Entre Ríos, Argentina (EEAC). Valencia oranges were harvested at full maturity in October/November 2007 and 2008, while Murcott and Ellendale tangors were harvested in September 2013. Immediately after harvest, fruit were manually selected for uniformity of color and size and divided into two groups of 50 each. The first group was used as control, remaining for 72 h at 20 °C. The second group received a heat treatment, which consisted of 48 h at 37 °C and 90 % relative humidity followed by 24 h at 20 °C. This treatment usually is applied to oranges from the EEAC because its effectiveness in controlling *Penicillium digitatum* has been demonstrated previously (Cocco *et al.*, 2008). Groups were labeled control (C) and heat treated (HT), respectively. In turn, one subgroup of each category was stored at 4 °C for 7, 30 or 60 days, depending of the sample, simulating commercial conditions (C or HT +7d, 30d or 60d). Immediately after each treatment, the flavedo (epicarp) and juice sacs were frozen in liquid nitrogen and stored at -80 °C for further experiments. Tangerines were sampled at 7 and 30 days of storage.

TOTAL PROTEIN EXTRACTION

Fruit tissue (approximately 0.5 g) was powdered with liquid nitrogen in a mortar and then homogenized with ten volumes of extraction buffer (100 mM KPi pH 7.0, 1 mM PMSF). The final pH of the crude extracts thus obtained was near 7.0. The homogenates were centrifuged for 15 min at 4 °C at maximum speed. The resulting supernatant was desalted in a Sephadex G- 50 column previously equilibrated with five volumes of extraction buffer (Penefsky, 1977). The eluate was used as the source for enzyme activity measurements and immunoblotting.

PROTEIN QUANTIFICATION

Protein concentration was determined in crude extracts using a detergent-compatible formulation based on bicinchoninic acid (BCA) for colorimetric detection of total protein and bovine serum albumin as standard.

ACTIVITY ASSAY

Enzyme activities were measured as described by Perotti *et al.* (2011; 2014; 2015).

BIDIMENSIONAL ELECTROPHORESIS

Protein extraction, labelling with dyes, gel image analysis and protein identification were carried out as previously described (Perotti *et al.*, 2011).

CRUDE EXTRACTS PREPARATION FOR LC-MS METABOLITE ANALYSIS

Phenolic compounds from flavedo of citrus fruits were analyzed as described (Ballester *et al.*, 2013) with slight modifications. HPLC-MS analysis was performed using an Agilent 1200 HPLC system, coupled to a G1314C VWD UV detector and a Bruker micrOTOF-Q II spectrometer (Bruker-Daltonics). Fruit tissue (approximately 0.5 g of epicarp) was powdered with liquid nitrogen in a mortar and then homogenized with 1 ml of methanol 80 % V/V. The homogenates were centrifuged for 15 min at 4 °C in an Eppendorf microcentrifuge at maximum speed. The resulting supernatant was filtered through 0.22 µm GE nylon filter. Samples were separated by reverse phase HPLC in a Zorbax XDB 1.8 µ C18 column (50 mm × 3.0 mm, Agilent), using a binary gradient elution of acetonitrile and water (pH 2.5). The flow rate was 0.2 ml min⁻¹ and the injection volume, 5 µl. Elution was monitored at 280 nm. MS settings whereas follows: source type, ESI; ion polarity, positive; nebulizer, 1.0 bar; dry heater, 200 °C; dry gas, 4.0 l/min; capillary, 4500V; end plate offset, 500V; collision cell RF, 150.0 Vpp.

LIPID EXTRACTION AND DERIVATIZATION FOR GC-MS

From 0,5 g to 0,8 g of tissue (epicarp or juice sacs, respectively) were grounded in liquid N₂ and processed to obtain total fatty acids (Bligh and Dyer, 1959). After their derivatization to fatty acid methyl esters (FAMES), they were analysed by GC-MS and identified with standards or with National Bureau of Standards database (Perkin Elmer) (Tripodi *et al.*, 2006).

STATISTICAL ANALYSIS

Data from experiments were tested using two-way analysis of variance (ANOVA). Minimum significant differences were calculated by the Holm-Sidak test ($\alpha=0.05$) using the Sigma Stat Package.

4. RESULTS AND DISCUSSION

The aim of this work is to show how the measurements of different biochemical parameters can be used to build a considerably broad panorama of the response that diverse citrus fruits develop during postharvest storage and hence to evaluate the impact of treatments intended to improve shelf life. Moreover, it is possible to perform a comparison between different treatments or cultivars, which can lead to an improvement of treatments and the identification of quality traits.

PRIMARY AND SECONDARY METABOLISM

Levels of organic acids were variable. In tangerine epicarp the most abundant were malic and phosphoric acid, followed by threonic and estearic acid (Figure 1). Citric and fumaric acids were only detected in the first pair (C and HT before storage). Levels of malic and phosphoric acids rose immediately after HT but declined during harvest with scarce difference between treatments being evident after 30 days. It is known that during ripening the sugar content in juice sacs increase at expense of organic acids. However, this is not the case in the epicarp, since both seem to have the same tendency. Sucrose, fructose and glucose, the most abundant sugars, experienced an increment in the response to HT, followed by a drop after 7 or 30 days of storage to levels almost identical in C and HT fruits. Melibiose amount does not undergo a significant change with treatment or time of storage.

Interest in citrus phenolic compounds are related with their antioxidant properties which have been demonstrated to be valuable in human health (Shen *et al.*, 2013). The most significant difference were found in narirutin, didymin and nobiletin, more abundant in Murcott, whereas hesperidin content was greater in Ellendale. Further research is necessary to evaluate the implication of these variations (Figure 2).

LIPID CONTENT

Determination of total phospholipid content can offer important clues about the physiological state of membranes. It is known that low temperatures (0 °C) cause an increase in polyunsaturated fatty acids, mainly linolenic acid (18:3, w3), which is beneficial to maintain membrane integrity (Zhang and Tian, 2009). Less is known about the changes in membrane lipids after HT and subsequent storage at 4 °C. Figure 3 displays the changes occurred in phospholipid content in epicarp and juice sacs of two cultivars of tangerine. The main difference is observed among oleic acid (18:1) and linoleic acid (18:2), which are the most abundant in juice sacs, both at around 30 % of relative abundance, while in epicarp 18:1 drops to 15 % and 18:2 increase to almost 50 % of abundance in both cultivars. Linolenic acid (18:3) is more abundant in Murcott epicarp. Relative quantities of diverse fatty acids are not significantly affected by HT or storage.

PROTEIN PROFILE AND ENZYMATIC ACTIVITIES

Two-dimensional electrophoresis profile of total protein extracted from tissue after diverse treatment or storage time and subsequent analysis of differentially expressed peptides, allowed the assignment of enzymes altered and main metabolism affected.

METABOLISMS AFFECTED: IRON, CARBOHYDRATE, MITOCHONDRIAL FUNCTION

From de interrelated analysis of data collected thus far, it is possible to acquire knowledge about metabolisms that were affected both by heat treatment and storage. Differential spots seen in 2D-DIGE are identified by mass spectrometry and data comparison with MASCOT database. In orange, the number of proteins with diminished expression after HT was greater than those induced. The function of these proteins was mainly associated with cell rescue, defense and virulence, storage and metabolism. With regard to storage time, proteins related with biogenesis of cellular components were induced to the same extent than storage proteins. The induction of HSPs, a very well described result after a heat shock, can be so high to the point of masking low abundant proteins. As a consequence, it is important to evaluate fluctuation in metabolites levels and enzymes activities as well. Levels of NADH or NADPH dependent dehydrogenases give an idea of the redox status variation; activities of mitochondrial enzymes are indicators of mitochondrial function and other enzymes are related with specific metabolisms (carbohydrate, iron homeostasis, defense response, etc).

5. CONCLUSIONS

The use of omics, in combination with data acquired by enzymatic activities measures and western blots (not shown), has been successfully exploited to gain valuable information about biochemical and physiological changes in citrus during diverse postharvest treatment and storage periods. Additionally, the same procedure can be used to focus on the biochemical basis of the differences between varieties, which could eventually be useful for targeted modification of metabolism in the creation of new varieties.

6. REFERENCES

- BALLESTER, A.R., Lafuente, M.T., de Vos, R.C.H., Bovy, A.G., González-Candelas, L., 2013. *Food Chem.* 136, 178–185.
- BLIGH, E.G., Dyer, W.J., 1959. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37, 911-917.
- COCCO, M., Vázquez, D.E., Albors, A., Cháfer, M., Meier, G.E., Bello, F., 2008. *Rev. Iberoam. Technol. Postcos.* 9, 55-62.
- FALCONE FERREYRA, M.L., Perotti, V., Figueroa, C.M., Garrán, S., Anderson, P.C., Vázquez, D., Iglesias, A.A., Podestá, F.E., 2006. *Physiol. Plant.* 128, 224-236.
- KATZ, E., Fon, M., Lee, Y., Phinney, B., Sadka, A., Blumwald, E., 2007. *Planta* 226, 989-1005.
- LARA, M.V., Borsani, J., Budde, C.O., Lauxmann, M.A., Lombardo, V.A., Murray, R., Andreo, C.S., Drincovich, M.F., 2009. *J. Exp. Bot.* 60, 4315 - 4333.
- LURIE, S., 1998. *Postharv. Biol. Technol.* 14, 257–269.
- PALOU, L., 2013. Mini-review: Heat treatments for the control of citrus postharvest green mold caused by *Penicillium digitatum* in: Méndez-Vilas, A. (Ed.), *Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education*. Formatex, Badajoz, Spain, pp. 508-514.
- PEROTTI, V.E., Del Vecchio, H.A., Sansevich, A., Meier, G., Bello, F., Cocco, M., Garrán, S.M., Anderson, C., Vázquez, D., Podestá, F.E., 2011. *Postharv. Biol. Technol.* 62, 97-114.
- PEROTTI, V.E., Moreno, A.S., Trípodí, K.E.J., Del Vecchio, H.A., Meier, G., Bello, F., Cocco, M., Vázquez, D.E., Podestá, F.E., 2015. *Postharv. Biol. Technol.* 99, 80-87.
- PEROTTI, V.E., Moreno, A.S., Trípodí, K.E.J., Meier, G., Bello, F., Cocco, M., Vázquez, D.E., Anderson, C., Podestá, F.E., 2014. *Physiol. Plant.* in press.
- RAGONE, M.L., 1996. Daños por heladas., in: INTA, S.-. (Ed.), *Manual para productores de naranja y mandarina de la región del río Uruguay*, p. 238.

SCHIRRA, M., D'Aquino, S., Cabras, P., Angioni, A., 2011. *J. Agric. Food Chem.* 59, 8531 - 8542.
 SHEN, Y., Sun, Y., Qiao, L., Chen, J., Liu, D., Ye, X., 2013. *Postharv. Biol. Technol.* 76, 50-57.
 TRIPODI, K.E.J., Buttigliero, L.V., Altabe, S.G., Uttaro, A.D., 2006. *FEBS Lett.* 273, 271-280.
 ZHANG, C.F., Tian, S.P., 2009. *Food Chem.* 115, 405-411.
 ZHANG, J.J., Wang, X., Yu, O., Tang, J.J., Gu, X.G., Wan, X.C., Fang, C.B., 2010. *J. Exp. Bot.* 62, 1103 - 1118.

7. TABLES AND FIGURES

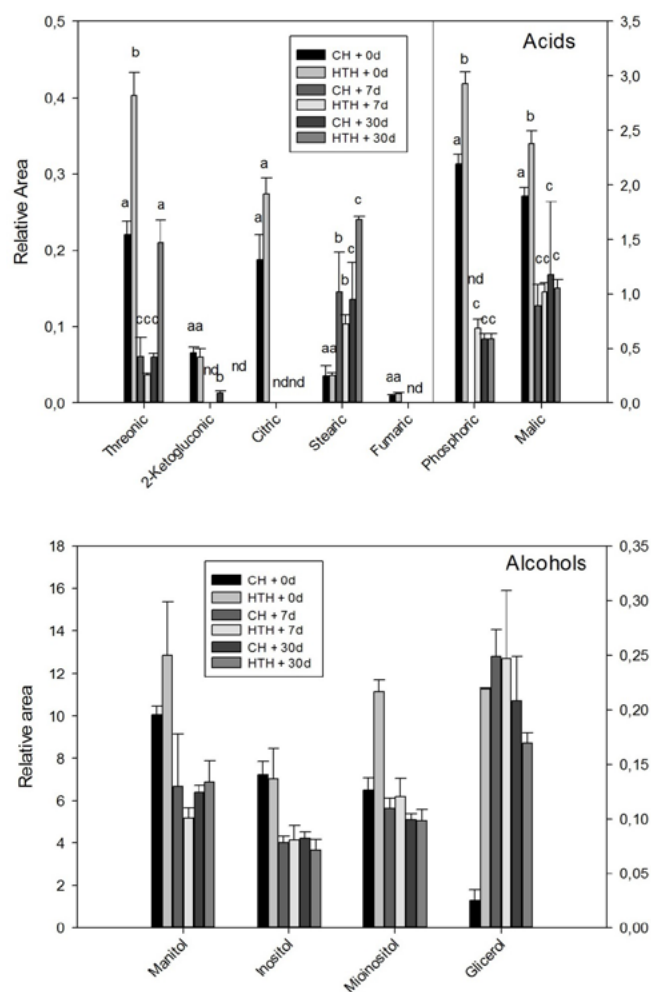


FIGURE 1. Quantification of acids, sugars, alcohols and other compounds in epicarp of Murcott tangor. Determinations of relative metabolite concentrations were carried out using pools of six independent samples. Variation of levels of metabolites are expressed as the relative response ratio with respect to the ribitol internal standard. For each metabolite, bars with the same letters are not significantly different ($P < 0.05$)

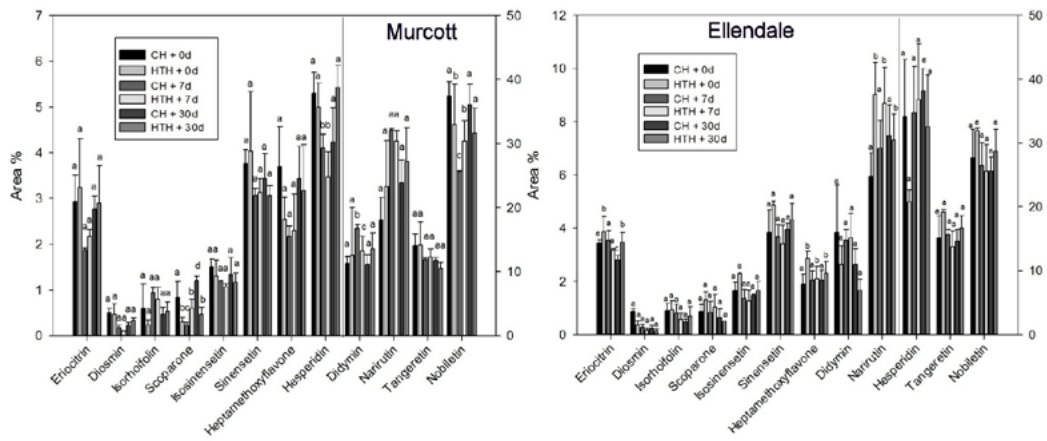


FIGURE 2. Quantification of flavonoids and phenylpropanoids. Average and SD of three independent determinations are shown as relative abundance in percentage of peaks detected at 280nm

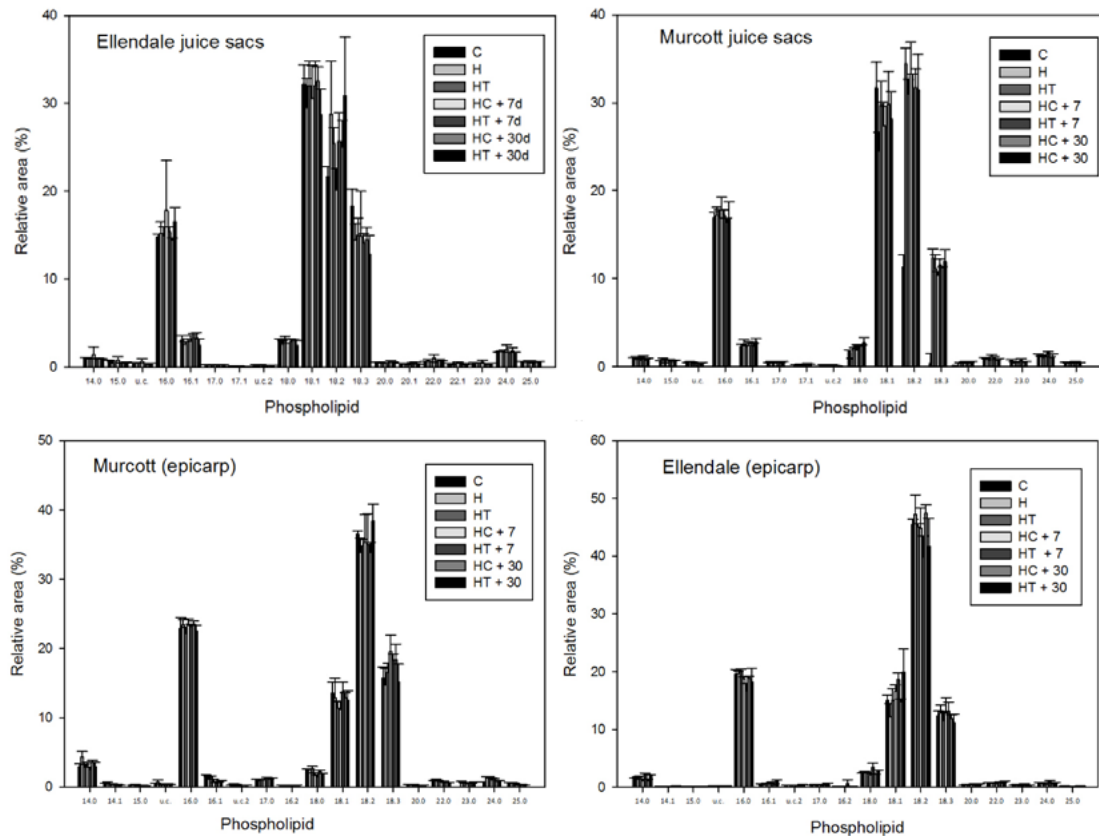


FIGURE 3. Phospholipids profile. Total membrane fatty acids were extracted and derivatised as methyl esters for subsequent analysis with GC-MS. Results are the average and SD from three independent samples expressed as relative abundance in percentage

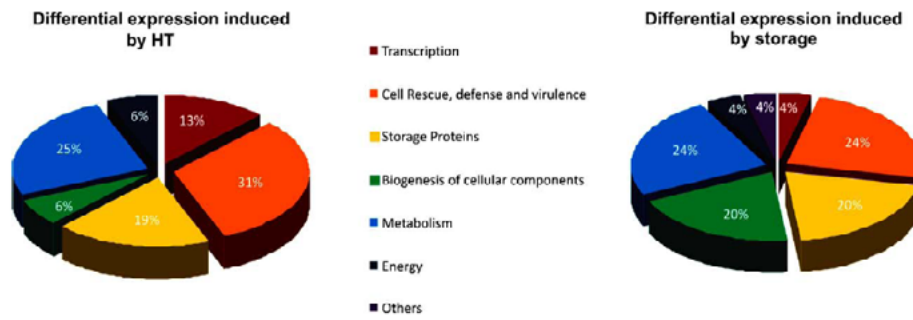


FIGURE 4. Functional classification of citrus differentially expressed proteins in the two types of comparisons made. Categorization was performed according to the MIPS database (<http://mips.gsf.de>). The numbers on each fraction indicate the percentage of the detected proteins belonging to each category

EVALUACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y MICROBIOLÓGICA DE MIEL DE ABEJAS SIN AGUIJÓN DE LA PROVINCIA DEL CHACO, ARGENTINA

Cecilia Alejandra Romero¹, Laura Alejandra Nuñez¹, Susana Beatriz Montenegro¹, Oscar Alfredo Garro¹, Bertha Mabel Baldi Coronel²

1. RESUMEN

La miel de meliponinos, conocidos por el término “abejas sin aguijón”, presenta una demanda creciente por tratarse de un producto natural con reconocidas propiedades medicinales desde la antigüedad. Sin embargo, en la actualidad no existen parámetros reglamentados que permitan su correcta comercialización, ya que por sus propiedades fisicoquímicas no logran encuadrarse dentro de las normativas correspondientes a la miel de *Apis mellifera*. Debido a que pocos son los estudios que tratan sobre las características de los productos de las abejas sin aguijón en Argentina y no se hallan antecedentes en la provincia del Chaco, el presente trabajo propone caracterizar las propiedades fisicoquímicas y microbiológicas de estas mieles, con el fin de establecer parámetros de calidad que permitan valorizar su producción, protección y su correcta comercialización. Fueron analizadas muestras de distintas regiones fitogeográficas de la provincia del Chaco; los niveles de humedad encontrados variaron de 18.6 a 27.56 %, siendo el máximo exigido por el Código Alimentario Argentino de 20 % para miel de abejas, los valores de pH oscilaron entre 3.76 y 5.35, la media de la actividad acuosa fue de 0.732, se registraron promedios elevados de acidez, respecto a lo reglamentado para mieles de *Apis mellifera* (máximo: 40 miliequivalentes/kg. de miel) y característico de estas mieles, con valores de 62.73 meq/kg, 2.46 meq/kg y 65.19 meq/kg como promedios para la acidez libre, láctica y total, respectivamente; además, presentaron una colora-

CONTACTO: Cecilia Alejandra Romero ceciliarom17@hotmail.com

1. Universidad Nacional del Chaco Austral, Argentina.

2. Facultad de Bromatología, Universidad Nacional de Entre Ríos, Argentina.

ción que varió entre ámbar claro y ámbar oscuro, correspondientes a 73 y 150 mm Pfund. El análisis microbiológico exhibió la ausencia de coliformes totales y fecales en todas las muestras analizadas, el recuento de bacterias aerobias mesófilas totales osciló entre 5.4×10^2 y 8.3×10^4 UFC/gramo de miel, y el ensayo de determinación de hongos y levaduras indicó que las muestras presentaron valores por encima de lo especificado por las normativas para miel de abejas, con valores entre 2.5×10^2 y 8.0×10^4 UFC/gr. Los datos arribados en este trabajo concuerdan con antecedentes sobre estas mieles, lo cual deja en evidencia la necesidad de establecer normativas específicas para ellas.

2. INTRODUCCIÓN

Las abejas sin aguijón, son un grupo de insectos sociales que habitan áreas tropicales y subtropicales, pertenecen a la familia *Apidae*, subfamilias *Meliponinos*, dividiéndose en dos tribus: *Meliponini* y *Trigonini* (Nogueira-Neto, 1997). Estas abejas son nativas del continente americano, y alrededor de 300 especies se encuentran distribuidas desde México hasta la región norte de Argentina (Silveira, Melo, & Almeida, 2002), siendo las más abundantes en la región del Chaco Semiárido *Scaptotrigona jujuyensis* y *Tetragonisca angustula* (Spagarino, Chinetta, Basilio, Lazzari, & Achaval, 2007).

La miel de estas abejas ha sido usada en medicina folclórica en Perú, Guatemala, Venezuela y México (Vit, Medina, & Enriquez, 2004). Además, Grajales, Rincón, Vandame, Santiesteban, & Guzmán (2001) cita que civilizaciones aborígenes mexicanas utilizaban la miel de meliponinos con fines comerciales, rituales, pero son pocos los trabajos científicos respecto a su miel y subproductos. En la actualidad, los pobladores rurales, la utilizan como complemento de la dieta (Vit *et al.*, 2004).

Las abejas sin aguijón almacenan la miel en potes de cerumen y, en estructuras similares pero por separadas, almacenan polen (Nogueira-Neto, 1997) (Figura 1). La miel es una compleja mezcla de componentes edáficos, botánicos y entomológicos que contribuyen a las propiedades bioactivas y a su valor en apiterapia (Molan, 2005). Este producto principal de los meliponinos, presenta un alto contenido de humedad en comparación con la miel de *Apis mellifera* (Evangelista-Rodrigues, Sarmiento da Silva, Fernandes Beserra, & Rodrigues, 2005), esto favorece al desarrollo de microorganismos en especial levaduras, por lo que requiere mayores cuidados

durante su almacenamiento. Dichos microorganismos son responsables de fermentaciones, que son inaceptables en mieles de *Apis mellifera* y pueden ser la causa de la alta acidez y bajo pH (Carvalho, Souza, Sodré, Marchini, & Alves, 2005). Teixeira *et al.* (2003) halló, en mieles de abejas sin aguijón, recuentos de hongos y levaduras altos respecto a normativas para miel de abejas, que sugieren que las levaduras están metabólicamente activas y capaces de crecer a expensas de los azúcares presentes, mejorando su calidad nutricional.

Otra función muy importante que cumplen las abejas sin aguijón es la de polinizar flores de numerosas especies, tanto en los bosques nativos como en los campos de agricultura (Baquero & Stamatti, 2007). Resultados obtenidos por Nuñez, Montenegro, & Avallone (2012a), muestran una preferencia de las abejas nativas de la provincia del Chaco por especies arbóreas nativas.

En Argentina, la cría racional de estas abejas (meliponicultura) se está iniciando, como una actividad generadora de recursos y como biodiversificadora de ecosistemas por su servicio polinizador, sin embargo, dicha actividad se ve obstaculizada, por la falta de normativas acordes a estas mieles. Pocos son los estudios realizados a este producto y los antecedentes existentes muestran gran variabilidad de sus parámetros fisicoquímicos, entre mieles de abejas sin aguijón de la misma región y la miel de éstas con la producida por *Apis mellifera* (Romero *et al.*, 2011; Nuñez, Romero, Osuna, & Avallone, 2012b).

Con el objetivo de caracterizar las mieles de abejas sin aguijón y que posteriormente se puedan establecer parámetros de calidad que permitan valorizar e incentivar la meliponicultura y una adecuada comercialización de esta miel, se analizaron muestras de mieles de abejas sin aguijón, *Scaptotrigona jujuyensis*, y *Tetragonisca angustula* de distintas localidades de la provincia del Chaco, determinando sus parámetros fisicoquímicos y microbiológicos.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Muestras de miel: durante los años 2013-2014, se recolectaron seis muestras de miel de abejas nativas o sin aguijón, de las especies *Tetragonisca angustula* y *Scaptotrigona jujuyensis*, de diferentes localidades de la provincia del Chaco (Pampa del Infierno, Presidencia Roque Sáenz Peña, General José de San Martín, Los Frento-

nes). Las mismas, fueron extraídas de las vasijas melarias en forma aséptica, por succión con jeringas descartables y conservadas en recipientes cerrados a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ aproximadamente, hasta el momento de su análisis.

Análisis fisicoquímicos

Humedad: Método refractométrico, AOAC. 969.38 b, 1990. Utilizando tabla extendida hasta 30 % de humedad.

pH: Método potenciométrico (Bogdanov, Martin, & Lullmann, 2002) utilizando un pHmetro IQ 140.

Acidez libre, láctónica y total: Método volumétrico, AOAC. 962.19. 1990.

Color: Método colorimétrico, equipo Hanna Honey HI96785. Los resultados se expresaron en mmPfund.

Actividad acuosa (aw): Con equipo Testo 650.

Análisis microbiológicos

Se usaron los métodos ICMSF. Se pesaron 10gr de muestra de miel en frascos de 250 ml y se diluyeron con 90 ml de agua peptonada estéril (APE) 0.1 %, obteniendo de esta manera la dilución 10^{-1} .

Bacterias aerobias mesófilas totales: a partir de la dilución 10^{-1} , se prepararon diluciones seriadas hasta 10^{-4} en APE 0,1 % que fueron inoculadas, por vaciado, sobre placas de Petri en agar PCA fundido y mantenido a $46 \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$. Luego se incubaron a $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 48 horas. El recuento total en placa se expresó en unidades formadoras de colonias por gramo de muestra (UFC/gr).

Coliformes totales y fecales: se determinó según la técnica del número más probable (NMP), método 2^3 (británico). Por triplicado, se prepararon diluciones 10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3} y se incubaron a $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 48 horas en caldo McConkey con campana de Durham. Los resultados se expresaron como el número más probable por gramo de muestra (NMP/gr).

Hongos y levaduras: se prepararon hasta 10^{-4} diluciones seriadas a partir de la 10^{-1} , las que fueron sembradas en agar Sabouraud con cloranfenicol, luego se incubaron a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 5 días. Los resultados se expresaron en UFC/gr de muestra.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos de los análisis fisicoquímicos en mieles de abejas nativas, se resumen en la Tabla 1. El contenido de humedad osciló entre 18.60 y 27.56 %, sólo una muestra mostró una humedad por debajo del 20 %, máximo establecido en el Código Alimentario Argentino (CAA) para mieles de *Apis mellifera*, las restantes superaron dicho valor, sin embargo, no sobrepasaron el máximo de 30 %, propuestos por Vit *et al.* (2004) para mieles de abejas sin aguijón. Esta elevada humedad, es una de las principales diferencias que poseen respecto de la miel de abejas.

La suma de la acidez láctónica y la libre da como resultado la acidez total y el valor medio de ésta fue de 65.19 ± 37.71 meq/kg. Existe una relación entre los tres tipos de acidez y el pH (White, 1962), esto se comprobó en las muestras analizadas, las cuales mostraron un coeficiente de correlación de Pearson de 0.51, 0.57 y 0.53 entre el pH y la acidez libre, láctónica y total, respectivamente. Villas-Bôas & Malaspina (2005) indica que la miel de abejas nativas posee una acidez libre más alta respecto a la producida por *Apis mellifera*, sugiriendo valores máximos de 85 meq/kg. Los valores obtenidos oscilaron entre 12.13 y 118.14 meq/kg, hallándose dos de ellos por encima de lo propuesto por este autor. Sin embargo, Lage *et al.* (2012) reportó un valor máximo de 122.50 meq/kg y Pucciarelli *et al.* (2009) de 126.7 meq/kg en mieles misioneras de *Tetragonisca angustula*. La media de la acidez láctónica fue de 2.46 ± 1.41 meq/kg, inferior a la publicada por Souza *et al.* (2006) de 6.2 meq/kg.

El pH de las mieles de abejas nativas estudiadas varió de 3.76 y 5.35, valores similares fueron hallados por Pucciarelli *et al.* (2009), quienes encontraron un rango de 3.50-5.00 en mieles de Yateí de la provincia de Misiones, y Romero *et al.* (2011) informaron un pH medio de 4,46 en mieles de *Tetragonisca angustula* de la provincia del Chaco.

La aw osciló entre 0.71 y 0.75, en concordancia con lo publicado por Lage *et al.* (2012) quienes hallaron valores desde 0.59 a 0.79 y Marques Monte *et al.* (2013) informaron un rango de 0.65 a 0.68, ambos en mieles de meliponas.

La coloración de las mieles varió desde ámbar claro a ámbar oscuro, conforme con antecedentes de Romero, Nuñez, Montenegro, & Avallone (2012) para otras localidades de la provincia y a lo publicado por Basilio, Spagarino, Landi, & Achával (2013) en mieles de estas abejas de la provincia de Formosa.

Actualmente no existen normas que reglamenten la carga microbiana permitida para mieles de especies nativas para consumo humano o uso medicinal. Los resultados obtenidos del análisis microbiológico se resumen en la Tabla 2, éstos evidenciaron la ausencia de coliformes totales en todas ellas, al igual que lo hallado por Pucciarelli *et al.* (2009) y Lopes Alves, Vitorino de Meneses, Silva, Parente, & Neto (2011), cumpliendo con lo exigido por el CAA y el Reglamento Técnico para mieles de abejas (RTCR 432:2009).

El recuento de bacterias aerobias mesófilas totales osciló entre 5.4×10^2 y 8.3×10^4 UFC/gr, rangos más amplios fueron publicados por Pucciarelli *et al.* (2009) con recuentos entre 30 y 3×10^5 UFC/g. Dos de los valores hallados superan el máximo propuestos en el RTCR 432:2009 de 1×10^4 UFC/g.

La determinación de hongos y levaduras indicó que las muestras presentaron recuentos elevados de 2.5×10^2 a 8.0×10^4 UFC/gr (Figura 2) respecto a lo especificado en el RTCR 432:2009, pero se encuentran dentro del rango publicado por Hernández Moreno & Figueroa Ramírez (2010) de <10 a 1.6×10^5 UFC/g para mieles de *Tetragonisca angustula*. Esto se debe también al alto contenido de humedad inicial de las mieles lo que limita su conservación.

5. CONCLUSIONES

Los parámetros fisicoquímicos analizados arrojaron valores que se encuentran dentro de los esperados y/o coincidentes con antecedentes para mieles de estas abejas.

Este tipo de miel exhibió un elevado contenido de humedad, por lo que los recuentos de hongos y levaduras totales fueron altos, entre 2.5×10^2 y 8×10^4 UFC/g, en comparación con lo establecido por las normativas vigentes para miel de abejas (*Apis mellifera*) de 1×10^2 UFC/gr. Esto demuestra la necesidad de establecer parámetros de calidad específicos para mieles de esta especie de abejas.

En cuanto a otros contaminantes microbiológicos como coliformes totales, no acusa contaminación en estas condiciones, evidenciando que la contaminación más probable sería propia de su flora natural y composición química, no alterando la calidad de la miel.

Los datos hallados conforman el inicio de una base de datos para una futura normativa específica para mieles de abejas sin aguijón de la Provincia del Chaco. Se espera ampliar esta investigación con el análisis de un mayor número de muestras.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. (1990). *Official Methods of Analysis* (15th ed.) Arlington, USA: AOAC, Vol. II.
- BAQUERO, L. & Stamatti, G. (2007). *Cría y manejo de abejas sin aguijón*. Tucumán, Argentina: Ediciones del Sub-trópico, Yerba Buena.
- BASILIO, A.M., Spagarino, C., Landi, L., & Achával B. (2013). *Miel de Scaptotrigona jujuyensis en dos localidades de Formosa, Argentina*. Recuperado de http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/35620/3/3_mielscaptotrigona_jujuyensis.pdf
- Bogdanov, S., Martin, P., & Lullmann, C. (2002). *Harmonized Methods of the International Honey Commission*. Berna, Suiza.
- CARVALHO, C.A.L., Souza, B.A., Sodré, G.S., Marchini, L.C., & Alves, R.M.O. (2005). *Mel de abelhas sem ferrão: contribuição para a caracterização físico-química*. Cruz das Almas, Bahía, Brasil: Ed. Nova Civilização.
- CÓDIGO ALIMENTARIO ARGENTINO (CAA). Ley 18.284 18/07/69. Decreto 2126/71. Alimentos azucarados. Buenos Aires, 2010. Recuperado de http://www.anmat.gov.ar/alimentos/codigoa/Capitulo_X.pdf
- EVANGELISTA-RODRIGUES, A., Sarmiento da Silva E.M., Fernandes Beserra, E.M., & Rodrigues, M.L. (2005). Análise físico-química dos méis das abelhas *Apis Mellifera* e *Melipona scutellaris* produzidos em duas regiões no Estado da Paraíba. *Ciencia Rural*, 35 (5), 1166-1171.
- GRAJALES, J., Rincón, M., Vandame, R., Santiesteban, A., & Guzmán, M. (2001). *Características físicas, químicas y efecto microbiológico de mieles de meliponidos y Apis mellifera de la región Soconusco, Chiapas*. Memorias. II Seminario Mexicano sobre Abejas sin Aguijón. Mérida, Yucatán.
- HERNANDEZ MORENO, D.I. & Figueroa Ramirez, J. (2010). Estimación de la carga microbiana de la miel de *Tetragonisca angustula*. *Revista Cubana de Ciencia Apícola*, 12 (1), 1 – 6.
- ICMSF. *Microorganismos de los alimentos. Técnicas de análisis microbiológico*. Editorial Acribia.
- LAGE, L.G.A., Coelho, L.L., Resende, H., Tavares, M., Campos, L.A.O., & Fernandes-Salomao, T.M. (2012). Honey physicochemical properties of tree species of the brazilian *Melipona*. *Anais da Academia Brasileira de Ciencias*, 84 (3), 605-608.
- LOPES ALVES, T.T., Vitorino de Meneses, A.R., Silva, J.N., Parente, G.D.L., & Neto, J.P.H. (2011). caracterização físico-química e avaliação microbiológica de méis de abelhas nativas do nordeste brasileiro. *Revista Verde*, 6 (3), 91-97.

- MARQUES MONTE, A., Azevedo, M.L.X., Cardozo Filho, F.C., Dourado Rodrigues, A.M., Gonçalves de Moura, S., & Sanches Muratori, M.C. (2013). Qualidade de méis de abelhas nativas sem ferrão o do Estado do Piauí, Brasil. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 35 (1), 48-54.
- MOLAN, P. (2005). *Manuka Honey as a medicine*. *Public Service Review*, 5, 52-54. Recuperado de <http://www.biowaikato.ac.nz/pdfs/honeyresearch/bioactives.pdf>
- NOGUEIRA-NETO, P. (1997). *Vida e Criação de Abelhas Indígenas Sem Ferrão*. São Paulo: Nogueirapis.
- NUÑEZ, L.A., Montenegro S.B., & Avallone, C.M. (2012a). *Origen botánico de mieles producidas por abejas nativas sin aguijón (Tetragonisca angustula) de la provincia del Chaco*. Recuperado de <http://cicytac.cba.gov.ar/es/Informes/An%C3%A1lisis%20of%C3%ADsicosqu%C3%ADmicos%20y%20sensoriales.%20IV%20CICYTAC%202012.pdf>
- NUÑEZ, L.A., Romero, C.A., Osuna, M.B., & Avallone, C.M. (2012b). *Análisis de parámetros de calidad de mieles de Tetragonisca angustula de la provincia del Chaco*. Presentado en modalidad poster en Congreso Latinoamericano de Ingeniería y Ciencias Aplicadas. San Rafael, Mendoza, Argentina.
- PUCCIARELLI, A.B., Schapovaloff, M.E., Kumritz, S., Señuk, I.A., García, M.A., & Brumovsky, L.A. (2009). *Caracterización microbiológica y fisicoquímica de miel de Yateí en la provincia de Misiones*. Presentado en III Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Córdoba, Argentina. Recuperado de http://agro.unc.edu.ar/~uninvestigacion/doc/LIBRO_2.pdf
- REGLAMENTO TÉCNICO PARA MIEL DE ABEJAS RTCR 432:2009. (2009). Recuperado de http://www.puntofocal.gov.ar/notific_otros_miembros/cr193_t.pdf
- ROMERO, C.A., Nuñez, L.A., Avallone, C.M., Montenegro, S.B., Osuna, M.B., & Vizgarra, C.G. (2011). *Estudio de los parámetros fisicoquímicos y origen botánico de mieles de abejas nativas (Tetragonisca angustula) de la provincia del Chaco*. CD del XIII Congreso Argentino Ciencia y Tecnología de Alimentos CYTAL. Buenos Aires, Argentina.
- ROMERO, C.A., Nuñez, L.A., Montenegro, S.B., & Avallone C.M. (2012). *Estudio del contenido de polifenoles de mieles de Apis mellífera y Tetragonisca angustula de la provincia del Chaco*. Presentado en IV Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los alimentos. Recuperado de <http://cicytac.cba.gov.ar/es/Informes/An%C3%A1lisis%20of%C3%ADsicos-qu%C3%ADmicos%20y%20sensoriales.%20IV%20CICYTAC%202012.pdf>
- SILVEIRA, F.A., Melo, G.A.R. & Almeida, E.A.B. (2002). *Abelhas brasileiras: Sistemática e identificação*. Belo Horizonte: Fernando A. Silveira. Recuperado de http://www.lojademeliponicultor.com.br/livros/abelhas_brasileiras.pdf

- SOUZA, B., Roubik, D., Barth, O., Heard, T., Enríquez, E., Carvalho, C., Villas-Bôas, J. K., Marchini, L., Locatelli, J., Persano-Oddo, L., Almeida-Muradian, L., Bogdanov, S., & Vit, P. (2006). Composition of stingless bee honey: setting quality standards. *Interciencia*, 31(12), 867-875.
- SPAGARINO, C., Chianetta, P., Basilio, A., Lazzari, G., & Achaval, B. (2007). *Hábitos de nidificación de melipónidos comunes en bosques del Chaco semiárido. Implicancias en el manejo forestal.* Trabajo presentado en Jornadas Forestales, Santiago del Estero. Recuperado de <http://fcf.unse.edu.ar/IIIjorfor/posters.html>
- TEIXEIRA, A.C.P., Marini, M.M., Nicoli, J.R., Antonini, Y., Martins, R.P., Lachance, M.A. & Rosa, C.A. (2003). *Starmerella meliponi-norum* sp. nov., a novel ascomycetous yeast species associated with stingless bees. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53, 339-343.
- VILLAS-BÔAS, J.K. & Malaspina O. (2005). Parâmetros físico-químicos propostos para o controle de qualidade do mel de abelhas sem ferrão no Brasil. *Mensagem Doce*, 82, 6-16.
- VIT, P., Medina, M., & Enriquez, E. (2004). Quality standars for medicinal uses of Meliponinae honey Guatemala, Mexico and Venezuela. *Bee world*, 85, 2-5.
- WHITE, J.W. (1962). Determination of acidity, nitrogen and ash in honey. *Journal Association of Agricultural Chemistry*, 45, 548-551.

7. TABLAS Y FIGURAS

TABLA 1: Composición fisicoquímica de mieles de abejas sin aguijón

		Media ± D.E.	Mínimo	Máximo
Humedad (%)		24,05 ± 2,82	18,60	27,56
pH		4,50 ± 0,64	3,76	5,35
Acidez	Libre (meq/kg)	62,73 ± 37,79	12,13	118,14
	Lactónica (meq/kg)	2,46 ± 1,41	0,39	5,45
	Total (meq/kg)	65,19 ± 37,71	12,94	118,59
Aw		0,73 ± 0,01	0,71	0,75
Color (mmPfund)		104,39 ± 33,61	73,00	150,00

TABLA 2. Comparación de los resultados del análisis microbiológico en mieles de abejas sin aguijón con antecedentes en mieles de la misma especie y reglamentaciones para *Apis mellifera*

Microorganismos		Resultados obtenidos	Antecedentes	RTCR 432: 2009 Reg. Técnico para Miel de Abejas
Bacterias aerobias mesófilas totales	Mín. Máx.	5.4×10^2 UFC /gr 8.3×10^4 UFC/gr	30 UFC/g 3×10^5 UFC/g (Pucciarelli <i>et al.</i> , 2009)	Máx. 1×10^4 UFC/gr
Hongos y levaduras	Mín. Máx.	2.5×10^2 UFC/gr 8.0×10^4 UFC/gr	<10 UFC/gr 1.6×10^5 UFC/gr (Hernandez Moreno <i>et al.</i> , 2010)	Máx. 1×10^2 UFC/gr
Coliformes totales	Menos de 3 NMP/g	Menos de 3 NMP/g (Pucciarelli <i>et al.</i> , 2009; Lopes Alves <i>et al.</i> , 2011)	Menos de 3 NMP/g	



FIGURA 1. Vasijas de cerumen con miel y polen de abejas sin aguijón

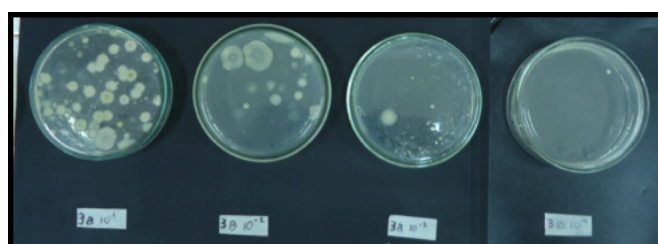


FIGURA 2. Recuento en placas de hongos y levaduras en muestras de mieles

OPTIMIZACIÓN DE LA CALIDAD DE HOJUELAS FRITAS DE POROTO (*ERYTHRINA EDULIS*) UTILIZANDO VISIÓN COMPUTACIONAL Y LA FUNCIÓN DE DESEABILIDAD

Raúl Siche¹, Erick Saldaña Villa², Wilson Manuel Castro Silipú³

1. RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue optimizar la aceptabilidad y el color de hojuelas fritas de poroto (*Erythrina edulis*) en función de la temperatura y tiempo de fritura, utilizando un Sistema de Visión Computacional (SVC) y la Función de Desabilidad (FD). Fue empleado un Diseño Compuesto Central Rotacional (DCCR) con temperaturas entre 140 °C y 200 °C y tiempos entre 60 y 180 s, doce ensayos en total, incluyendo 4 repeticiones en el punto central (170 °C y 120 s), y observando su efecto en la aceptabilidad (sensorial) y el color (sensorial e instrumental) de hojuelas fritas de poroto. Para evaluar la aceptabilidad se realizaron pruebas sensoriales con 112 panelistas no entrenados y utilizando una escala hedónica estructurada de 9 puntos. Para el color sensorial se utilizó una prueba similar al de la aceptabilidad; para el color instrumental se utilizó un SVC, diseñado y calibrado, de donde se obtuvo el valor L^* , a^* y b^* para cada muestra. Las condiciones óptimas de mejor color a nivel instrumental fueron definidas en base en el análisis sensorial. Utilizando un análisis de superficie de respuesta, se concluyó que temperaturas entre 170 y 185 °C y tiempos de fritura entre 60 y 95 s optimizan las características de aceptabilidad y color. Los valores de L^* que corresponden a estos intervalos óptimos están entre 40 y 60. Utilizando la Función de Desabilidad, se obtuvo que la fritura con 177.5 °C y 77.5 s optimiza la aceptabilidad y el color de hojuelas fritas de poroto a

CONTACTO: Raúl Siche rsiche@unitru.edu.pe

1. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Trujillo, Perú.

2. Department of Agro-industry, Food and Nutrition, "Luiz de Queiroz" Agricultural College, University of São Paulo, Piracicaba City, Brazil.

3. Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias, Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas, Perú.

puntajes aproximadamente de ocho. La importancia de estos resultados radica en que la calidad de una hojuela frita de poroto se podría medir directamente con un SVC basado en el valor instrumental L^* (Luminosidad), evitando tiempo y dinero en pruebas sensoriales y equipos sofisticados.

2. INTRODUCCIÓN

Según Pulgar-Vidal (1996) el poroto (*Erythrina edulis*), llamado también frejol del Inca, es una importante especie vegetal del Perú que tiene su hábitat entre 2300 y 3500 msnm. Como toda leguminosa, mejora la fertilidad del suelo gracias a la fijación del nitrógeno atmosférico por las bacterias (*Rhizobium* sp.) que viven en simbiosis con la planta (Ruskin, 1989). Además es una especie del alto contenido de proteína (Pérez, 1998) lo que lo hace ideal para su uso en la alimentación. El poroto frito es una de las formas más comunes de consumo en zonas rurales del Perú, que requiere de un estudio adecuado para evaluar aspectos de calidad, principalmente el color, resultados que podrían interesar a una industria. Por un lado, la gran expansión de la utilización de la fritura se debe principalmente a que los alimentos, tras este proceso, adquieren unas características únicas de aroma y textura que no es posible conseguir con otras técnicas de procesado de alimentos (Moreira, 2001; Rimac *et al.*, 2004; Saguy y Dana, 2003). Además, desde el punto de vista económico el sector de alimentos fritos ha experimentado un crecimiento importante, especialmente el de snacks (aperitivos) y los denominados comida rápida. Por otro lado, 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, muchas veces sin haber evaluado previamente otras características sensoriales y nutricionales. Normalmente, las medidas de color en la industria de alimentos se realizan por evaluación sensorial (visual) o instrumental, esta última puede ser llevada a cabo mediante colorímetros, espectrofotómetros o espectrorradiómetros.

Una de las formas modernas de medir la calidad en función del color es la Visión por Computadora (VC), tecnología que sirve para adquirir y analizar una imagen (de una escena real) utilizando un ordenador (Brosnan y Sun, 2003). Un Sistema de Visión Computacional (SVC) aplicado a la evaluación de calidad de alimentos tiene como objetivo realizar automáticamente una o más de las siguientes tareas: control de calidad, caracterización, medición y detección de defectos y contaminantes (Moya,

2011). El SVC se ha utilizado para medir objetivamente el color de papas fritas por medio de valores del nivel de grises (Mendoza *et al.*, 2007), en cuatro tipos de vino rojo (González *et al.*, 2007), en yacón (Saldaña *et al.*, 2014), etc. Todos recomiendan el uso del SVC por sus ventajas (rápida, fácil y de bajo costo) en comparación con otras técnicas convencionales. Además, el SVC elimina la subjetividad de la inspección humana visual, la adición de precisión y consistencia de los resultados.

Finalmente, las tendencias actuales presionan a que la industria sea competitiva; una forma de lograrlo es optimizando los procesos. Existen muchos métodos de optimización, pero la Función de Conveniencia es un método multirespuesta basado en el concepto de que la calidad de un producto o proceso tiene múltiples características, manteniéndose todas ellas dentro de los límites “deseados” (Myers y Montgomery, 2001). Para cada respuesta, la función de conveniencia asigna números entre 0 [valor completamente indeseable] y 1 [valor completamente deseable o ideal]. En general, la conveniencia de cada respuesta debe ser mayor que cero como condición necesaria para establecer la conveniencia total de un sistema. En el intervalo [0,1] la conveniencia puede tener, según el caso, una variación lineal o no lineal, dependiendo de las condiciones propias del producto o proceso, que deberá ser previamente definida. Dependiendo de si la respuesta particular predicha va a ser maximizada, minimizada o asignado un valor objetivo en un rango determinado, se pueden emplear diferentes funciones objetivo (Derringer, 1980).

En vista de lo anterior, en el presente trabajo se tuvo como objetivo determinar el tiempo y temperatura de fritura que permita obtener el mejor color en hojuelas de poroto (*Erythrina edulis*) utilizando un sistema de visión computacional y la función de deseabilidad.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizó poroto (*Erythrina edulis*) procedente de distrito de Poroto, La Libertad, Perú. Un sistema de visión computacional (SVC) diseñado por Saldaña *et al.* (2014) fue calibrado para utilizarlo en este experimento.

Las semillas de poroto fueron seleccionadas y clasificadas según su tamaño y longitud para uniformizar la materia prima. Luego fueron lavadas para retirar impurezas y cocidas por 5 minutos a ebullición, con la finalidad de facilitar la remoción de la cáscara. Utilizando un cortador de verduras se obtuvieron bastones de aproxi-

madamente ½ cm de diámetro, para finalmente ser fritas a las diferentes condiciones planteadas en este experimento.

Se evaluó el efecto de la temperatura y el tiempo en el color de hojuelas de poroto (*Erythrina edulis*) utilizando un Diseño Compuesto Central Rotacional (DCCR) para dos factores, la temperatura de freido (de 140 – 200 °C) y el tiempo de freido (de 60 – 180 segundos).

El color fue medido de dos formas: (a) instrumental, mediante el SVC obteniendo sus valores L*a*b; (b) sensorial, utilizando un panel no entrenado de 112 personas y utilizando una escala hedónica estructurada de 9 puntos (1: me disgusta extremadamente; 9: me gusta extremadamente). A cada panelista se le presentó una bandeja con un poroto frito de cada tratamiento (Tabla 1). Se le pidió a cada juez ordenar cada muestra de acuerdo al grado de aceptabilidad por color. Utilizando la valoración del mismo panel, se clasificaron las hojuelas en tres grados de calidad (1: Óptimo - Color deseado; 2: Intermedio - Color aun aceptable; 3: Menor - Color no deseado) (Moya, 2011).

Estadísticamente se utilizó el software Statistica v6.0 para obtener y validar los modelos matemáticos para cada variable respuesta estudiada, utilizando un nivel de significación de 5 %. Se utilizó el ANOVA y el R² como parámetros de validación de los modelos. Validado los modelos, se contruyeron gráficas de superficie de contorno que permitieron definir las regiones de interés. Se utilizó el mismo software para encontrar las condiciones óptimas de cada variable utilizando la función de deseabilidad.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se observan los resultados de los 9 tratamientos realizados. Algunos principios importantes se pueden extraer de la interpretación de estos resultados. Por ejemplo, si mantenemos el tiempo de fritura en 77 s (tratamientos 1 y 2) y aumentamos la temperatura de 149 °C a 191 °C, la aceptabilidad general de las hojuelas fritas mejora (de 3.65 a 7.07). Este cambio de color, puede ser también interpretado instrumentamente a través de los cambios en L*, a* y b*. L (luminosidad) disminuye de 63.0 a 38.2, significando un oscurecimiento del material con el aumento de la temperatura; a* pasa de 7.4 a 24.7 indicador de un cambio de color hacia tonos de rojo más intensos y el parámetro b* no sufriendo un cambio importante (de 59.5 a 53.3). Por otro lado, si mantenemos la temperatura en 149

°C (tratamientos 1 y 3) y el tiempo pasa de 77 a 163 s, se observa que la aceptabilidad general aumenta pero en mucha menos proporción (de 3.65 a 4.10). Si la temperatura es mayor, por ejemplo 191 °C (tratamientos 2 y 4), con tiempos de 77 y 163 s se obtiene un efecto muy diferente, notándose un descenso brusco de la aceptabilidad desde 7.07 a 1.073. Para explicar este descenso podemos utilizar los parámetros colorimétricos obtenidos con el SVC. L^* disminuye de 38.2 a 21.7, uno de los valores más bajos del experimento e indicador de un producto con aspecto a quemado, situación que es reforzada por los cambios en los valores de a^* y b^* . Según Troncoso *et al.* (2009) el desarrollo de cambios en el color de productos fritos comienza cuando el alimento se ha secado una cantidad suficiente, lo que al aplicar más tiempo o más temperatura existe riesgo de un mayor cambio de color.

A 149 °C y 77 s de tiempo de fritura se obtiene el más alto valor observado en el color a nivel sensorial (8.02), equivalente a una L^* de 38.2. A 170 °C y 120 s, se obtienen los mayores valores de aceptabilidad (7.9 aproximadamente), equivalente a una L^* aproximadamente de 50. Los peores valores de preferencias de color (2.05) y aceptabilidad (1.73) con panelistas se obtienen con temperaturas de 191 °C y 163 s, equivalente a valores de L^* de 21.7 (Tabla 1).

Considerando que T es la temperatura de fritura y t el tiempo de fritura, las ecuaciones para el color, aceptabilidad y luminosidad son las siguientes:

$$\text{Color} = -128.2185 + 1.4424 * T + 0.2724 * t - 0.0037 * T^2 - 0.0018 * T * t + 9.3294E-5 * t^2$$

($R^2 = 85.96\%$, valor $p=0.018$)

$$\text{Aceptabilidad} = -208.1904 + 2.3038 * T + 0.3494 * t - 0.0062 * T^2 - 0.0016 * T * t - 0.0004 * t^2$$

($R^2 = 86.80\%$, valor $p=0.013$)

$$L^* (\text{SVC}) = -235.7755 + 3.7258 * T + 0.3514 * t - 0.0116 * T^2 - 0.0025 * T * t - 0.0002 * t^2$$

($R^2 = 89.43\%$, valor $p=0.0068$).

Los tres modelos obtenidos tienen un adecuado nivel de predicción, siendo la variable instrumental (L^*) el que tiene mejores indicadores estadísticos (R^2 y valor p) que las variables sensoriales (Color y Aceptabilidad), posiblemente debido a la discrepancia entre panelistas. Esto podría ser ventajoso para justificar el uso del SVC, en lugar de panelistas.

En la Figura 1 se muestran los gráficos de contornos de las respuestas analizadas (color, aceptabilidad y L^*) y la región de intercepción entre un parámetro sensorial (aceptabilidad con puntajes por encima de 6) y un parámetro instrumental (luminosidad con valores entre 50 y 60). Esto podría significar, que para el producto poroto frito, en el futuro, ya no sea necesario medir su aceptabilidad con panelistas, sino más bien utilizar un SVC, para que en función de un parámetro colorimétrico (L^* entre 50 y 60 por ejemplo) determinar su calidad sensorial en forma indirecta. De la Figura 1a se puede afirmar que, utilizando altas temperaturas de fritura (170 a 200 °C) se debe utilizar tiempos cortos de freído (40 a 60 s) si se desea obtener un producto frito de alta aceptabilidad en color (rojo intenso inferior). De la misma forma, si sometemos al producto a una fritura con altos tiempos (180 a 200 s) se debería freír a temperaturas entre 140 a 145 °C, para el mismo fin (rojo intenso superior). Aunque está demostrado que a mayores tiempos de fritura, el nivel de absorción de aceite es mayor. De allí que es recomendable en la fritura, utilizar altas temperaturas y cortos tiempo. En el caso de la aceptabilidad (Figura 1b), temperaturas entre 170 y 185 y tiempos entre 60 y 95 s (Figura 1d) permiten optimizar esta variable, aunque podrían haber otras posibilidades. Se escogió esta posibilidad bajo la premisa de conseguir los menores tiempos posibles. La Figura 1c, donde se representa la Luminosidad (medida instrumental), sirve como elemento de relación con las variables sensoriales (Figura 1).

En la Figura 1d se buscó una relación entre las variables sensoriales con la instrumental. Bajo la premisa de que en fritura es mejor utilizar altas temperaturas y cortos tiempos, se eligió la región marcada con un cuadrado donde se encuentran los máximos puntajes para la aceptabilidad y para el color sensorial. Esta región intercepta con valores de luminosidad entre 40 y 60. El punto centro de este cuadrado equivale a 177.5 °C de temperatura y 77.5 s de tiempo, valor utilizado para definir los óptimos del color y aceptabilidad con la Función de Deseabilidad. Según Bouchon (2002), las temperaturas de fritura están en el rango de 120 °C a 200 °C, pero las temperaturas más comunes se encuentran en el rango de 170 °C a 190 °C.

En la Figura 2 se puede observar que la Deseabilidad Global fue optimizada a 0.837, valor cercano a 1 que es lo ideal. Con ello se optimizó el color a 7.8 y la aceptabilidad a 7.7. Incorporando estos valores óptimos en el modelo matemático de la Luminosidad, resulta en un valor de 52.9. De esta forma si freímos el poroto a 177.5 °C por 77.5 s obtendremos un producto con 7.8 de aceptabilidad del color y 7.7 de aceptabilidad general. Esto equivale a tener poroto frito con 52.9 de luminosidad (Figura 2).

Estos resultados son importantes ya que con un sistema de bajo costo que nos permita medir un parámetro colorimétrico como la Luminosidad, se pueda determinar la calidad sensorial (color y aceptabilidad) en forma indirecta, sin necesidad de utilizar panelistas.

5. CONCLUSIONES

Utilizando un Sistema de Visión Computacional y la Función de Deseabilidad se logró optimizar el proceso de fritura de poroto al obtener un puntaje en color de 7.8 y aceptabilidad a 7.7, lo que equivale a 52.9 de Luminosidad, cuando se fríe a 177.5 °C por 77.5 s. Estos resultados resultan ser muy importantes para optimizar cualquier proceso, permitiendo con un sistema de bajo costo medir un parámetro colorimétrico como la Luminosidad y determinar su calidad sensorial en forma indirecta, sin necesidad de utilizar panelistas. Investigaciones futuras deberían dirigir su atención a incorporar en la optimización de procesos otras características de calidad de un producto frito, como contenido de aceite, textura, etc. utilizando la tecnología de imágenes hiperespectrales.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DERRINGER, G. 1980. Simultaneous optimization of several response variables. *J. Quality Technol.* 12: 214-219.
- MYERS, R.; Montgomery, D. 2001. *Response surface methodology*. Willey, New York.
- PULGAR-VIDAL, J. 1996. *Geografía del Perú: Las Ocho Regiones Naturales, la Regionalización Transversal, la Sabiduría Ecológica Tradicional*. (10th ed.) Peisa, Lima. 302 pp.
- PÉREZ, G. 1998. Isolation and characterization of a novel lectin from *Dioclea lehmanni* (Fabaceae) seeds. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology* 30 (7): 843-853.
- BROSNAN, T.; Sun, D. 2003. Improving quality inspection of food products by computer vision - a review. *Journal of Food Engineering* 61:3-16.
- BOUCHON, P. 2002. *Modeling oil uptake during frying*. Thesis submitted as a partial fulfillment for the degree for Doctor of Philosophy. University of Reading, School of Food Biosciences.
- GONZALEZ, M.; Ji, W.; Luo, R.; Hutchings, J.; Heredia, F. 2007. Measuring colour appearance of red wines. *Food Quality and Preference* 18: 862-871.
- MENDOZA, F.; Dejmek, P.; Aguilera, J.M. 2007. Colour and image texture analysis in classification of commercial potato chips. *Food Research International* 40:1146-1154.

- MOREIRA, R. G. 2001. Deep-Fat Frying of Foods. In: J. Irudayaraj, Food Processing Operations Modeling (pp. 115-146). New York: Marcel Dekker, Inc.
- MOYA, K. 2011. Determinación de la calidad en papas tipo french fries mediante visión computacional y estudio de sus propiedades físicas. Universidad de Chile. 99pp.
- RIMAC, S.; Lelas, V.; Rade, D.; Simundié, B. 2004. Decreasing of oil absorption in potato strips during deep-fat frying. Journal of Food Engineering 64: 237-241.
- RUSKIN, F.R. 1989. Basul. En los cultivos perdidos de los Incas . Washington, DC: National Academy Press, pp 164-171.
- SAGUY, I. S.; Dana, D. 2003. Integrated approach to deep fat frying: engineering, nutrition, health and consumer aspects. Journal of Food Engineering 56: 143-152.
- SALDAÑA, E.; Siche, R.; Castro, W.; Huamán, R.; Quevedo, R. 2014. Measurement parameter of color on yacon (*Smallanthus sonchifolius*) slices using a computer vision system. LWT - Food Science and Technology 59: 1220-1226.
- TRONCOSO, E.; Pedreschi, F.; Zúñiga, R. 2009. Comparative study of physical and sensory properties of pre-treated potato slices during vacuum and atmospheric frying. LWT-Food Science and Technology 42:187-195.

7. TABLAS Y FIGURAS

TABLA 1. Resultados de la evaluación sensorial e instrumental para hojuelas de poroto frito

Tratamiento	Temperatura (°C)	Tiempo (s)	Evaluación sensorial		SVC		
			Color	Aceptabilidad	L*	a*	b*
T1	149 ⁽⁻¹⁾	77 ⁽⁻¹⁾	5.54±1.60	3.65±1.70	63.03±4.61	7.40±2.80	59.51±5.39
T2	191 ⁽⁺¹⁾	77 ⁽⁻¹⁾	8.02±0.79	7.07±1.30	38.18±5.58	24.67±4.88	53.27±7.14
T3	149 ⁽⁻¹⁾	163 ⁽⁺¹⁾	6.10±1.19	4.10±1.34	55.59±4.22	12.17±3.64	60.30±4.14
T4	191 ⁽⁺¹⁾	163 ⁽⁺¹⁾	2.05±0.95	1.73±0.80	21.74±5.70	15.81±3.51	23.22±3.64
T5	140 ^(-1.41)	120 ⁽⁰⁾	5.32±1.95	3.23±1.83	52.11±4.27	17.74±2.06	54.67±4.05
T6	200 ^(+1.41)	120 ⁽⁰⁾	2.26±1.05	2.18±1.00	33.42±5.00	18.09±3.25	30.11±6.84
T7	170 ⁽⁰⁾	60 ^(-1.41)	7.04±1.17	6.17±1.41	59.18±8.02	7.45±5.71	58.21±10.18
T8	170 ⁽⁰⁾	180 ^(+1.41)	7.90±0.89	7.90±0.89	45.69±2.00	22.59±4.36	50.93±3.12
T9	170 ⁽⁰⁾	120 ⁽⁰⁾	7.00±1.18	7.90±0.98	51.84±1.97	20.90±6.11	62.50±3.50
T10	170 ⁽⁰⁾	120 ⁽⁰⁾	7.03±1.20	7.91±0.97	51.31±3.91	22.20±3.79	62.09±5.54
T11	170 ⁽⁰⁾	120 ⁽⁰⁾	7.00±1.18	7.90±0.97	52.72±1.75	23.67±3.23	64.92±3.23
T12	170 ⁽⁰⁾	120 ⁽⁰⁾	7.00±1.25	7.89±0.99	50.81±1.88	18.68±4.57	58.89±3.52

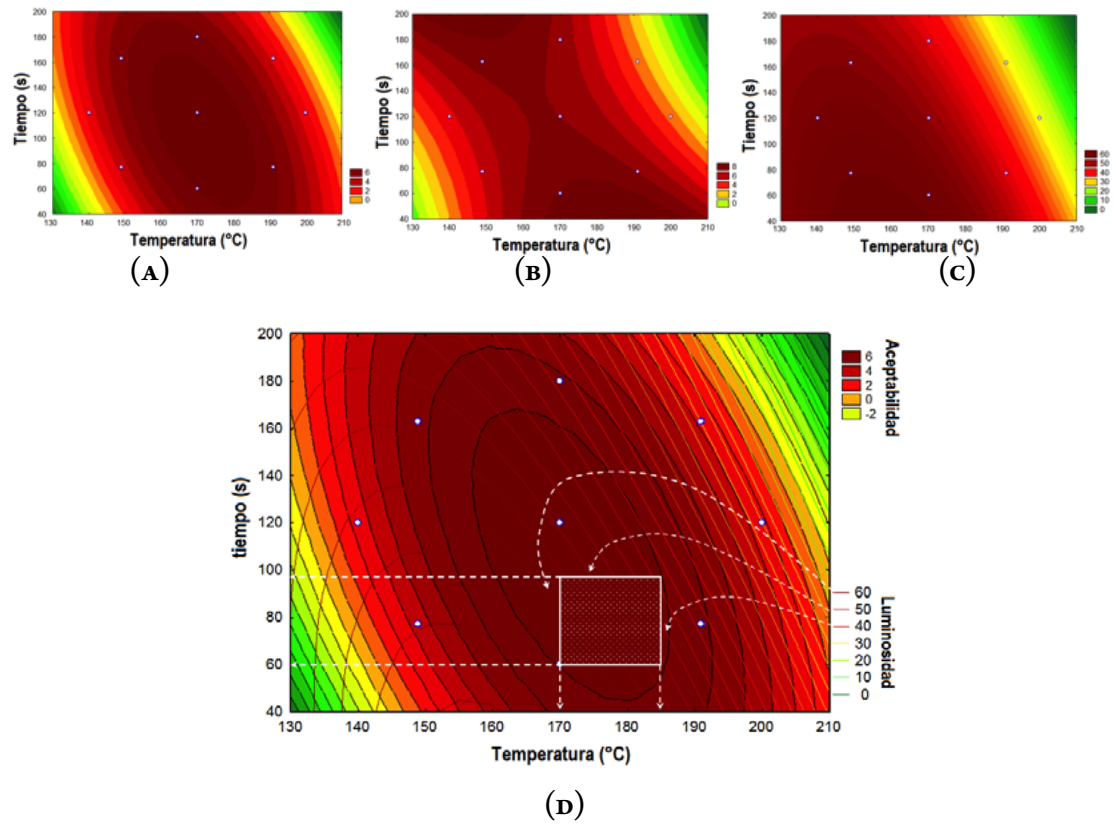


FIGURA 1. Superficies de contorno para (a) color sensorial, (b) aceptabilidad general y (c) Luminosidad. En (d) se muestra la interacción de la aceptabilidad con la Luminosidad

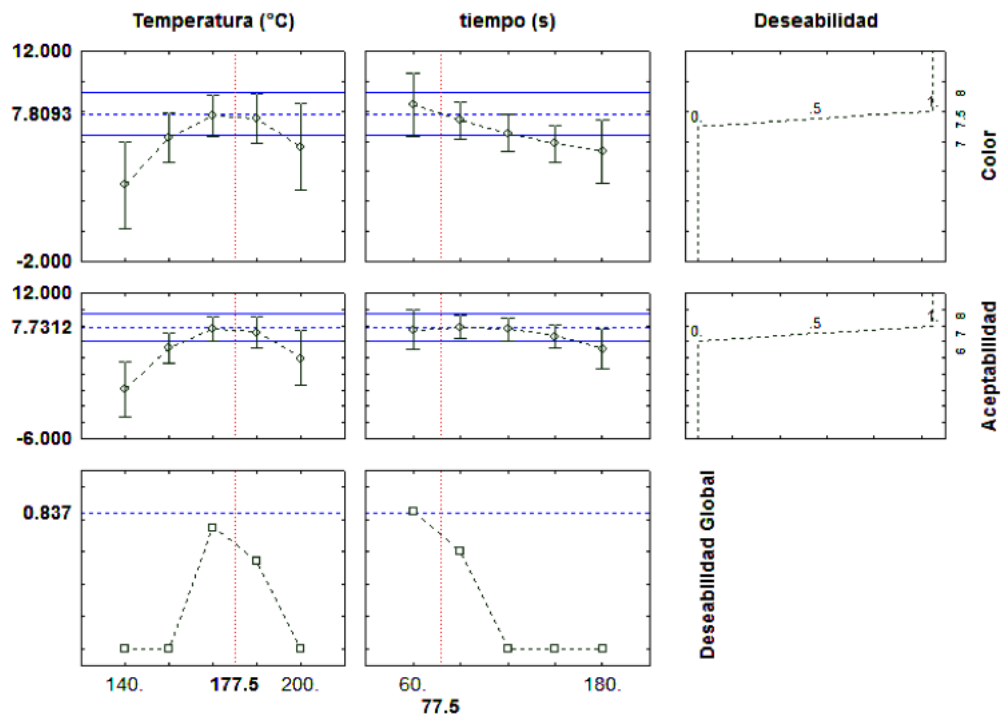


FIGURA 2. Optimización del proceso de fritura de poroto con la Función de Deseabilidad

APLICACIÓN DEL MAPEO PROYECTIVO (NAPPING®) PARA LA CARACTERIZACIÓN SENSORIAL DE ESPUMANTES DE NARANJA

Andreina Stefani¹, María Cristina Cayetano Arteaga¹, María del Carmen Schwab¹,
María Mercedes Ferreira¹, Laura Fariña², Eduardo Dellacassa², Gastón Ares²

1. RESUMEN

El mapeo proyectivo es una buena alternativa para obtener información sobre las características sensoriales de nuevos productos; combinado con el método de Pregunta Abierta nos permite encontrar diferencias y similitudes globales entre los mismos. En el presente trabajo seis espumantes de naranja clarificados con dos concentraciones de bentonita (0,20g/L y 0,50g/L) y con y sin filtrar: EB02; EB05; EF02; EF05 mas dos muestras, una con 0,20g/L de bentonita y otra filtrada ambas adicionadas de 25 g/L de azúcar: EBA02; EFA02, fueron evaluados por cincuenta consumidores (n=50) a través de un ensayo hedónico, seguido de una fase descriptiva para último ubicarlas en el espacio del Napping®. Los valores medios de la aceptabilidad estuvieron comprendidos entre 4,6 y 5,2 no existiendo diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$) entre las mismas (LSD). Del ensayo Pregunta Abierta surgieron 35 descriptores que se agruparon en 16 categorías, el ensayo MFA Napping® explicó con las dos primeras dimensiones el 52,49 % de la varianza. El mapa mostró dos grupos bien diferenciados, EF02 y EFA02, caracterizados por términos “agradable”, “fuerte”, “amarillo oro”, “burbujeante” y “madera, tabaco”, este grupo de muestras comparten la característica de ser filtrados, el segundo grupo EB02 y EB05 fue caracterizado por los términos “levadura” y “suave”. Los ensayos sensoriales mostraron que el tipo de clarificación tiene influencia en el perfil sensorial del producto final y que si bien la mayor aceptabilidad se dio en los espumantes

CONTACTO: Andreina Stefani stefania@fcal.uner.edu.ar

1. Facultad de Ciencias de la Alimentación, Universidad Nacional de Entre Ríos, Argentina.

2. Facultad de Química, Universidad de la Republica, Uruguay.

tratados con la menor concentración bentonita, las muestras filtradas fueron mejor caracterizadas por los consumidores en las dimensiones estudiadas.

2. INTRODUCCIÓN

La optimización de productos es el objetivo de todos los fabricantes de alimentos, la capacidad de una empresa para desarrollar un producto que cumpla los requisitos sensoriales de los consumidores representa una clara ventaja para el éxito y la rentabilidad de la misma (Jean A. McEwan; 1996), la evaluación sensorial en este sentido puede ser vista como un enlace entre la investigación y desarrollo, al enfocarse en los aspectos técnicos de los alimentos, el comportamiento y psicología de los consumidores y la investigación de mercado. ((Dijksterhuis, 1997); Karima A. Moussaoui, Paula Varela (2010)). En la industria del vino, la caracterización del producto es por lo general realizada por profesionales del vino y su juicio es tomado como referencia. Sin embargo, los métodos utilizados clásicamente en el análisis sensorial requieren un entrenamiento intensivo y no pueden por lo tanto ser aplicados a un panel de profesionales del vino debido a su escasa disponibilidad. Por otra parte, en el caso de la utilización del perfil convencional, la importancia de los diferentes atributos en la percepción global por parte de los jueces no es conocida. Estas razones hacen que crezca el interés en el desarrollo de nuevas metodologías de caracterización sensorial que provean de resultados certeros y confiables en corto tiempo y con menos necesidades de recursos (Valentin *et al*, 2012; Varela & Ares 2012). Un nuevo método llamado Napping® fue recientemente desarrollado (Pagès, 2005), es un método de tipo proyectivo que recoge mapas perceptuales bidimensionales por evaluador en una única sesión sensorial (Risvik *et al*. 1994). Las muestras se presentan simultáneamente y tienen que ser posicionadas por cada evaluador en un espacio de dos dimensiones de acuerdo con las diferencias y similitudes globales entre ellas, de tal manera que muestras similares deben ser ubicadas cercanas en el espacio previsto (Risvik *et al.*, 1994; Risvik *et al.*, 1997). El espumante de naranja es obtenido por segunda fermentación del “vino de naranja”, producido por biotransformación del jugo de esta fruta; entre las etapas de elaboración de vinos la clarificación es muy relevante, ya que impacta en la calidad del producto final, tanto en el aroma como en el color y la estabilidad física (Barón *et al.*, 1997; Morris y Main, 2007; Olivero *et al.*, 2011); el uso de bentonita como agente clarifi-

cante es por tanto muy común en la industria enológica, las cantidades adicionadas están en el orden de 20 a 50 g/hL (Molina-Úbeda, 1994). El objetivo del presente trabajo fue conocer la aceptabilidad y perfil sensorial de seis espumantes de naranja clarificados en diferentes condiciones, basándonos en la percepción de los consumidores, mediante la utilización del mapeo proyectivo Napping® con una fase de descriptiva y ensayo de preferencia.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Se estudiaron dos variables a dos niveles, agregado de bentonita (0,20g/L y 0,50g/L) y con y sin filtrar, obteniéndose cuatro ensayos, al mismo tiempo para evaluar el impacto del agregado de azúcar en la aceptabilidad y percepción global del producto se agregaron 25g/L de azúcar en el licor de expedición a muestras filtradas y sin filtrar con 0,20 g/L de bentonita. El diseño obtenido se muestra en la Tabla 1.

Estudio con consumidores

Cincuenta consumidores de entre 20 y 55 años, fueron convocados para la evaluación de las muestras. Las seis muestras fueron presentadas en copas de vidrio (dimensiones) con aproximadamente 50 mL cada una a una temperatura de 8 °C. El orden de presentación de las muestras a cada evaluador se hizo siguiendo un ordenamiento balanceado y único para cada participante de modo de disminuir la probabilidad de sesgo en la evaluación por parte de los panelistas. La evaluación fue llevada en el laboratorio de evaluación sensorial diseñado en concordancia con la ISO 8589 (ISO 1988), el ensayo consistió en marcar sobre una escala de nueve puntos cuanto le gusta o le disgusta el producto, luego mediante una pregunta abierta que lo describa en no más de cuatro o cinco términos y por ultimo sobre una hoja en blanco tamaño A3 (60× 40 cm) que coloquen las muestras teniendo en cuenta que la distancia entre ellas es una medida de su similitud o diferencia (Ensayo Napping®). Para determinar si existen diferencias en la aceptabilidad de los consumidores se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) y test LSD de Fisher de comparación de medias ($\alpha=0,05$). El ensayo pregunta abierta se analizó en forma cualitativa agrupando los términos en categorías afines, considerando validos aquellos cuya frecuencia de aparición fue igual o superior al 10 %. El ensayo Napping® se analizó mediante análisis multifactorial (MFA).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores medios correspondientes a la aceptabilidad global evaluada en las seis muestras y por los 50 consumidores, se situaron en un rango de 4,6 y 5,2, indicando que la aceptación de los consumidores en relación a las muestras fue cercana al punto de indiferencia. Por otra parte las muestras de mayor puntaje fueron EB02 y EBA02, el ensayo de comparación de medias no indico diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$) entre las 6 muestras evaluadas. Del ensayo Pregunta Abierta y Napping® surgen 35 descriptores de los cuales se rechazaron los que presentaron una frecuencia de aparición inferior al 10 % (Ares *et al.*, 2010) y no exhibieron similitud en ninguna categoría. Los términos con significado similar fueron agrupados en 16 categorías finales en cada una de las muestras, tal como se muestra en la Figura 1.

Con las coordenadas X e Y de cada uno de los consumidores se realizó un análisis multifactorial (MFA), las coordenadas fueron consideradas como variables activas y los descriptores de los consumidores como variables suplementarias tal como lo sugerido por Pagés (2005). Este ensayo ubica las muestras en función de los resultados del mapeo proyectivo, tal como se muestra en la Figura 2, y relaciona las dimensiones con cada uno de los atributos a los efectos de encontrar cuales fueron los responsables de las diferencias entre muestras. El ensayo factorial explica con las dos primeras dimensiones el 52,487 % de la varianza, en trabajos similares realizados por (Leanie Louw *et al.*, 2013) en brandy se logró explicar el 62,98 % de la varianza y en trabajos realizados por (Lucie Perrin *et al.*, 2008, 2013) sobre 10 vinos tintos del Valle de Loire el análisis del Napping combinado con el UFP explicó el 59,77 % de la varianza con las dos primeras dimensiones. El espacio sensorial resultante quedo construido de la siguiente manera: en la primera dimensión las muestras que más contribuyen son EB02-6 (33,31 %) y EFA02-6 (40,41 %) y en la segunda dimensión EF05 (32,55 %) y EBA02 (57,44 %), las muestras EB06-6 (62,40 %) y EF02-6 (58,37 %) quedaron mejor explicadas en las dimensiones 3 y 4 respectivamente. Al observar la posición de las muestras en el mapa vemos que hay dos grupos bien diferenciados, en el cuadrante superior derecho los espumantes EF02 y EFA02, caracterizados por términos hedónicos como “agradable” y “fuerte”, por atributos de color como “amarillo oro”, por sensaciones táctiles “burbujeante” así como también por notas aromáticas “madera, tabaco”, este grupo de muestras comparten la característica de ser filtrados, pudiendo esta operación

ser la responsable de las diferencias con los espumantes clarificados por el método tradicional que independientemente de la concentración de bentonita con la que fueron tratados quedaron caracterizados por los términos “levadura” y “suave”. De las dos muestras restantes, EF05 fue caracterizada como “amarga” “ácida” y “seca” todas sensaciones sávido gustativas y la muestra EBA02 quedo representada con el término “suave” probablemente esta característica haya sido impartida por el azúcar agradado en el licor de expedición.

5. CONCLUSIONES

El mapeo proyectivo es una poderosa herramienta para obtener información sobre las características sensoriales de nuevos productos; nos permite encontrar diferencias y similitudes globales entre las muestras, contando con la ventaja de poder utilizarse con jueces entrenados o consumidores. Los ensayos sensoriales realizados nos permiten concluir que el tipo de clarificación tiene influencia en el perfil sensorial del producto final y que si bien la mayor aceptabilidad se dio en los espumantes tratados con la menor concentración bentonita, las muestras filtradas fueron mejor caracterizadas por los consumidores en las dimensiones estudiadas.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ares Gastón A, Deliza Rosires, Barreiro Cecilia, Giménez Ana, Gámbaro Adriana (2010) Comparison of two sensory profiling techniques based on consumer perception
- Barón, R.; Mayen, M.; Merida, J.; Medina, M.; (1997). Changes in phenolic compounds and colour in pale Sherry wines subjected to fining treatments. *Z LebensmUntersForsch A*, 205: 474-478
- Dijksterhuis, G. (1997). Multivariate data analysis in sensory and consumer science. Food and Nutrition Press, Inc. p. 15. ISBN: 0-917678-41-9.
- Louw Leanie, Sublette, Naes Tormod, Lambrechts Marius, Van Rensburg Pierre, Nieuwoudt Helene (2013). Validation of two Napping_ techniques as rapid sensory screening tools for high alcohol products
- Moussaoui Karima A, Varela Paula. Exploring consumer product profiling techniques and their linkage to a quantitative descriptive analysis. *Food Quality and Preference* 21 (2010) 1088–1099

- Mc Ewan Jean A.. Preference mapping for product optimization. *Multivariate Analysis of Data in Sensory Science* Ed. by T. NES and E. Risvik o (1996) Elsevier Science B.V.
- Molina Úbeda, R. (1994). Clarificantes inorgánicos. In A. Madrid- Vicente (Ed.), *Clarificación de mostos y vinos* (pp. 77–94). Madrid: A. Madrid-Vicente, Ediciones.
- Morris J.R. y Main G.L. “Agentes Clarificantes para vino”, [en línea]. *Mundo Alimenticio*. (2007) Dirección URL: <http://www.alimentariaonline.com/media/MA018_CLARIVINO_F.pdf>. [Consulta: 08 Sept. 2013]
- Olivero, R. E.; Aguas, Y.; Cury, K. (2011). Evaluation of effect of various strains of yeast (Montrachet, K1-V1116, EC-1118, 71B-1122 y IVC-GRE) and clearer on the sensory attributes orange wine (*Citrus sinensis*). *Rev. Colomb. Biotecnol.*, Vol. XIII No. 1 163-171
- Pagès, J. (2005). Collection and analysis of perceived product inter-distances using multiple factor analysis: Application to the study of 10 white wines from the Loire Valley. *Food Quality and Preference*, 16, 642–649.
- Perrin Lucie., Symoneaux Ronan, Maître Isabelle., Asselin Christian., Jourjon Frédérique., Pagès Jérôme (2013). Comparison of three sensory methods for use with the Napping_ procedure: Case of ten wines from Loire valley
- Perrin, L., Symoneaux, R., Maître, I., Asselin, C., Jourjon, F. and Pagès, J. (2008). Comparison of three sensory methods for use with the Napping(R) procedure: Case of ten wines from Loire valley. *Food Qual. Prefer.* 19, 1–11.
- Risvik, E., McEwan, J.A., Colwill, J.S., Rogers, R. and Lyon, D.H. (1994). Projective mapping: A tool for sensory analysis and consumer research. *Food Qual. Prefer.* 5, 263–269.
- Risvik, E., McEwan, J.A. and Rodbotten, M. (1997). Evaluation of sensory profiling and projective mapping data. *Food Qual. Prefer.* 8, 63–71.
- Varela, P., & Ares, G. (2012). Sensory profiling, the blurred line between sensory and consumer science. A review of novel methods for product characterization. *Food Research International*, 48, 893–908.
- Valentin, D., Chollet, S., Lelièvre, M., & Abdi, H. (2012). Quick and dirty but still pretty good: A review of new descriptive methods in food science. *International Journal of Food Science and Technology*, 47, 1563–1578.
- Vidal Leticia., Silva Cadena Rafael, Correa Silvana, Ábalos Rosa A., Gómez Beatriz., Giménez Ana., Varela Paula and Ares Gastón. Assessment of global and individual reproducibility of projective mapping with consumers

7. TABLAS Y FIGURAS

TABLA 1. Tratamiento de clarificación aplicado a los seis espumantes estudiados

Muestra	Tratamiento de clarificación	Agregado de azúcar
EB05	0,50 g/L bentonita	s/a
EF02	filtrado + 0,20 g/L bentonita	s/a
EB02	0,20 g/L bentonita	s/a
EF05	filtrado + 0,50 g/L bentonita	s/a
EBA02	0,20 g/L bentonita	c/25 g/L
EFA02	filtrado + 0,20 g/L bentonita	c/25 g/L

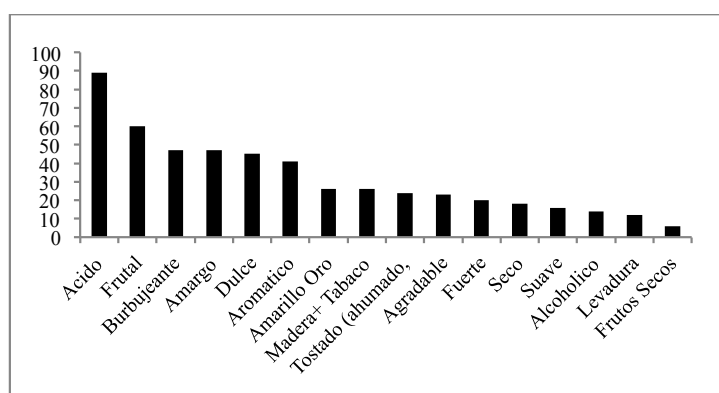


FIGURA 1. Frecuencia de términos utilizados por los consumidores para describir los espumantes antes del mapeo proyectivo

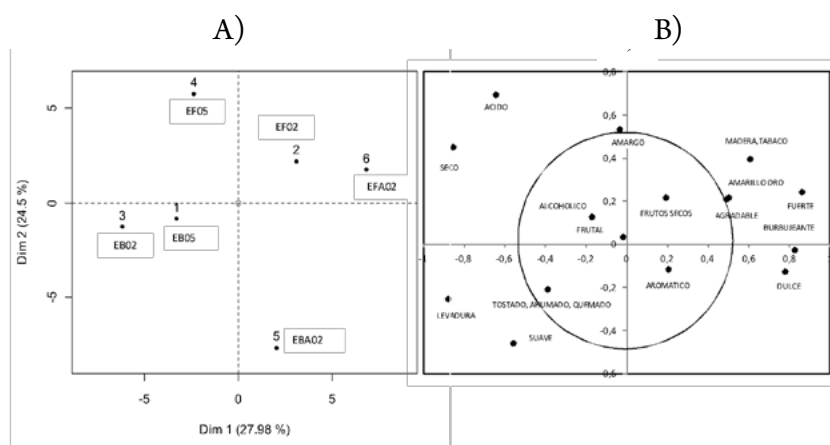


FIGURA 2. MFA del ensayo Napping® utilizando las coordenadas de los consumidores como variables principales y los descriptores como variables suplementarias

A) Mapa consenso de las muestras y B) Representación de los descriptores

CHARACTERIZATION OF FRUIT FROM THE *BUCHENAVIA TOMENTOSA* STATE OF TOCANTIS, BRAZIL

Bruno de Oliveira Garcia¹, Elisângela Elena Nunes Carvalho², Heloísa Helena de Siqueira Elias², Telma Melo Brandão², Eduardo Valério de B. Vilas Boas²

1. ABSTRACT

Several fruits of cerrado with economic potential are consumed in natura or processed by local population, among these highlight the fruits, popularly known as mirindiba are consumed fresh, as juice or sweet, and used in folk medicine against cough. However, there are few scientific studies of its chemical characteristics and their nutritional values. The aim of this study was to define chemistry and physical chemistry of mirindiba (*Buchenavia tomentosa*) characterization. The fruits were obtained in resettlement Green Valley 16 kilometers from the city of Gurupi, Tocantins, Brazil and transported to the Laboratory of Postharvest Fruit and Vegetable Department of Food Science, Federal University of Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brazil where the following analyzes were performed: pH, titratable acidity (TA), soluble solids (SS), total sugars, vitamin C and proximate composition. The fruits of mirindiba have low levels of pH, protein (1.31), fiber (0.001 %) and lipids (0.001 %). Most food has a pH range between 5.0 to 6.5. Thus, mirindiba can be classified as being a fruit acid, once medium pH found, 3.50. The soluble solids found in ripe fruits of mirindiba averaged 20.83 %, of which 15.55 % were total sugars corresponding to 74 % of the total. There was a high content of Vitamin C on average 88.22 mg.100g⁻¹, when compared to other fruits of the cerrado as murici (37.84 mg.100g⁻¹). The mirindiba shows potential for development and enrichment jellies, bulk candy and ice cream.

CONTACTO: Heloísa H. de Siqueira Elias heloisa.elias@yahoo.com.br

1. Federal University of Tocantis, UFT, TO Brazil.

2. Department of Food Sciences of Federal University of Lavras, Lavras, MG Brazil.

2. INTRODUCTION

The Cerrado, one of the last agricultural frontiers exploitable, has potential for conventional farming and a still unexplored and inexhaustible raw material with multi-purpose source. Cerrado fruits are consumed and marketed by the population, however, there are few scientific studies on the chemical composition and nutritional values, references are important for planning diets and nutrition education programs. Currently it is known that national data found in tables of chemical composition of foods are limited, which complicates the study and knowledge of fruits poorly researched, as the fruits of the cerrado. The fruits of the cerrado are unknown by most Brazilians, but should be present in a healthy diet, since the few existing typical of these species, research shows a strong presence of nutrients and antioxidants, which can help prevent serious diseases such as chronic non-communicable. According Haminiuk *et al.* 2012, there has been increased interest in functional substances, is substances that not only meet the basic nutritional and energy needs, as they add beneficial physiological effects. Given this information the present work at AIMS, physico-chemical and biochemical characterization of chemical Mirindiba (*Buchenavia tomentosa*), fruit typical of the cerrado, and little known.

3. MATERIALS AND METHODS

pH, TITRATABLE ACIDITY AND SOLUBLE SOLIDS

5 g of the fruit were weighed, homogenized with 45 ml of distilled water and the homogenate filtered organza, the filtrate is used for determination of pH, soluble solids content and acidity. The pH was determined by Schott pot Handylab second technique AOAC (1990). The titratable acidity was measured by titration with sodium hydroxide (NaOH) solution 0.1N using phenolphthalein as an indicator in accordance with the Institute Adolfo Lutz (1985). The results were expressed as percentage citric acid. The soluble solids were determined by refractometry, using a digital refractometer PR-100 ATAGO with automatic compensation to 25 °C and the results were expressed as %, according to AOAC (1990).

TOTAL SUGARS

Total soluble sugars were determined by the method of Antrona (Dische, 1962). The reading was held in Beckman 640B Spectrophotometer, using a computerized system. The results were expressed as percentage (g.100g⁻¹ pulp).

Vitamin C

Extraction with Oxalic Acid

Were weighed 5g of pulp, added 50 mL Oxalic Acid 0.5 % and a pinch of Kies-selgur. The mixture was comminuted and homogenized in a polytron mixer for 30 minutes. After it was filtered through filter paper.

Determination of Vitamin C

Vitamin C was determined according to the method described by Strohercher and Henning (1976).

Proximate composition

Determination of moisture

The moisture was determined by gravimetric technique where heat was applied in a ventilated oven at a temperature of 105 °C until constant weight is obtained, according to AOAC (1998).

Determination ether extract

The ether extract was determined by solvent extraction (diethyl ether) using a Soxhlet extractor apparatus of the type according to AOAC (1998) method.

Determination of crude protein

Was done through the nitrogen content by distillation in Microkjedahl unit (semi-micro) (AOAC, 1998), using the factor 6.25, proceeded from the calculation of crude protein content, as AOAC (1998) procedure.

Determination of crude fiber

Determination of crude fiber was made by acid hydrolysis gravimetric method, according to the method described by Von Kamer & Van Ginkel (1952).

Determination of the ash fraction

Was determined gravimetrically ash fraction was measured weight loss of the material was heat treated in an oven at 550 °C-660 °C (AOAC, 1998).

4. RESULTS AND DISCUSSION

The soluble solids content is an important quality factor for flavor (Chitarra and Chitarra, 2005). The soluble solids found in ripe fruits of mirindiba averaged 20.83 % of which of which were 15.55 % total sugars (Table 1) corresponding to 74 % of the total. This value is similar to the wild-plum (*Ximenia americana* L.), with 24.35 % (Silva *et al.*, 2008) and higher than the fruit known to taste sweet, like mango, with 11.6 % (Carvalho, 2000). The pH is the inverse of the concentration of hydrogen ions (H⁺) of a food, the higher the concentration, the lower the pH. Most food has a pH in the range of 5.0 to 6,5. Assim, mirindiba can be classified as a fruit acid, once medium pH found, pH 3.50 is close to the pineapple (3.54) which is a product classified as very acidic (Azeredo *et al.* 2004) and murici, 3.6 (Silva *et al.* 2008). The acidity of the fruit is related to the presence of organic acids. Organic acids contributes to the characteristic aroma and acidity, due to the volatility of some components. The acidity is calculated based on the main acid present in food, as yet there is no knowledge of the predominant acid of this fruit, the acidity was calculated based on citric acid, had a mean value of 1.86 (Table 1), the higher value found by Silva *et. al.* (2008) murici (0.8). The value of vitamin C obtained was 88.22 % pulp, with a high level compared with other fruits considered rich ascorbic acid, Yamashita *et al.* al. 2003 found values of $1,511 \pm 56$ % sample in raw fruits frozen acerola. Among the solutions used to extract ascorbic acid, and also stabilize it may be mentioned oxalic acid These acids are capable of preventing oxidation of ascorbic acid by the action of copper (II) ions or iron (III) (Macrae; Schweigert, 1988). Vitamin C has a beneficial effect on human health as antioxidant agent that works in the capture of free radical mechanism, related to the processes of aging and degenerative diseases (Velioglu *et al.*, 1998). According Vilas-Boas (1999), the chemical composition of a product expresses, even crudely, its nutritional value. The pulp mirindiba showed low levels of protein, fiber and lipids in their composition (Table 2) compared to fruits consumed commercially, as apple which has a 91.91 % total dietary fiber, about 8.20 % protein and 0.57 lipids.

5. CONCLUSIONS

From the data obtained in the study there is considerable values of vitamin C, as well as important data characterizing the fruit hitherto little studied. However, as this is an initial study of mirindiba, suggest the need for new studies to the knowledge of their properties.

6. REFERENCIAS

- ADOLFO, Lutz. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Métodos químicos e físicos para análise de alimentos, v. 1, 1985.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURA CHEMISTIS. Official methods of analysis of the Association of Official Agricultura Chemists. 12, ed. Washington: A. O. A. C., 1992.
- AZEREDO, H. M. C.; Brito, E. S. Tendências em Conservação de Alimentos. In: AZEREDO, H. M. C. Fundamentos de Estabilidade de Alimentos. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2004. cap. 6, p. 135-150.
- CHITARRA, M. I. F.; Chitarra, A. B. Pós colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio. 2 ed, Lavras: UFLA, 783p.2005.
- CARVALHO, A. V. Avaliação da qualidade de KiWis ev. 'Hayward', minimamenteprocessados. Lavras: UFLA, 2000. 86p. (Dissertação – Mestrado em Ciência dos Alimentos).
- DISCHE, Zacharias. Color reactions of carbohydrates. Methods in carbohydrate chemistry, v. 1, p. 475-514, 1962.
- HAMINIUK CHARLES W. I.; Maciel Giselle M.; Plata-Oviedo Manuel S. V.; *et al.* (2012) Phenolic compounds in fruits - an overview Int J Food Sc Tech 47(10)2023-2044 DOI: 10.1111/j.1365-2621.2012.03067.
- MACRAE, R.; Schweigert, B. HPLC in food analysis. Hardbound, Academic Press, 1988. 340 p.
- OLIVEIRA, Raquel Grando; Godoy, Helena Teixeira; Prado, Marcelo Alexandre. determinação de ácido ascórbico em geleias de frutas. Ciênc. Tecnol. Aliment, v. 30, n. 1, p. 244-249, 2010.
- SILVA R., D., Carrijo, K. C. R., Costa, L. L. F., Mendes, S. D. C., & Banzatto, D. A. (2000). Propriedades funcionais-digestivas e nutricionais de polpa-refinada de maçã. *Scientia Agricola*, v.57, n.3, p395-402, 2000.
- SILVA, M. R. *et al.* Caracterização química de frutos nativos do cerrado. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 38, n. 6, p. 1790-1793, nov./dez. 2008.

- STROHERCHER, R. L.; Henning, H. M. Análisis de vitaminas: métodos comprobados. Madrid: Paz Montalvo, 1967. 428 p.
- VON de Kamer, S. B. e Van Ginkel, L. Rapid determination of crude fiber in cereals. *Cereal Chemistry*, v.19, n.4, p.239-251, 1952.
- VELIOGLU, Y.S.; Mazza, G.; GAO, L.; Oomah, B.D. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.46, p.4113-4117, 1998.
- VILAS Boas, E. V. de B. Nutrição humana e saúde: alimentos e nutrientes. Lavras:UFLA/FAE-PE/DCA, 1999. 74p
- YAMASHITA, F., Benassi, M. D. T., Tonzar, A. C., Moriya, S., & Fernandes, J. G. Produtos de acerola: estudo da estabilidade de vitamina C. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.23, n.1, p92-94, 2003.

7. TABLES AND FIGURES

TABLE 1. Mean values and standard deviation (n = 6) of total sugars (%), soluble solids (%), titratable acidity (%) and pH of fruits mirindiba (*Buchenavia tomentosa*) coming from south of the Tocantins

Total sugars	15,55±3,87
Soluble Solids	20,83±0,98
Titratable Acidity	1,86±0,12
pH	3,50±0,05

TABLE 2. Proximate composition of fruits of mirindiba (*Buchenavia tomentosa*) coming from south of the Tocantins

Moisture (%)**	79,42 ± 0,86*
Crude Fiber (%)	0,001
Protein (%)	1,31 ± 0,004
Ash (%)	1,02 ± 0,22
Ether extract %	0,001

*n = 6** full field

CARACTERÍSTICAS REOLÓGICAS DE LOS QUESOS PRODUCIDOS POR TAMBEROS QUESEROS DE LA PROVINCIA DE ENTRE RÍOS

Adriana Gieco¹, Laura Gervasoni¹, Zandra Della Giustina¹, Francisco Etchevers¹, Daniel Pérez², Mónica Vallecillo¹, Josefina Cruaños¹, Guillermo López¹, Elio Guerra¹

1. RESUMEN

En las queserías entrerrianas se vende el tradicional queso de campo, que se lo denomina habitualmente sardo ó sardito; éste es producido en pequeñas fábricas, por los mismos tamberos a partir de recetas tradicionales. En el marco de un trabajo más amplio de relevamiento de la calidad de quesos producidos por los “tambos queserías” que se hallan distribuidos en una amplia zona geográfica de nuestra Provincia, nos propusimos realizar la caracterización reológica de los mismos. Para una correcta tipificación se requiere conocer la textura del queso, aunque ésta no está dada por una característica única, sino que la misma tiene componentes, ó propiedades reológicas, ó descriptores. En nuestro caso se orientó el trabajo hacia dos de estas propiedades: la Firmeza y la Friabilidad. En el primer año de trabajo, se visitaron 20 establecimientos, ó tambos queserías, tomando dos quesos de muestras por cada uno. Un queso, de cada par de estas muestras, fue analizado aproximadamente a los 10 días posteriores a la salida del salado. El resto, de cada par de muestras, fueron puestas a madurar, alcanzándose a analizar 17 de ellas, tras aproximadamente 90 días de estacionamiento. Se optó por realizar una evaluación instrumental de estos atributos. Los resultados obtenidos hasta el momento, muestran una significativa dispersión en los valores de los descriptores texturales, ó sea Firmeza y Friabilidad, de los Quesos Entrerrianos, observando además, que la Firmeza aumenta en todos los casos a lo largo de la maduración, no ocurriendo lo mismo con la Friabilidad. Todo lo cual, amerita una profundización en el estudio de los motivos de la disper-

CONTACTO: Francisco Etchevers fetchevers@yahoo.com.ar

1. Facultad de Ciencias Agropecuarias, UNER.

2. Facultad de Ciencias de Alimentación, UNER.

sión de los valores encontrados, para luego trabajar en la estandarización del método de elaboración de estos quesos, con vistas a obtener un producto que pueda ser fácilmente tipificado de acuerdo al Código Alimentario Argentino.

2. INTRODUCCIÓN

La producción de quesos en pequeños establecimientos rurales en la provincia de Entre Ríos, denominados tambos queserías, es una realidad desde hace muchos años y a pesar de ello, a la fecha son escasos los estudios-datos disponibles para conocer sus características y calidad de estos quesos. Esto ha impedido desarrollar en estos productos denominaciones propias o de origen como ocurre en diferentes regiones del mundo y en nuestro país como son, entre otros, los quesos Mar del Plata y Tafí de Tucumán.

Si bien los tambos queserías están distribuidos en varios departamentos de la provincia, ellos tienen características comunes: elaboran su propia producción de leche, se encuentran sobre caminos de difícil acceso, es un recurso económico de dinero efectivo en forma semanal, trabajan generalmente los integrantes de la familia y mayoritariamente producen quesos que denominan “Tipo Sardo”, por el tipo de molde utilizado.

El sector industrial lácteo argentino se segmenta en tres grupos, uno de ellos, el de menor rango corresponde a tambos fábrica con menos de 20.000 litros diarios de recepción, se dedican casi en forma exclusiva a la fabricación de quesos, y procesan entre el 20 y 25 % de la producción nacional. Los tambos fábrica de Entre Ríos, no se encuentran contabilizados en ésta categoría debido al escaso volumen de producción (el 66 % de los tambos queserías presentan producción inferior a 500 litros/día y el 91 % elabora queso tipo sardo, de un total de 574 establecimientos relevados). Otra característica común es que la venta de sus productos la realizan dentro un sistema comercial informal, donde el tambero tiene muy baja o nula posibilidad de negociar el precio de su producto, quedando sujeto generalmente a la suerte de un mercado de destino fijado por el acopiador. Esto se fue desarrollando desde los orígenes de la actividad lechera hasta la actualidad y ha evitado su registro en los organismos gubernamentales de control y seguimiento. Particular realidad que ha marcado en ellos la forma de trabajar desde el anonimato, la que se ha arraigado como costumbre en el productor, y probablemente es la consecuencia

del desinterés que evidencian hacia un mejoramiento de sus condiciones de crecimiento desde lo tecnológico hasta lo económico. Tambos que además, de acuerdo a los momentos de crisis que atraviesa el sector se debaten entre mantener, reducir o, hasta en algunos casos abandonar la actividad.

La elaboración de quesos no es sencilla por lo que resulta difícil pensar que solos y de forma aislada puedan hacer queso con características específicas según lo que estipula el Código Alimentario Argentino (CAA). Más aún, si se tiene en cuenta que hace falta incorporar tecnología, elementos específicos, equipos de frío, que demandan una fuerte inversión económica.

La elaboración es artesanal, a partir de leche cruda cuya fermentación se realiza con suero fermento, usando metodologías muy básicas y no estandarizadas, que fueron perfeccionando mediante la transmisión de conocimientos de boca en boca entre parientes y vecinos.

Nuestro trabajo consiste en el estudio de las características reológicas de los quesos con el fin de conocer la textura, que constituye un elemento de gran importancia al momento de su valoración sensorial para posteriormente caracterizarlos, tanto a los diez días de elaborados –momento real de venta–, como a los 90 días de maduración –tiempo exigido por CAA para la venta–.

Debido a las características de estos quesos y a poder realizar evaluaciones instrumentales de ellas para que se relacionen con descriptores sensoriales, se orientó el trabajo hacia dos de éstos: la Firmeza y la Friabilidad, entendiendo por Firmeza, la fuerza necesaria a realizar para producir un desplazamiento de las mandíbulas con el alimento entre ellas, como se ilustra en la Figura 1 y Friabilidad es la predisposición del alimento a romperse o disgregarse en trozos tras la mordida como se ilustra en la Figura 2.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Se evaluaron 20 quesos elaborados en queserías de diferentes zonas de la provincia de Entre Ríos, a los que se los visitó con el fin de informarnos de la realidad de cada establecimiento constitutivo de la población muestral, y evaluar las condiciones tecnológicas de elaboración. Se compraron 2 hormas de quesos de la misma elaboración en cada establecimiento y se les realizó una encuesta referente a las condiciones de elaboración y comercialización de su producción. Se analizó una de

las hormas de queso fresco y la otra se almacenó en cámara a 14 °C, con el fin de madurar los mismos durante 90 días. Para realizar el análisis instrumental de textura, se procedió primeramente a cortar al medio cada horma, siguiendo un meridiano imaginario. A continuación, en una de las mitades, se realizaba un corte paralelo al primero, aproximadamente a 3 cm de distancia; de esta manera se generaba una rodaja de queso de ese espesor. Luego esta rodaja (acostada) era cribada con cortes horizontales cada 1 cm y verticales cada 2 cm. De este modo se generaban los trozos que se colocaron en el texturómetro. Se analizaron los bloques que estuvieran íntegros, que no presentaron defectos morfológicos evidentes, ni fueran muy próximos a la corteza.

Se usó un equipo Texturómetro marca Stable Micro Systems TA – XT2, con el dispositivo de cuña de fractura A/WEG, que simula el trabajo realizado por los dientes incisivos en la mordida, tanto para las muestras de queso fresco como para las de queso maduro. Este procedimiento se ilustra en la Figura 3.

El instrumento registró la fuerza que va realizando la cuña a medida que penetra en el trozo de queso y la distancia desde la superficie a la que se produce la máxima fuerza, que es una medida de la Firmeza del queso. El avance máximo de la cuña es de 1 cm, luego del cual comienza su retroceso.

Los ensayos de firmeza y friabilidad se realizaron para cada caso con una repetición que va desde 30 hasta 84 veces. Estos valores se procesaron con una estadística descriptiva, obteniendo los valores promedios como se muestran en tablas 1 y 2, los que permiten visualizar el perfil reológico promedio del producto.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los quesos no friables, soportan la “mordida” sin romperse y la fuerza máxima se produce al final del recorrido de la cuña. En el caso de quesos friables, el trozo se rompió, dejando prácticamente de ofrecer resistencia al avance del “diente”, registrándose la máxima fuerza antes del final del recorrido. La distancia recorrida por la cuña antes de que el material se rompa es inversamente proporcional a su Friabilidad.

En el análisis estadístico de los datos se descartaron en ambos tratamientos las muestras de los establecimientos 2 y 5 por considerarse quesos atípicos de la población, tanto por sus características sensoriales como por sus valores de firmeza antes de ser puestos a madurar. Se puede observar, a modo de ejemplo, en la Figura 4.

De este modo se obtuvieron los resultados presentados en la Tabla 3.

Se observa en las figuras 5 y 6, lo descripto respecto a la Firmeza y a la Friabilidad de las muestras, destacando que la Firmeza aumenta en todos los casos a lo largo de la maduración, no ocurriendo lo mismo con la Friabilidad.

5. CONCLUSIONES

Hasta el momento, se observa una significativa dispersión en los valores de los descriptores texturales Firmeza y Friabilidad de los Quesos Entrerrianos, lo cual amerita una profundización en el estudio de los motivos de la misma para trabajar en la estandarización de la elaboración de estos quesos.

En las muestras de quesos frescos, a pesar de esta dispersión, la distancia recorrida por la cuña, en el 90 % de los casos analizados ha superado al 70 % de la longitud de recorrido de esta, por lo que se puede inferir que la friabilidad de estos quesos, en general, es relativamente baja.

En tanto que, solo el 47 % de las muestras en quesos maduros, ha superado el 70 % de la longitud de recorrido de la cuña; indicando un aumento de la friabilidad en un 53 % de los quesos. Es de hacer notar, para el caso de quesos maduros, que el promedio del recorrido de la cuña se encontró en 7,1 mm con una desviación estándar de 1,1. Por lo que se consideran quesos con baja friabilidad a los 90 días de maduración, respecto a los valores medios determinados por el Instituto Nacional de Tecnología Industrial, durante los concursos de Mercolactea para este tipo de quesos, los que oscilan entre 4,5 para Sardo Romano y 6,0 el Reggiano – Parmesano.

La relación de fuerza observada entre el queso fresco y maduro es del doble, lo que nos permite concluir que durante el proceso de maduración los quesos aumentan su firmeza en promedio de 333,3g a 703,4g (Tabla 3). También se puede observar de los resultados obtenidos gran variabilidad de los datos muestrales (C_V que va de 33,2 en quesos frescos a 60,9 en muestras maduras), lo que hace pensar que es producto de las diferencias de composición química o falta de estandarización de los componentes de la leche, fundamentalmente la materia grasa, de la humedad del queso, así como también de las diferentes tecnologías de procesamiento (punto de corte, temperatura de secado, modo/momento del moldeo, tiempo y fuerza del prensado).

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- <http://www.quesosargentinos.gov.ar/paginas/arg.htm> INTI - Instituto Nacional de Tecnología Industrial - Centro de Investigaciones Tecnológicas de la Industria Láctea
- DIAGNÓSTICO CUENCA LÁCTEAS de la Provincia de Entre Ríos 2010 Consejo Federal de Inversiones (CFI)
- BARBERIS, S. Y Col. "Bromatología de la Leche", Ed. Hemisferia Sur, 2002.
- CÓDIGO ALIMENTARIO ARGENTINO - Tomo II - Técnicas De Análisis. Edición 2.004. Argentina.
- FOX, P.; Cogan, T. (2000). Fundamentals of cheese science. Aspen Publishers, Inc.
- GUNASEKARAN, S.; Mehmet Ak, M. (2003). Cheese Rheology and Texture – CRC Press
- TUNICK, M.; Van Hekken, D. (2006). Chemistry and Rheology of Cheese – American Chemical Society
- FITO, P.; LeMaguer, M.; Betoret, N. y Fito, P.J. (2007). Advanced food process engineering to model real foods and processes: The "SAFES" methodology. Journal of Food Engineering, vol. 83, pp. 173-185.
- MONTERO, H. et. Al. – INTI – Lácteos – 2005 – Jornadas de Análisis Sensorial – Argentina
- INRA – 1994 – Guide D'Evaluation Sensorielle de la Texture des Fromages a pâte dure ou semidure
- DOBRAZCYK, B. ; Vincent, J. 2001. Textura de los Alimentos – Medida y percepción – Rosenthal, A. – Editorial Acribia, S.A. – Zaragoza

7. TABLAS Y FIGURAS

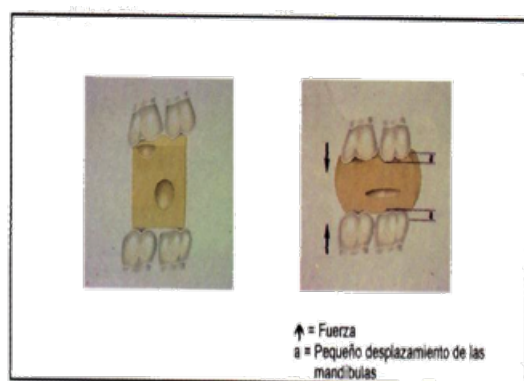


FIGURA 1. Evaluación de la Firmeza

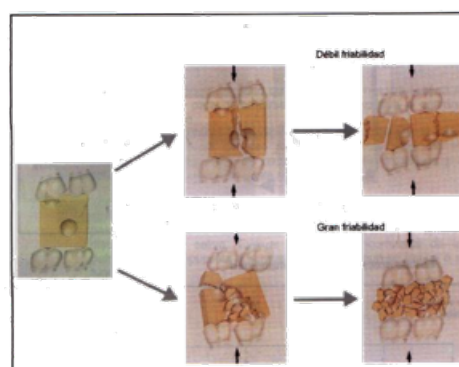
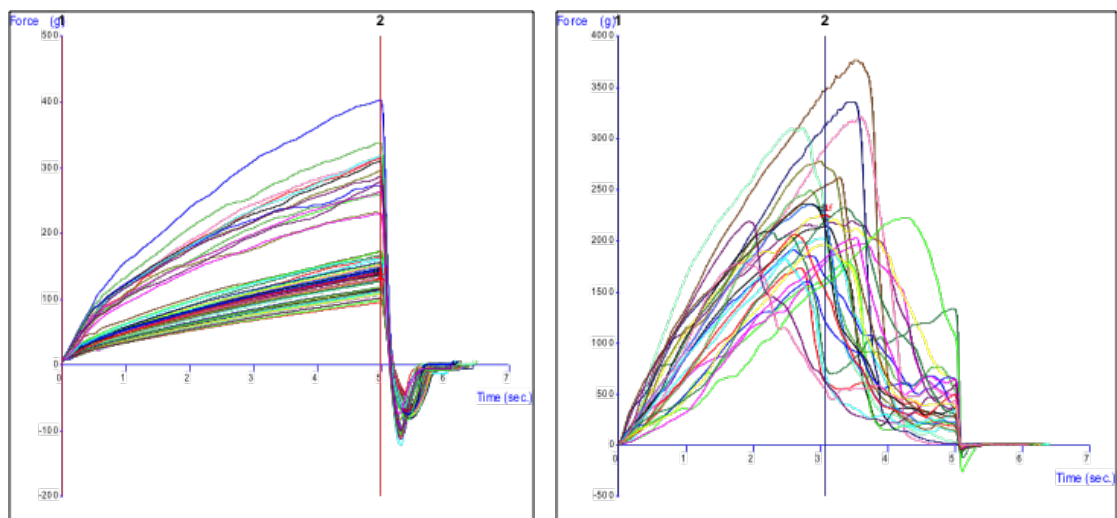


FIGURA 2. Evaluación de la Friabilidad



FIGURA 3. Ensayo instrumental de textura



A

B

FIGURA 4. Gráficas Fuerza vs. Tiempo. A: Muestra 4: normal. B: Muestra 2: descartada

TABLA 1. Firmeza y friabilidad de quesos entrerrianos a los 10 días de maduración

Muestra		Fuerza Promedio [g]	Distancia Promedio [mm]
N°	Descripción		
1	A1	225,5	9,4
2	A2	2.303,0	6,0
3	A3	489,6	8,9
4	A4	331,1	9,4
5	A5	897,2	8,0
6	A6	416,4	8,4
7	A7	506,7	7,7
8	A8	163,3	9,9
9	A9	516,6	8,8
10	A10	316,6	5,7
11	A11	361,6	9,8
12	A12	349,0	7,7
13	A13	424,4	7,5
14	A14	328,7	9,6
15	A15	238,1	8,2
16	A16	171,3	9,0
17	A17	304,6	9,9
18	A18	396,8	8,8
19	A19	241,1	8,8
20	A20	215,1	7,8

TABLA 2. Firmeza y friabilidad de quesos entrerrianos a los 90 días de maduración

Muestra		Fuerza Promedio [g]	Distancia Promedio [mm]
N°	Descripción		
1	A1p	338,9	6,8
2	A2p	2.648,4	6,3
3	A3p	1.211,9	5,8
4	A4p	610,6	7,3
5	A5p	1.690,5	6,4
6	A6p	691,2	6,5
7	A7p	1.204,3	7,2
8	A8p	441,3	6,3
9	A9p	829,1	6,5
10	A10p	602,6	9,2
11	A11p	1.860,9	7,2
12	A12p	560,5	6,6
13	A13p	561,6	5,2
14	A14p	662,8	7,4
15	A15p	315,1	8,3
16	A16p	243,2	8,1
17	A17p	416,2	8,6

TABLA 3. Firmeza y friabilidad de quesos entrerrianos

	10 días de maduración		90 días de maduración	
	Fuerza Promedio [g]	Distancia Promedio [mm]	Fuerza Promedio [g]	Distancia Promedio [mm]
PROMEDIO	333,1	8,6	703,4	7,1
STDEV	110,6	1,1	428,7	1,1
STDEV / PROM.	33,2	12,4	60,9	15,1

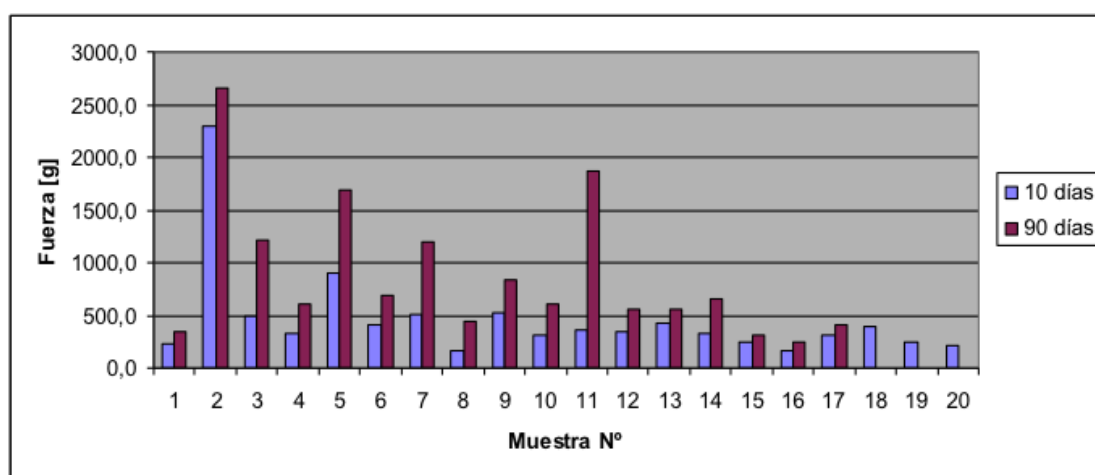


FIGURA 5. Firmeza de quesos entrerrianos

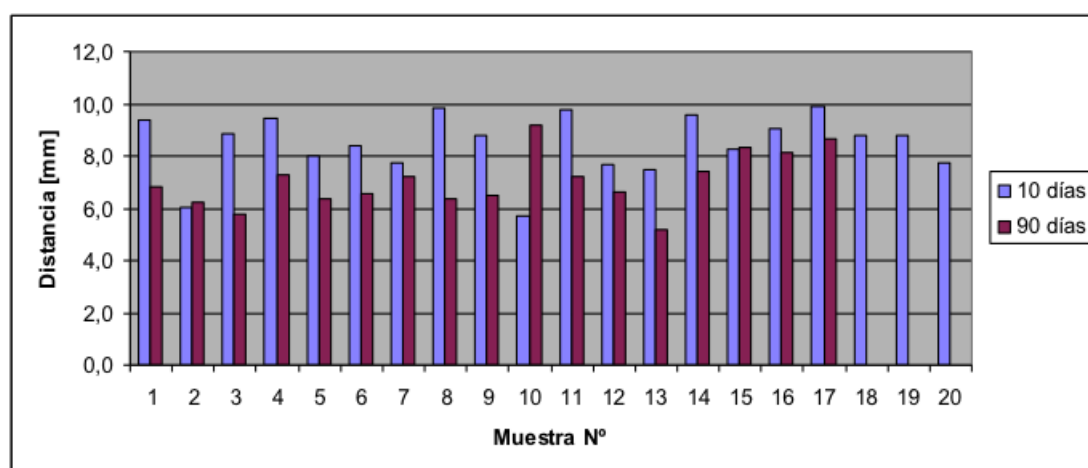


FIGURA 6. Friabilidad de quesos entrerrianos

AN APPROACH TO THE DETERMINATION AND QUANTIFICATION OF SUGARS IN FRUITS BY IMPEDANCE SPECTROSCOPY

Claudia Conesa Domínguez¹, Nicolás Laguarda Miró², Cristian Ariel Olguín Pinatti², Edwin Loeff², Lucía Seguí Gil¹, Pedro Fito Maupoey¹

1. ABSTRACT

Identification and quantification of sugars are important parameters for fruit quality control. Sugars usually present in commercial fruits are: glucose, fructose and sucrose. At present, some of the methods commonly used to determine sugars are complex, expensive and require trained staff (HPAEC-PAD, HPLC...). On the other hand, electrochemical techniques have evolved significantly in last decades. An appropriate selection of electrodes allows electrochemical techniques to identify different signals for diverse chemical compounds in an easy and fast way. Therefore, the aim of the present study is to develop Impedance Spectroscopy assays in order to check the suitability of these methods for sugar measurement. Experiments were carried out in a citric acid buffer medium where glucose, fructose and sucrose were added at controlled pH and temperature conditions. Results were statistically analyzed using PCA and PLS analysis. Results showed that Impedance Spectroscopy is a sensitive technique to identify and quantify sugars in the buffer employed. Consequently, Impedance Spectroscopy is suggested as a potential alternative for fruit quality control.

CONTACTO: Claudia Conesa Domínguez clcodo@upvnet.upv.es

1. Instituto de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo (IIAD).
Universitat Politècnica de València. Camí de Vera s/n, València,
España.

2. Centro de Reconocimiento Molecular y Desarrollo Tecnológico
(IDM). Universitat Politècnica de València. Camí de Vera s/n,
València, España.

2. INTRODUCTION

Nowadays, high-quality fruits are increasingly required by consumers. Fruit quality depends on external factors, such as the absence of injuries, color and texture, and the flavor mainly related to the fruit maturity. Moreover, fruits storage-life depends on the maturity stage at harvest (Kader, 2011). Then, identification and quantification of sugars (mainly: glucose, fructose and sucrose) become important parameters for fruit quality control.

At present, some of the methods commonly used to determine sugars are complex, destructive, expensive and require trained staff (HPAEC-PAD, HPLC...). On the other hand, electrochemical techniques have evolved significantly in last decades. An appropriate selection of electrodes allows electrochemical techniques to identify different signals for diverse chemical compounds in an easy, non-destructive and fast way.

In this sense, Impedance Spectroscopy (IS) is based on the application of an electric wave variable in frequency and module as a way of measuring the electric properties of the materials and can be correlated to physicochemical properties (Karásková *et al.*, 2012). IS has been successfully applied in a wide range of fields such as: food engineering (Toyoda *et al.*, 2007; Wu *et al.*, 2008), water (Houssin *et al.*, 2010) and natural environment (Rosborg and Pan, 2008).

Therefore, the aim of the present study is to develop Impedance Spectroscopy assays in order to check the suitability of these methods for sugar measurement.

3. MATERIALS AND METHODS

MATERIALS

Experiments were carried out in a citric acid buffer (Sigma-Aldrich, Co; purity $\geq 99.5\%$) at controlled pH, acidity and temperature conditions (pH = 5; Acidity = ; T = 25 °C). High-purity standards (Sigma-Aldrich, Co; purity $\geq 99.5\%$) of glucose (0-100 g/L), fructose (0-60 g/L) or sucrose (0-60 g/L) were added to 50 mL of buffer.

ANALYTICAL METHODS

An analytical technique based on Impedance Spectroscopy at different frequencies and module wave was applied. In order to conduct the analyses a new device named

AVISPA (Amperometry, Voltametry, Impedance Spectroscopy and Potentiometric Analyzer) was designed by the Group of Electronic Development and Printed Sensors (GED+PS) belonging to the Centro de Reconocimiento Molecular y Desarrollo Tecnológico (IDM) at the Universitat Politècnica de València (UPV).

Prior to the development of the analyses, a double needle sensor was also designed in stainless steel by the GED+PS. This sensor consists of two parallel needles, with a separation of 1 cm, 1.5 in length and 1 mm in diameter. The needles are connected to a hermetic plastic case containing the electronic connections in order to transmit information to the AVISPA device by wire.

Samples were analyzed using a pattern wave with frequencies between 100 – 1.10^6 Hz and modules between 0 – 500 mV.

All the analyses were conducted in triplicate using three homogenous samples for each studied concentration.

STATISTICAL METHODS

PCA (Principal Components Analysis) and PLS (Partial Least Squares) analysis were conducted by using SOLO© (Eigenvector Research, Inc.).

4. RESULTS AND DISCUSSION

PCA analyses were conducted to study the identification of sugars. As seen in Figure 1, component 1 and component 2 explain respectively 58.94 % and 26.44 % of the samples variability. Consequently, IS allows us to discriminate sucrose samples from the rest of analyzed sugars. However, the discrimination between glucose and sucrose should improve as it is not clear in these conditions.

On the other hand, PCA analysis were conducted to study the discrimination of samples depending on the sugar concentration. Figure 2 shows that component 1 explains 52.20 % and component 2 explains 29.43 % of the glucose samples variability. In the specific case of fructose, component 1 and 2 explain respectively 39.34 % and 37.22 % of the variability (Figure 3). Finally, component 1 and 2 explain 49.04 % and 23.70 % of the sucrose samples variability (Figure 4). Therefore, IS is an appropriate technique to discriminate sugars depending on their concentration.

Statistical models (PLS) were conducted in order to check the suitability of IS for measuring sugars in a citric acid buffer. Thus, prediction models were designed

for glucose, fructose and sucrose (figures 5, 6 and 7, respectively). Data obtained from 66 % of the analyzed samples was used to develop the statistical model PLS (calibration phase) while data from the remaining 33 % of the samples was used to validate the previously obtained models. As shown in figures 5, 6 and 7, good correlations were obtained for glucose ($R^2 = 0.994$), fructose ($R^2 = 0.988$) and sucrose ($R^2 = 0.976$).

5. CONCLUSIONS

According to the obtained results, Impedance Spectroscopy is a reliable technique to discriminate sucrose from the rest of sugars. For each sugar, this technique is also able to quantify its concentration in a buffer of acid citric. Moreover, future works will focus on the development of a robust technique to discriminate between fructose and glucose and also on real fruit samples.

6. REFERENCES

- ROSBORG, B. and Pan, J. (2008). An electrochemical impedance spectroscopy study of copper in bentonite/saline groundwater environment. *Electrochimica Acta*, Volume 53, Issue 25: 7556-7564.
- KARÁSKOVA, P.; Fuentes, A.; Fernández-Segovia, I.; Alcañiz, M.; Masot, R.; Barat, J.M. (2011). Development of a low-cost non-destructive system for measuring moisture and salt content in smoked fish products. *Procedia Food science* 1: 1195-1201.
- HOUSSIN, T.; Follet, J.; Follet, A.; Dei-Cas, E.; Senez, V. (2010). Label-free analysis of water polluting parasite by electrochemical impedance spectroscopy. *Biosensor and Bioelectronics*, Volume 25, Issue 5: 1122-1129.
- WU, L.; Ogawa, Y.; Tagawa, A. (2008). Electrical impedance spectroscopy of eggplant pulp and effects of drying and freezing-thawing treatments on its impedance characteristics. *Journal of Food Engineering*, 87: 274-280.
- TOYODA, K.; Ihara, I.; Tamaki, Y.; Ohta, M. (2007) Characterization of Bread Dough Fermentation by Electrical Impedance Spectroscopy. In: 3rd International Symposium Food and Agricultural Products: Processing and Innovations: 24-26.
- KADER, A.A. (1999). Fruit maturity, ripening and quality relationships. *Acta Horticulturae*, 485: 203-208.

7. TABLES AND FIGURES

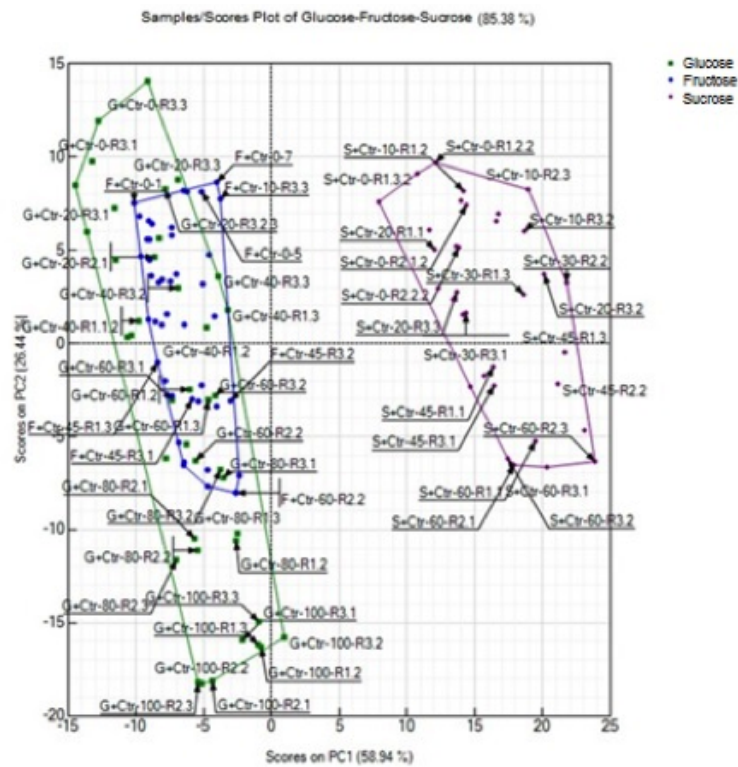


FIGURE 1. PCA to identify glucose, fructose and sucrose samples in a citric acid buffer

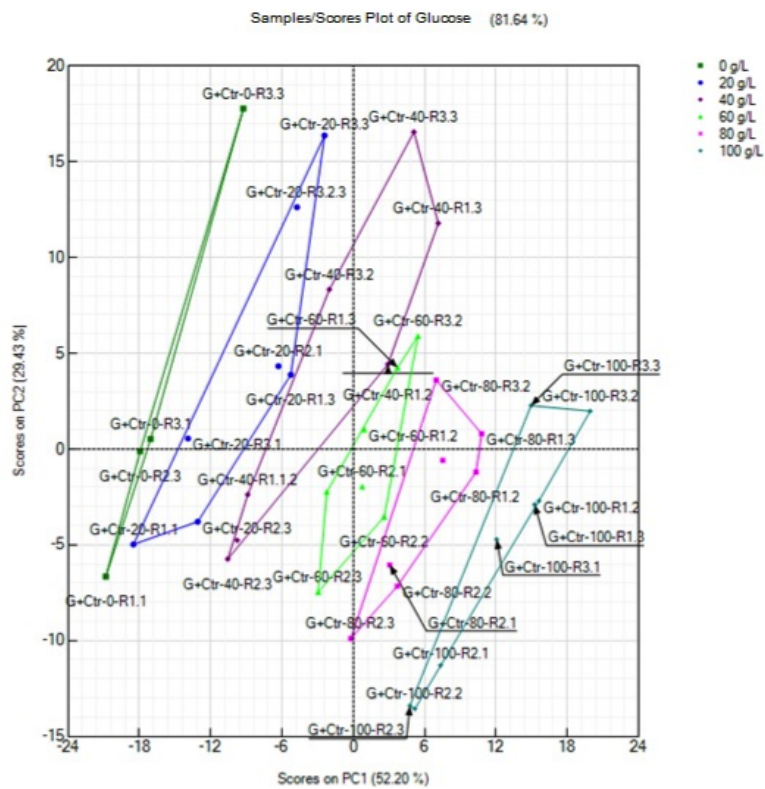


FIGURE 2. PCA of glucose samples depending on the concentration

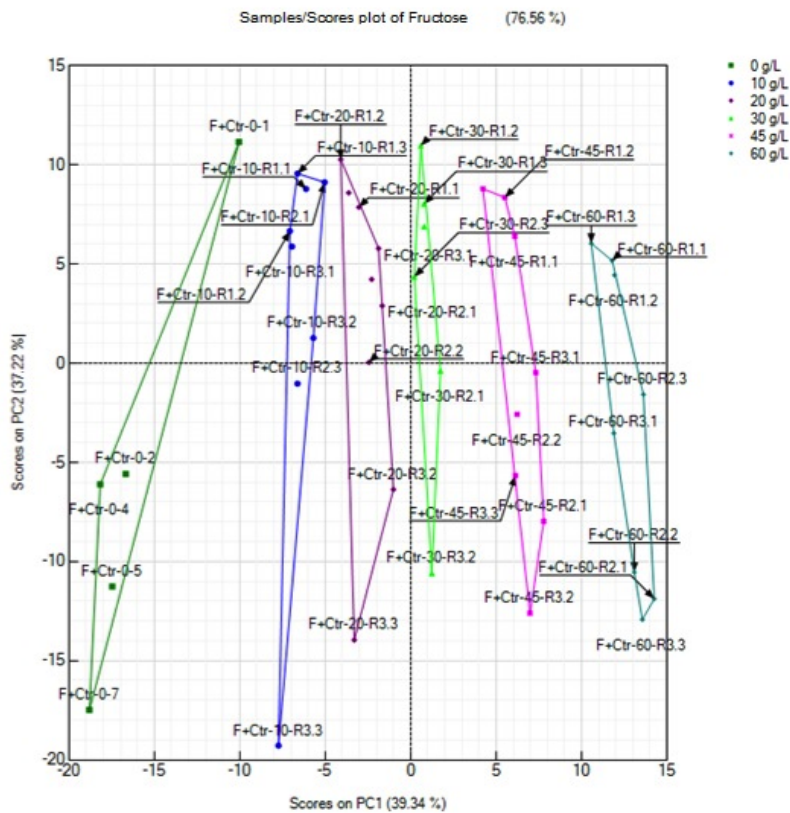


FIGURE 3. PCA of fructose samples depending on the concentration

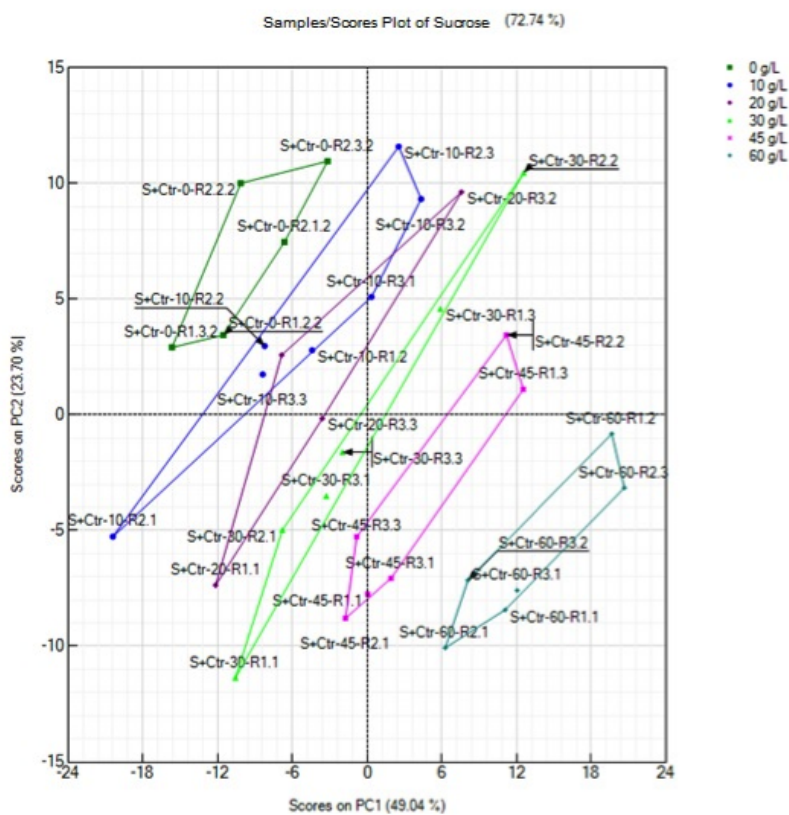


FIGURE 4. PCA of sucrose samples depending on the concentration

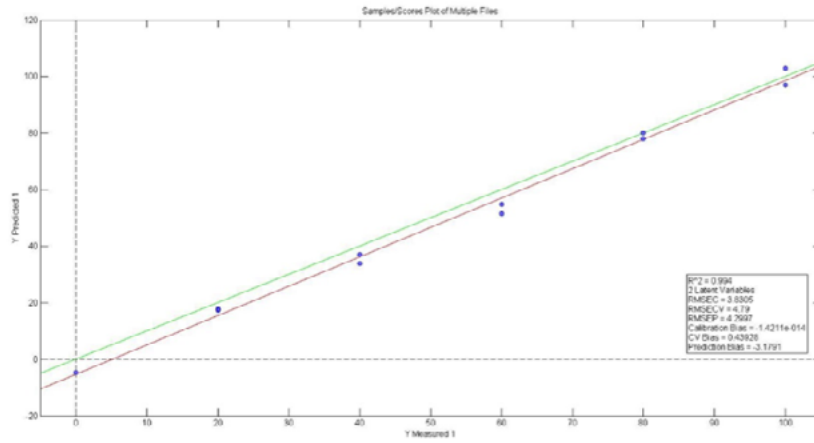


FIGURE 5. Prediction model for glucose content in citric acid buffer by using AVISPA

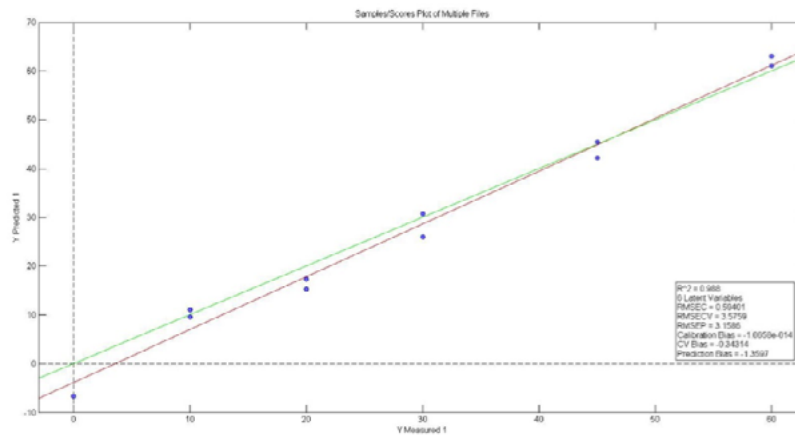


FIGURE 6. Prediction model for fructose content in citric acid buffer by using AVISPA

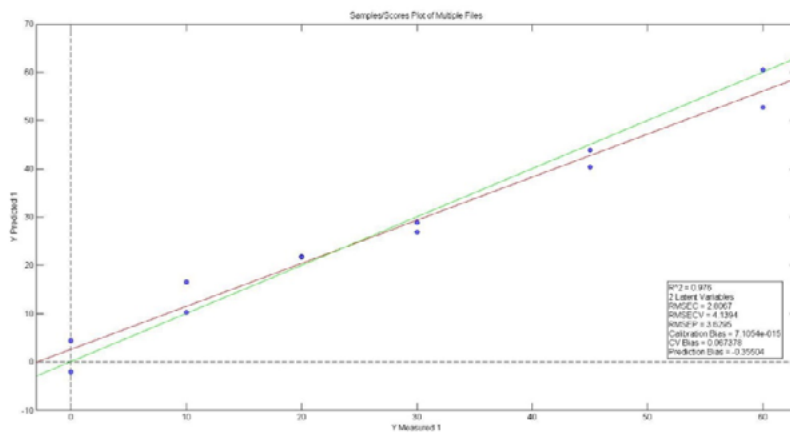


FIGURE 7. Prediction model for sucrose content in citric acid buffer by using AVISPA

Food Chain Sustainability

A decorative graphic consisting of two thick, black, wavy lines that curve from left to right across the middle of the page.

[Volver al índice](#)

APROVECHAMIENTO DE LOS DESECHOS DE LA INDUSTRIA PROCESADORA DE CRUSTÁCEOS PARA LA OBTENCIÓN DE QUITOSANO Y QUITOSANO RETICULADO

Jimena Bernadette Dima^{1,2}, Cynthia Sequeiros², Noemí Elisabet Zaritzky^{1,3}

1. RESUMEN

Quitosano (QS) y micropartículas de quitosano (MQS) se obtuvieron a partir de exoesqueletos de langostinos y cangrejos desechados por la industria pesquera de crustáceos de la ciudad de Puerto Madryn. El quitosano se caracterizó determinando el grado de desacetilación por valoración potenciométrica y por espectroscopia infrarroja (FTIR); su peso molecular (Mv) se obtuvo mediante mediciones de viscosidad intrínseca. Las micropartículas de quitosano fueron sintetizadas por gelificación iónica del quitosano con tripolifosfato (TPP) y caracterizadas: según su tamaño y distribución, por SEM y FTIR. El grado de desacetilación del quitosano fue de 90,2 % y del 86,2 %, según la materia prima utilizada; el Mv resultó del orden de 2×10^5 Da. Las micropartículas de quitosano reticuladas con TPP resultaron del orden de los 101 nm para una relación QS-TPP de 1,25 g/L-1,5 g/L.

Para ambos sistemas (QS y MQS) se estudió la eficacia de los mismos en la remoción de cromo hexavalente en soluciones acuosas, a diferentes concentraciones de cromo inicial, valores de pH y tiempos de contacto. El QS demostró ser más eficaz a pH 4 mientras que las MQS fueron más estables y eficaces a pH <3, debido al proceso de reticulación. Se determinaron asimismo las isoterms de equilibrio y las cinéticas de adsorción. La isoterma de equilibrio de Langmuir y la cinética de adsorción de pseudo segundo orden, fueron las que mejores se ajustaron a los datos experimentales.

CONTACTO: Noemí Elisabet Zaritzky zaritzkynoemi@gmail.com

1. Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA -CONICET- UNLP). Calle 47 y 116 La Plata Argentina.

2. Centro Nacional Patagónico (CONICET-CENPAT). Argentina

3. Depto de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería. Universidad Nacional de La Plata. Argentina.

2. INTRODUCCIÓN

Un proceso productivo no solamente es reconocido por la calidad de sus productos, sino también por su calidad total, desde el ingreso de la materia prima hasta la salida y tratamiento de sus desechos; la industria alimentaria se enfrenta al reto de optimizar la gestión y el tratamiento de los residuos que se generan durante el procesamiento industrial. Los desembarcos de crustáceos en Argentina representan varios miles de toneladas anuales siendo las ciudades de Puerto Madryn y Puerto Deseado, (Patagonia-Argentina) los principales puertos de desembarco (SAGyP, 2013). El porcentaje de desembarcos de crustáceos en Puerto Madryn y Rawson representó en el 2013 cerca de 45000 t/anuales. El mayor porcentaje de captura corresponde al langostino, seguido por la centolla, el camarón y los cangrejos, industrializados incipientemente por las flotas artesanales de estas ciudades. En el procesamiento de dichas especies, para el aprovechamiento del músculo comestible, se generan residuos sólidos de difícil disposición (exoesqueletos), que se acumulan en basurales constituyendo un contaminante ambiental. En la industrialización de la carne del langostino, el exoesqueleto restante de la remoción de carne y vísceras, representa un 35 % de su peso total, mientras que en el proceso de cangrejos y centollas los valores de exosqueletos alcanzan entre el 45 % y 55 % (Dima, 2013). Estos residuos tienen una composición rica en componentes de gran importancia como la quitina, de la que se obtienen derivados de gran interés como el quitosano, de variadas aplicaciones industriales. El quitosano puede prepararse líquido, en escamas, en polvo, o formando micropartículas (MQS), en función de su utilización.

En los últimos años las MQS están siendo investigadas en diferentes áreas científicas, ya sea como portadoras de fármacos, para mejorar la asimilación de los mismos (Hamamura y col., 2010), como sistema para liberación de proteínas, mostrando una excelente capacidad de atrapamiento (Grenha y col., 2005), como agente antibacteriano (Wei y col., 2009) o como adsorbente de metales dado su pequeño tamaño versus su gran superficie de contacto, que las haría presentar mayor capacidad para atrapar iones metálicos (Liu y col., 2009).

La contaminación de las aguas es uno de los aspectos más preocupantes de la degradación de los medios naturales por parte de la civilización contemporánea. Los principales agentes contaminantes son pesticidas, hidrocarburos y metales pesados (Bhatnagar y Sillanpää, 2009). Los metales pueden provenir de efluentes ur-

banos o de fuentes industriales. Para su eliminación a partir de agua residuales se han utilizado diferentes métodos; sin embargo, el proceso de adsorción a menudo se considera la técnica más adecuada, debido a sus ventajas como la variedad de materiales adsorbentes, alta eficiencia y menor costo (Hena, 2010). Es así, que se ha estudiando la bioadsorción en compuestos extraídos de organismos vivos, que son abundantes y amigables con el medio ambiente. Entre estos últimos se encuentran el quitosano, que como se mencionó, se puede extraer del residuo generado por la industria procesadora de crustáceos. El quitosano ha demostrado remover eficazmente metales como cromo, cobre, mercurio y plomo, entre otros (Hena 2010; Schumul y col 2001; Liu y col, 2009).

El objetivo del presente trabajo fue: a) optimizar el proceso de obtención de quitosano a partir de exosqueletos obtenidos de la industria de procesamiento de crustáceos (langostino y cangrejos) con el objetivo de generar valor agregado a la cadena productiva; b) caracterizar el grado de acetilación y peso molecular de los quitosanos obtenidos; c) producir micropartículas de quitosano utilizando la técnica de gelificación iónica; d) evaluar la eficacia del QS y las MQS en la adsorción de cromo hexavalente Cr (VI).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL QUITOSANO

La materia prima utilizada fue proporcionada por la empresa “Madryn Mariscos” SRL de la ciudad de Puerto Madryn. Para la extracción de quitina y quitosano se utilizaron caparazones de crustáceos: langostinos (*Pleoticus muelleri argentine*) y cangrejos (*Ovalipes trimaculatus*).

Los exoesqueletos de crustáceos, molidos y tamizados, se sometieron a un proceso de despigmentación química con una mezcla de agua y acetona. Posteriormente, se sometieron a una descalcificación con ácido clorhídrico 1,5 M. Por último, se realizó el proceso de desproteínización, utilizando hidróxido de sodio (NaOH) al 4,5 %. El producto obtenido se lavó con abundante agua destilada, se lo secó en estufa a 65 °C por 24 h y se lo denominó quitina. La quitina obtenida fue tratada con NaOH al 50 % a 120 °C. Posteriormente, fue filtrada y lavada con abundante agua destilada hasta eliminar la alcalinidad del medio. El producto se secó en estufa por 24 h y se lo denominó quitosano.

La determinación del grado de desacetilación (DD%) de los quitosanos obtenidos se realizó por valoración potenciométrica, para ello se utilizó la técnica original descrita por Broussignac (1968). Para ello se procedió a la disolución de 0,5g de QS, en 20ml de HCl, que se tituló con una solución de NaOH 0,1M. La valoración potenciométrica se llevó a cabo midiendo el cambio de pH cada 2ml de base añadida. El valor de DD% del quitosano se obtuvo a través de la ecuación propuesta por Broussignac (1968) donde:

$$DD(\%) = \left(\frac{203M_{eq}}{1 + 42M_{eq}} \right) \quad (1)$$

siendo $M_{eq} = \frac{N\Delta V}{w}$ donde ΔV es la diferencia entre los dos puntos de inflexión del gráfico pH vs volumen de NaOH, N es la molaridad de la solución de NaOH, w el peso en gramos de la muestra seca de quitosano utilizada, 203 es la masa molar de la glucosamina y 42 es la masa molar del grupo acetilo.

La caracterización del quitosano por espectroscopía infrarroja (FTIR) fue realizada en el Centro de Investigación y Desarrollo en Procesos Catalíticos, utilizando un Espectrómetro Infrarrojo por Transformada de Fourier (Bruker IFS 66). Para esta determinación, 2mg de QS se mezclaron con 100 mg de bromuro de potasio, y se comprimen en pastillas para su lectura en el FTIR. En este trabajo se usó el método de correlación propuesto por Brugnerotto y col. (2001), donde el grado de acetilación del quitosano fue calculado a partir de la integración de bandas características a 1320 cm^{-1} y 1420 cm^{-1} de acuerdo a la Ecuación 2.

$$DD(\%) = 100 - [31,92 * (A(1320\text{cm}^{-1}) / A(1420\text{cm}^{-1})) - 12,20] \quad (2)$$

donde $A(1320\text{cm}^{-1})$ y $A(1420\text{cm}^{-1})$ son las absorbancias de los picos del espectro IR.

La evaluación del peso molecular promedio viscosimétrico de los quitosanos, se llevó a cabo mediante la técnica de viscosimetría capilar descrita por Rinardo y col. (1993) utilizando un viscosímetro de Ostwald y la ecuación de Mark-Houwink-Kuhn-Sakurada (MHKS). Las viscosidades se obtuvieron de diferentes diluciones de QS en buffer ácido acético 0,3 M /acetato de sodio 0,2M, en un baño termostático a 25 C° y midiendo el tiempo de caída para la solución buffer y las diferentes soluciones de quitosano.

Se calculó el peso molecular viscosimétrico (M_v) del QS a partir de la Ecuación de MHKS (Ec. 3), que plantea la dependencia de $[\eta]$ con el peso molecular promedio:

$$[\eta] = k M_v^a \quad (3)$$

donde k y a son constantes empíricas que dependen de la naturaleza del polímero, del sistema disolvente utilizado y la temperatura.

ELABORACIÓN DE MICROPARTÍCULAS DE QUITOSANO CON TRIPOLIFOSFATO (TPP)

Debido a la toxicidad del glutaraldehído y otras moléculas orgánicas utilizadas en la síntesis de geles con uniones covalentes, se propuso la utilización de la técnica de gelificación iónica, utilizando tripolifosfato como agente reticulante. Las micropartículas de quitosano se prepararon tomando como base el procedimiento reportado por Calvo y col., (1997). Para ello se realizaron diversas pruebas con el fin de obtener el tamaño de las partículas en suspensión deseado, variando la concentración de QS y de TPP. Luego, bajo agitación magnética constante y a temperatura ambiente, se agregó gota a gota, con ayuda de una jeringa insulínica, 1 mL de solución acuosa de TPP a 3 mL de la solución quitosano. Durante la obtención de las MQS se identificaron visualmente tres sistemas diferentes: una solución clara, una suspensión opalescente y agregados. En la suspensión opalescente se observó la presencia de micropartículas. Las mismas se recolectaron por centrifugación a 10000rpm durante 20m. El tamaño de la partícula se determinó por espectroscopía de correlación de fotones utilizando un equipo Delsa™ Nano C Instrument (Beckman Coulter) y por observación en un microscopio electrónico de barrido (SEM) Philips X-L 30, del Servicio de Microscopía Electrónica de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de La Plata.

USO DE QS Y MQS EN LA REMOCIÓN DE CROMO HEXAVALENTE Cr (VI)

Se estudió la capacidad de adsorción del QS y las MQS, obtenido a partir de los caparzones de langostinos patagónicos, para eliminar el Cr (VI) de aguas residuales. Los experimentos de adsorción de Cr (VI) se realizaron bajo diferentes condiciones de: concentración inicial de Cr (VI) (50 a 400 (mg /L), tiempos de contacto (30min, 1h, 2h, 3h), y pH (2.5-6). Los experimentos de adsorción se lle-

varon a cabo utilizando 80 mg de QS y 40 mg de MQS en 50 ml de volumen de Cr (VI) a diferentes concentraciones iniciales. Todos los experimentos se llevaron a cabo en ensayos batch a 25 °C, bajo agitación constante. Las concentraciones finales de Cr (VI) se determinaron por espectrometría de absorción atómica de llama (FAAS-Instrumental Laboratorio IL457). La capacidad de adsorción de Cr(VI) en condiciones de equilibrio (Q_e) se calculó de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$Q_e = \frac{(C_i - C_{eq})}{w} V \quad (4)$$

donde Q_e (mg /g) es la cantidad de iones metálicos adsorbidos por el QS o las MQS, C_i y C_{eq} son las concentraciones de metal (mg/l) en la solución a tiempo cero y después del equilibrio, respectivamente, V (L) es el volumen de la solución y w es la masa (g) de adsorbente utilizado.

Para la descripción matemática de las relaciones de equilibrio de los iones Cr (VI) en QS y MQS se utilizaron las isotermas de Langmuir, Freundlich y Temkin. Los análisis cinéticos se determinaron usando los modelos cinéticos de pseudo primer y segundo orden y la ecuación de Elovich. Los parámetros de operación fueron: $T = 25$ °C, $pH = 4$, tiempo = 3 horas.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

RENDIMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE LOS QUITOSANOS OBTENIDOS

El rendimiento en quitina en función del peso del material triturado resultó de 15,7 %, 25,9 % para cangrejo y langostino respectivamente. El quitosano obtenido en todos los casos representó en promedio el $76,8 \% \pm 1.1 \%$ de la quitina inicial.

El grado de DD% alcanzado se determinó según la Ec. (1). Los resultados de las titulaciones para las muestras de QS de cangrejos y langostinos se muestran en las Figura 1. En todos los casos se produce una curva de titulación con dos puntos de inflexión cuyos valores se determinaron según el criterio de la primera derivada. La diferencia entre los dos puntos de inflexión en la curva de titulación corresponde a la cantidad de ácido requerido para protonar los grupos amino del quitosano. El grado de desacetilación obtenido fue de 90,2 % para langostino y de 86,2 % para cangrejo. Usualmente, para el quitosano de uso comercial, se establece que el grado de desacetilación se encuentre comprendido entre el 60 y 95 % (Rinaudo y col, 1993).

Para la determinación del peso molecular promedio viscosimétrico, se obtuvo la viscosidad intrínseca $[\eta]$, aplicando la ecuación de Huggins que relaciona la viscosidad reducida (η_{sp}/c) con la concentración (c):

$$\frac{\eta_{sp}}{c} = [\eta] + K_H [\eta]^2 c \quad (5)$$

A partir de la graficas de la Ec. (5) de Huggins se obtuvieron los valores de la viscosidad intrínseca (Figura 2). El peso molecular viscosimétrico (M_v) se determinó a partir de la Ec. (3) de MKHS utilizando los parámetros hallados por Rinaudo y col (1993); $K = 0,082$ y $a = 0,76$. M_v resultó de $2,39 \times 10^5$ Da y $3,10 \times 10^5$ Da, para quitosano de langostino y cangrejo respectivamente.

RESULTADOS DE LA OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LAS MQS RETICULADAS CON TPP

Las micropartículas se forman espontáneamente tras la incorporación de 1 ml de la solución acuosa de TPP a 3 ml de la solución ácida de QS. Un buen tamaño de partícula con una suspensión estable se encontró para una concentración final de 1-1,5 g / L de TPP y 1,25 g / L de QS; a esta concentración, el tamaño medio de las MQS fue 101 nm ($P_{10} = 88$ nm; $P_{90} = 145$ nm) con una distribución de tamaño estrecha (índice de polidispersidad <1). El tamaño de las MQS determinados por el equipo Coulter Beckman (Figura 3a) estuvo de acuerdo con el observado por microscopía SEM (Figura 3b). Siendo el diámetro medio de las partículas cerca de 100 nm, estas podrían ser consideradas como nanopartículas (Qu y col, 2013).

CARACTERIZACIÓN DEL QS Y LAS MQS POR ESPECTROSCOPÍA INFRARROJA

La Figura 4 muestra FTIR del quitosano obtenido para exosqueleto de langostino y las MQS reticuladas con TPP. Aplicando la Ec. (2) se determinó el grado de desacetilación del QS, el cual resultó del 86,9 %. Dicho resultado es congruente con el obtenido previamente por titulación potenciométrica. En la Figura 4, las intensidades de banda $-\text{CONH}_2$ a 1650cm^{-1} y $-\text{NH}_2$ a 1598cm^{-1} , que se observan claramente en el quitosano puro, no son nítidas en el IR de las micropartículas de quitosano y aparecen dos nuevas bandas características a 1635cm^{-1} y 1559cm^{-1} , que muestran que los grupos aminos fueron reticulados con las moléculas de TPP.

RESULTADOS DE LA REMOCIÓN DE Cr (VI) EN FUNCIÓN DEL TIEMPO DE CONTACTO, pH DE MEDIO Y CONCENTRACIÓN DE CROMO INICIAL

Las curvas cinéticas de adsorción de Cr (VI) (CI=100 mg/L) para QS y MQS se observan en la Figura 5. El equilibrio se alcanzó después de aprox. 1h de contacto con el QS y 2h con las MQS; a dicho tiempo el porcentajes de adsorción de Cr (VI) en referencia a las cantidad máxima de Cr (VI) adsorbido fue del 99 %.

La Figura 6 a, b muestra el efecto simultáneo de la concentración de cromo VI inicial y el pH sobre el porcentaje de eliminación de Cr (VI) para QS y MQS respectivamente. La concentración inicial posee un efecto considerable en la remoción del Cr (VI), en especial para MCH. La capacidad de remoción se redujo en un 13 % para QS (Figura 6a) y en un 41 % para MQS (Figura 6b), cuando Ci aumentó de 50 a 400 mg/l. Por otro lado, se puede observar que el pH óptimo para la adsorción de Cr (VI) fue de 4 para el QS y 3 para las MQS, debido al proceso de reticulación. Es interesante observar que, para el QS de langostino obtenido sólo 1,6 g/L de QS fue necesario para eliminar el 99 % y el 90 % de soluciones de Cr (VI) con Ci de 50 mg/L y 400 mg/L, respectivamente, mostrando una muy buena eficiencia del QS obtenido en comparación a otros autores (Schmuhl y col, 2001; Hena, 2010).

RELACIONES DE EQUILIBRIO Y ESTUDIOS CINÉTICOS

Los datos de equilibrio se analizaron utilizando las expresiones de las isoterms de Langmuir, Freundlich, y Temkin (Sag y Aktay, 2002).

La isoterma de Langmuir está dada por la ecuación:

$$\frac{C_{eq}}{Q_e} = \frac{C_{eq}}{Q_m} + \frac{1}{K_L Q_m} \quad (6)$$

donde Q_e es la cantidad adsorbida por unidad de peso de adsorbente en el equilibrio (mg/g); C_{eq} es la concentración de equilibrio del adsorbato en solución después de la adsorción (mg/L). K_L es la constante de Langmuir (g/L) relacionada con la afinidad de los sitios de unión y Q_m es la máxima capacidad de adsorción en la monocapa (mg/g).

La isoterma de Freundlich es una ecuación empírica que supone que el proceso de adsorción tiene lugar en superficies heterogéneas, y la capacidad de adsorción está relacionada con la concentración de Cr (VI) en el equilibrio. Se puede definir como:

$$\ln Q_e = \ln K_f + (1/n) \ln C_{eq} \quad (7)$$

donde K_f constante de Freundlich (mg / g) y n es el factor de heterogeneidad relacionado con la intensidad de adsorción.

La isoterma de Temkin en su forma lineal está dada por la ecuación:

$$Q_e = B_T \ln(K_T) + B_T \ln(C_{eq}) \quad (8)$$

La isoterma de Temkin asume que el calor de adsorción de todas las moléculas en la capa disminuye linealmente con la cobertura dada por las interacciones adsorbente-adsorbato. El parámetro B_T , se relaciona con el calor de adsorción y K_T es la constante de unión de equilibrio.

Los modelos y parámetros obtenidos de las ecuaciones de adsorción se muestran en la Figura 7 y la Tabla 1. El modelo de isoterma de Langmuir mostró una mejor correlación de los datos, lo que indica la naturaleza homogénea del adsorbente.

Por otro lado, se requiere de un análisis cinético para obtener una visión de la velocidad de adsorción y de la etapa limitante del mecanismo de transporte, que se utiliza principalmente en el modelado, y en el diseño del proceso. Las ecuaciones cinéticas correspondientes a pseudo-primer orden, pseudo-segundo orden y la ecuación Elovich (Sag y Aktay, 2002) se ajustaron a los datos experimentales. El modelo cinético de pseudo primer orden, integrado, está dado por:

$$\ln\left(\frac{Q_e}{Q_e - Q}\right) = k_1 t \quad (9)$$

donde Q es la cantidad de metal adsorbido en cualquier momento t (mg/g), Q_e es la cantidad de metal adsorbido en el tiempo de equilibrio (mg/g) y k_1 es la constante de velocidad (min^{-1}):

Los datos cinéticos de adsorción pueden ser analizados mediante una cinética de pseudo- segundo orden, que se representa en forma integrada por:

$$\frac{t}{Q} = \frac{1}{k_2 Q_e^2} + \frac{1}{Q_e} t \quad (10)$$

donde k_2 es la constante de velocidad de pseudo segundo orden.

La ecuación de Elovich, se cumple en los procesos de adsorción químicos y es adecuada para sistemas con superficies adsorbentes heterogéneas. Esta ecuación se utiliza en las cinéticas de adsorción que describen mecanismos en la naturaleza.

Generalmente se expresa como:

$$Q = \beta \ln(\alpha\beta) + \beta \ln t \quad (11)$$

donde Q es la cantidad de metal adsorbido en un tiempo t , α es la velocidad de adsorción inicial ($\text{mg g}^{-1} \text{h}^{-1}$), y β es la constante de Elovich.

La Figura 8 y la Tabla 2 muestran los modelos y los parámetros cinéticos de pseudo primer orden, pseudo-segundo orden y Elovich para la adsorción de cromo utilizando el QS y las MQS obtenidos. Para el QS obtenido, los estudios cinéticos indicaron una rápida eliminación de cromo de las soluciones acuosas. El análisis de la cinética de la adsorción mostró que el modelo cinético de pseudo segundo orden fue el que mejor se ajustó a los datos experimentales.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CALVO, P., Remuñan-López, C., Vila-Jato, J.L. & Alonso, M.J., 1997. Chitosan and chitosan/ethylene oxide-propylene oxide block copolymer microparticles as novel carriers for proteins and vaccines. *Pharm. Res.*, 14(10), 1431-1436.
- GRENHA, A., Seijo, B., & Remuñán-López, C., 2005. Microencapsulated chitosan nanoparticles for lung protein delivery. *Eur. J. Pharma. Sci.*, 25(4), 427-437.
- LIU, X., Hu, Q., Fang, Z., Zhang, X., & Zhang, B., 2009. Magnetic chitosan nanocomposites: a useful recyclable tool for heavy metal ion removal. *Langmuir*, 25(1), 3-8.
- QU, X., Alvarez, P.J. & Li, Q., 2013. Applications of nanotechnology in water and wastewater treatment. *Water Res*, 47(12), 3931-3946.
- RODRIGUEZ HAMAMURA, N., Valderrama Negron, A., & Alarcon Cavero, H., 2010. Preparación de partículas de quitosano reticuladas con tripolifosfato y modificadas con polietilenglicol. *Rev. Soc. Quím. Perú*, 76(4), 336-354.
- SECRETARIA NACIONAL DE AGRICULTURA GANADERÍA Y PESCA. Informes de desembarques de crustáceos 2005-2011. www.minagri.gob.ar
- WEI, D., Sun, W., Qian, W., Ye, Y., & Ma, X., 2009. The synthesis of chitosan-based silver nanoparticles and their antibacterial activity. *Carbohydrate Res.* 344(17), 2375-2382.
- DIMA, J.B. 2013. Tesis Doctoral. "Procesamiento integral de las especies patagónicas de cangrejos marinos de valor comercial *Ovalipes trimaculatus* y *Platyxanthus patagonicus*".
- BHATNAGAR, A. & Sillanpää, M., 2009. Applications of chitin-and chitosan-derivatives for the detoxification of water and wastewater-a short review. *Adv. Colloid. Interfac.* 152(1), 26-38.

BROUSSIGNAC, P., 1968. Chitosan: a natural polymer not well known by the industry. Chem. Ind. Genie. Chem. 99, 1241-1247.

BRUGNEROTTO, J., Lizardi, J., Goycoolea, F.M., Argüelles-Monal, W., Desbrieres, J. & Rinaudo, M., 2001. An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization. Polymer. 42(8), 3569-3580.

RINAUDO, M., Milas, M. & Dung, P.L., 1993. Characterization of chitosan. Influence of ionic strength and degree of acetylation on chain expansion. Int. J. Biol. Macromol. 15(5), 281-285.

SAĞ, Y. & Aktay, Y., 2002. Kinetic studies on sorption of Cr (VI) and Cu (II) ions by chitin, chitosan and Rhizopus arrhizus. Biochem. Eng. J. 12(2), 143-153

SCHMUHL, R., Krieg, H.M. & Keizer, K., 2001. Adsorption of Cu (II) and Cr (VI) ions by chitosan: Kinetics and equilibrium studies. Water Sa. 27(1), 1-8.

7. TABLAS Y FIGURAS

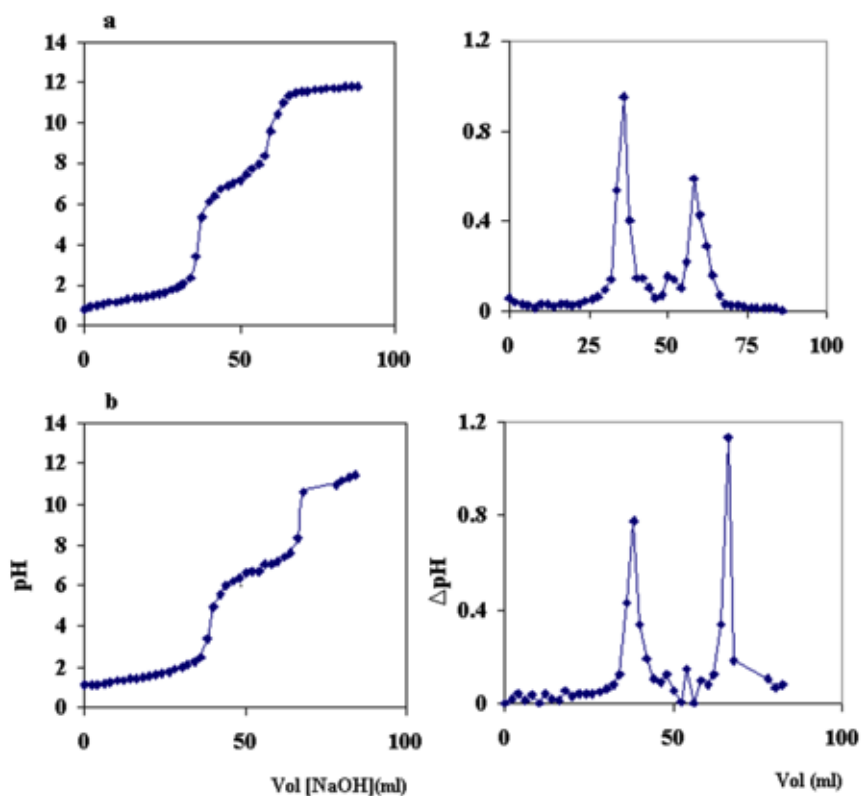


FIGURA 1. Curvas de titulación del quitosano obtenido: a) Cangrejo; b) Langostino. En las gráficas de la derecha se muestran los picos máximos que corresponden a los puntos de inflexión de la curva de titulación

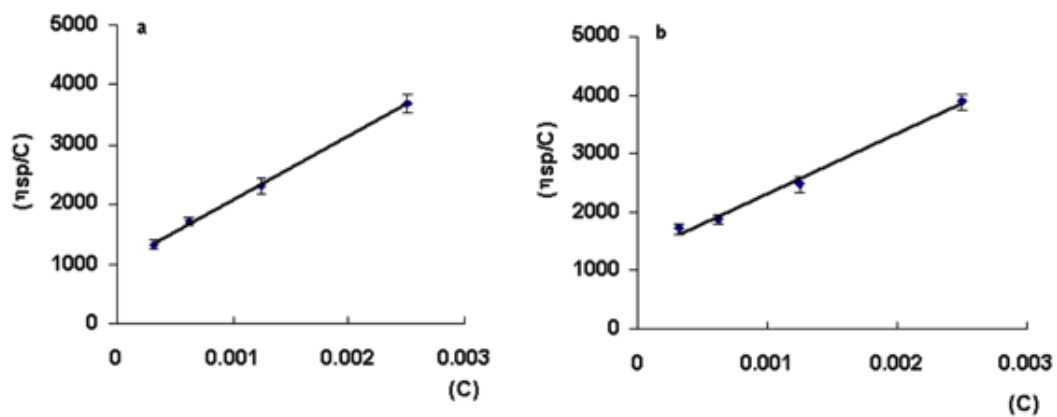


FIGURA 2. Ecuación de Huggins aplicada a soluciones de quitosano de langostino (a) y cangrejo (b) para la obtención de la viscosidad intrínseca y su aplicación en la ecuación de MKHS

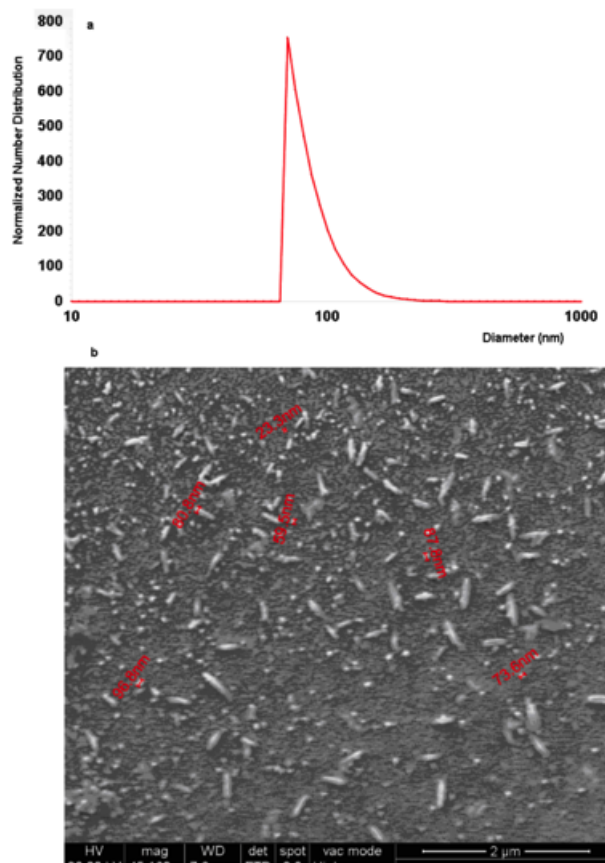


FIGURA 3. Distribución del tamaño de partícula (a) y micrografías de nanopartículas de quitosano (b) para una relación quitosano- TPP de 1,25 mg/ml:1,5mg/ml

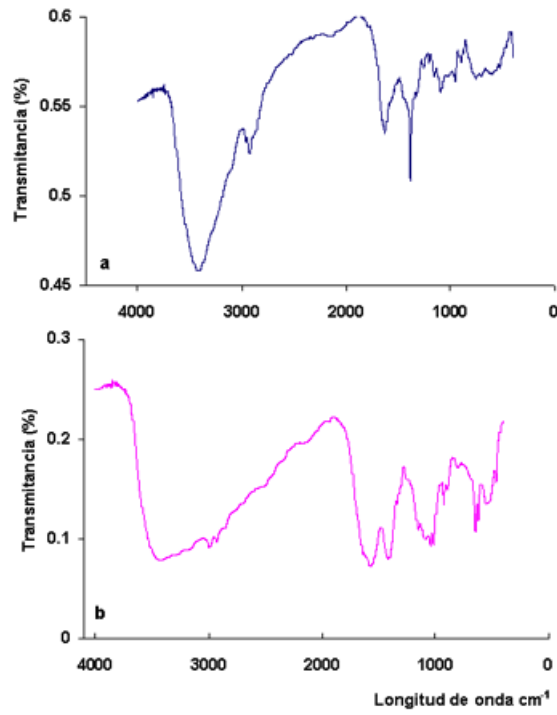


FIGURA 4. Espectros infrarrojos (FTIR) de: a- quitosano obtenido de langostinos (QS) y b- micropartículas reticuladas con TPP (MQS)

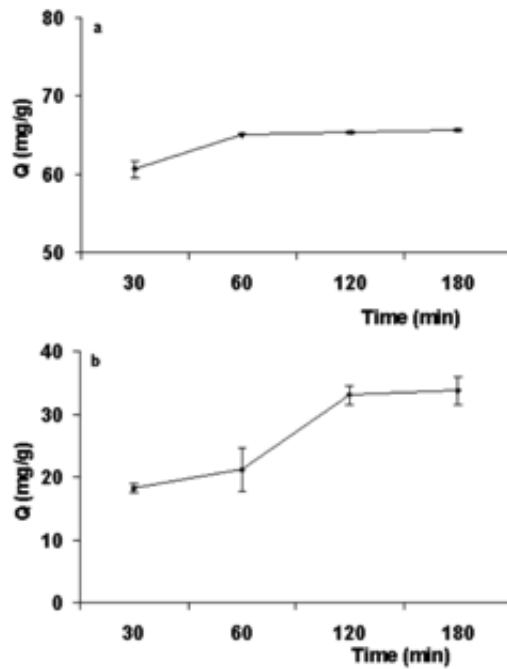


FIGURA 5. Efecto de tiempo de contacto en la remoción de cromo (VI): a) QS; b) MQS

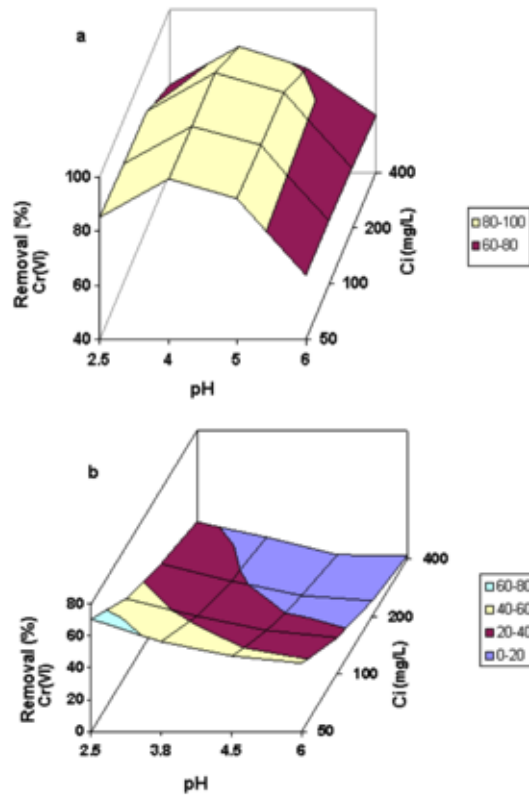


FIGURA 6. Porcentaje de Cr(VI) removido en función del pH y de la concentración inicial de cromo hexavalente inicial: a) QS; b) MQS

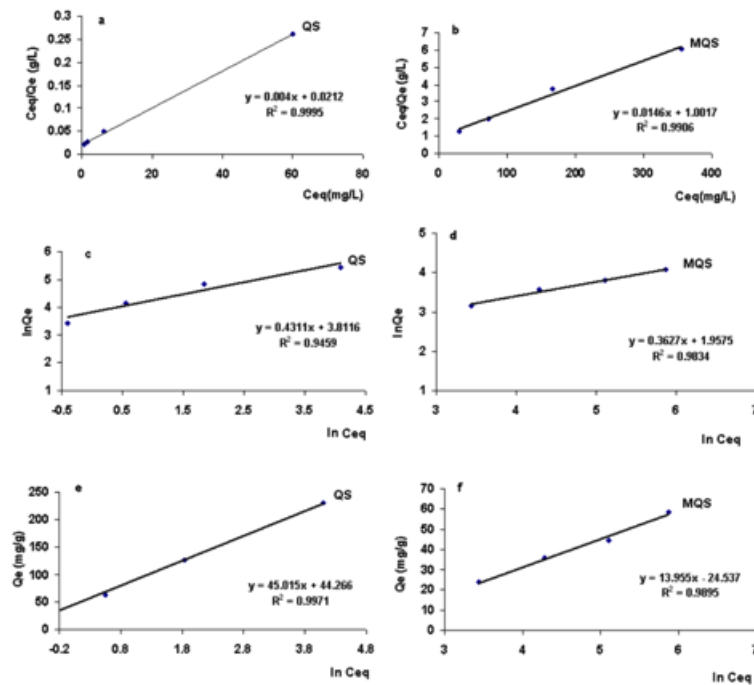


FIGURA 7. Isothermas de equilibrio: a,b) Langmuir, c,d) Freundlich, y e,f) Temkin para quitosano (QS) y micropartículas de quitosano (MQS)

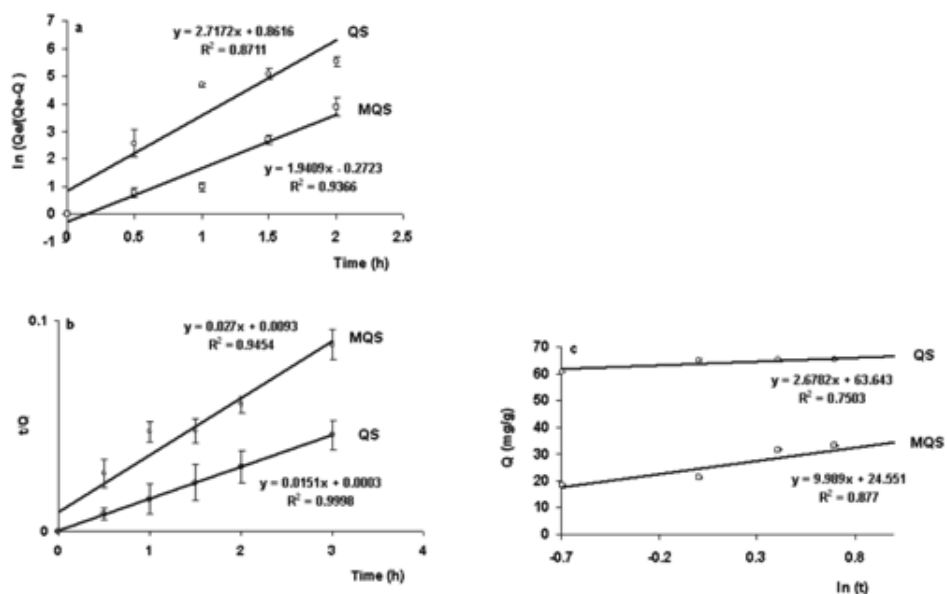


FIGURA 8. Cinéticas de equilibrio: a) Pseudo primer orden, b) Pseudo segundo orden y c) Elovich para quitosano (QS) y micropartículas de quitosano (MQS)

TABLA 1. Parámetros de las isothermas de equilibrio para Cr (VI) adsorbido en quitosano (QS) y micripartículas de quitosano (MQS)

	Langmuir			Freundlich			Temkin		
	Qm (mg/g)	K _L (l/mg)	R ²	1/n	K _f (mg/g)	R ²	B _t	K _t (l/mg)	R ²
Quitosano	250	0.018	0.99	0.43	199.52	0.94	45.01	2.76	0.99
Micropartículas de quitosano	68.9	0.014	0.99	0.36	86.12	0.98	13.95	1.76	0.98

TABLA 2. Parámetros cinéticos para Cr(VI) adsorbido en quitosano y micropartículas de quitosano

	Pseudo-primer orden		Pseudo-segundo orden		Elovich		
	k ₁ (h ⁻¹)	R ²	k ₂ (g/mgh)	R ²	b (g/mg)	a (mg/gh)	R ²
Quitosano	2.71	0.87	0.76	0.99	0.37	6.0x10 ¹⁰	0.75
Micropartículas de quitosano	1.94	0.93	0.078	0.95	0.10	116.8	0.88

LA HUELLA ECOLÓGICA EMERGÉTICA COMO HERRAMIENTA PARA VALORAR LA SOSTENIBILIDAD DE UNA CADENA ALIMENTARIA: CASO DEL ESPÁRRAGO PERUANO

Raúl Benito Siche Jara¹, Lía Ethel Velázquez Castillo¹, Feni Dalano Roosevelt Agostinho²

1. RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue adaptar el método Huella Ecológica Emergética (HEE) para su uso en la valoración de la sostenibilidad de una cadena alimentaria. El método consiste en contabilizar los flujos de consumo generados en la cadena alimentaria, convertirlos a unidades de joules de energía solar (seJ) utilizando la “transformidad” y finalmente a hectáreas globales (HE). El mismo procedimiento fue aplicado para calcular la biocapacidad (BC) del sistema a partir de los recursos renovables que intervienen en la cadena. De la diferencia entre BC y HE se tiene el saldo ecológico. Un saldo ecológico positivo se interpretará que la cadena alimentaria es sostenible. Este método fue aplicado a la cadena alimentaria del espárrago que se produce en Perú. La BC para el sistema evaluado fue de 3251.98 gha/año, mientras que la HE fue de 1404.65 gha/año, obteniéndose un saldo ecológico positivo de 1847.34 gha/año (excedente ecológico). Se concluye que el sistema evaluado es sostenible desde el punto de vista ambiental, lo que se significa que la demanda de recursos no supera la capacidad de regeneración del capital natural existente. El método propuesto tiene como fortalezas el ser simple de calcular y su resultado fácil de entender. Además, es posible visibilizar el consumo desagregado y saber los elementos que generan insostenibilidad, lo que permitiría hacer propuestas de mejora en la cadena.

CONTACTO: Raúl Benito Siche Jara rsiche@unitru.edu.pe

1. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Trujillo, Perú.

2. Laboratório de Produção e Meio Ambiente, Universidade Paulista, Sao Paulo, Brasil.

2. INTRODUCCIÓN

Almacenar el capital natural es extremadamente importante para la sociedad, ya que proporciona varios servicios ambientales para la vida humana; aunque en algunas regiones del mundo todavía no existen políticas públicas de su conservación (Siche *et al.*, 2010). Gran parte de ese capital natural está constituido por suelo, agua y diversidad genética, base fundamental que sostiene los sistemas de producción de alimentos (Gliessman, 2002). Estos recursos se han visto afectados por la creciente demanda de alimentos por parte de los países en desarrollo, como consecuencia de las grandes poblaciones que han mejorado su ingreso per cápita y que presentan cuadros de creciente urbanización y éxito en sus políticas de distribución de ingresos (IICA, 2009). Un factor que contribuye significativamente al consumo de recursos es la producción de alimentos y presenta impactos ambientales notables que deben ser evaluados (Borghetti *et al.*, 2014). Esta producción de alimentos se da esencialmente en ecosistemas agrícolas, cerca de 13 millones de hectáreas en el mundo (FAO, 2007), que tienen importantes consecuencias sobre la dinámica económica, social y ambiental (Gomiero *et al.*, 2008; Tilman *et al.*, 2011). Para Ghisellinia *et al.* (2014) el sector agrícola es fundamental para lograr en el mundo un desarrollo sustentable, la sustentabilidad presente y futura se basa en el difícil equilibrio de la producción de alimentos y el impacto ambiental.

En este sentido, para lograr la sustentabilidad de la naturaleza es necesario medir la magnitud del impacto de la producción de alimentos, siendo necesario el uso de índices que brinden una idea de cuán lejos o cerca se está de lograr la sustentabilidad (Gachet, 2002). A pesar de la importancia de la sostenibilidad, no hay una metodología común aceptada en la comunidad científica mundial para la evaluarla, en muchos métodos de evaluación, la medición de la sustentabilidad ha sufrido una evolución que va desde cualitativo a lo cuantitativo (Zhao *et al.*, 2013). Con el propósito de ofrecer información confiable sobre el uso y los límites de los ecosistemas se han desarrollado una serie de aproximaciones metodológicas como: (a) La Huella Ecológica (HE), definido como el área de territorio ecológicamente productivo necesaria para generar los recursos utilizados y asimilar los residuos producidos por una población, con un nivel de vida específico (Wackernagel y Rees, 1996). La HE es un indicador ambiental de carácter integrador que permite evaluar el impacto sobre el planeta del uso humano de los recursos y su grado de sostenibilidad. Su prin-

principal ventaja es utilizar un lenguaje fácil de comprender, ya que muestra el impacto de la sociedad en la naturaleza, como área necesaria para soportar su consumo. (b) El Análisis Emergético (Odum, 1996), basado en el hecho de que los sistemas naturales no funcionan en condiciones estables, sino más bien siguen patrones cíclicos y oscilantes. De acuerdo con la lógica de la emergía, una actividad no puede ser definida como “sostenible” haciendo sólo referencia a un valor particular que se debe reducir al mínimo con el fin de llegar a un “nivel sostenible” constante de consumo de recursos, ya que depende de los patrones oscilantes de producción de recursos por los sistemas naturales; en su lugar, se estima que una actividad es “ambientalmente sostenible”, cuando se anticipa y se adapta a los cambios en el medio ambiente circundante (Ulgiate y Brown, 1998). Este supuesto se refleja mejor en las relaciones que consideran un sistema humano en su contexto económico y ambiental (Arbault *et al.*, 2014). Su principal ventaja es la capacidad de considerar todo el trabajo hecho por la naturaleza en la producción de los recursos usados por la economía utilizando un denominador numérico común: unidad de energía solar o “emergía”.(c) Analytic Network Process (ANP)(Yakovleva *et al.*, 2010), metodología que evalúa la sostenibilidad de cadenas de suministro de alimentos, identificando indicadores de sostenibilidad en tres dimensiones (económica, social y ambiental) y las aplica diferentes fases, como: agrícola, procesamiento y abastecimiento.(d) Análisis de Ciclo de Vida (ACV) (Borghi *et al.*, 2014) método estandarizado que fue adaptado para estudiar la sostenibilidad de la cadena de suministro de tomate.

La huella ecológica (Wackernagel y Rees, 1996) y el Análisis Emergético (Odum, 1996) son metodologías que utilizan diferentes enfoques pero tienen como objetivo resolver el mismo problema: “estimar la diferencia entre los servicios naturales y la demanda de la humanidad”, lo que nos permite plantear un nuevo método utilizando las ventajas de cada uno de ellos y utilizarlo para evaluar la sostenibilidad de una cadena de suministros. Esta estrategia ha sido propuesta originalmente por Zhao *et al.* (2005) para evaluar la sostenibilidad de países, denominándolo Huella Ecológica Emergética (HEE), luego fue modificado por Siche *et al.* (2010) para el mismo fin; pero este enfoque todavía no ha sido adaptado para determinar la sustentabilidad de una cadena de suministros.

Por otro lado, el Perú llegó a ser el segundo productor más grande de espárragos en el mundo después de China (USDA, 2010), representando el 21.8 % de las exportaciones peruanas y el 1.5 % del empleo anual, generando 2.5 millones de

jornales en el Perú (MINAG, 2013); sin embargo, se ha discutido muy poco sobre la sustentabilidad de los procesos involucrados con este producto.

Así, el presente estudio tiene como objetivo adaptar el método denominado Huella Ecológica Emergética (HEE) para valorar la sostenibilidad de una cadena alimentaria y aplicarla al espárrago peruano.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

La presente propuesta se basa en las modificaciones realizadas a la Huella Ecológica Emergética (EEF) por Siche (2007), y adaptadas de acuerdo al siguiente procedimiento:

(a) Diseñar el sistema a evaluar utilizando un diagrama en lenguaje emergético (Odum, 1996);

(b) Contabilizar la biocapacidad (BC) de la cadena alimentaria, a partir de los recursos renovables disponibles en el área de estudio (biomasa, radiación solar, viento y lluvia) y convertirlos a joules de energía solar (seJ) utilizando la “transformidad”;

(c) contabilizar todos los flujos de consumo (HE) de la cadena alimentaria (insumos, materias primas, servicios, etc.), dividido en tres actividades: agrícola, procesamiento y abastecimiento, y convertirlos a seJ utilizando la “transformidad”;

(d) convertir todos los flujos, BC y HE, a área global (gha) utilizando la densidad emergética global ($3.10E+14$ seJ/gha; Zhao *et al.*, 2005).

(e) calcular el saldo ecológico por comparación entre BC y HE.

Este método fue aplicado para el sistema de producción de espárrago blanco en conserva, tomando como muestra los datos de la empresa agroindustrial Tal S.A. (Salaverry, Trujillo, Perú). Tal S.A. posee un área total de 2170 km² y produce 16.84t de espárrago blanco en conserva por día. Sus productos son comercializados en mercados nacionales e internacionales (España, Italia, Francia y Estados Unidos). El año de referencia para los cálculos fue el 2013.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Figura 1 muestra el diagrama sistémico resumido de la cadena de suministros del espárrago blanco en conserva, donde se incorporan los recursos renovables naturales externos que alimentan el sistema: sol, viento y lluvia; así como a los recursos

externos de la economía: materiales, servicios y mano de obra. El diagrama con todos sus componentes muestra como la energía y los materiales interactúan para formar un único sistema (Odum, 1996). Claramente se observan las relaciones que existen entre las actividades principales de la cadena (agricultura, procesamiento y abastecimiento) y los servicios de la naturaleza y la economía. Además se visualiza dos elementos que son sinónimo de desgaste, la pérdida de suelo en actividades agrícolas y la depreciación de activos fijos de las actividades de procesamiento y abastecimiento (Figura 1).

En la Tabla 1 se observan los flujos en unidades emergéticas y en hectáreas globales del sistema evaluado. De los flujos que forman parte de la BC se aprecia que el flujo con mayor área global es la biomasa, que para evitar doble contabilidad se considera como equivalente a la BC. La BC obtenida indica que la productividad biológica del área evaluada es de 3351.98 gha/año.

De los flujos de consumo (HE) del sistema, la categoría más importante es el consumo de materiales en fábrica (hipoclorito de sodio, cloruro de sodio, ácido cítrico, envases, tapas y etiquetas) (557.05 gha/año), que corresponde al 39.7 % de la huella total; la segunda en importancia es la pérdida de suelo del subsistema agrícola (264.88 gha/año) con 18.9 % de la huella total, seguido de los servicios utilizados en la etapa de procesamiento (electricidad, teléfono, agua, combustible y mano de obra) (200.77 gha/año) con 14.3 % de la huella total (Tabla 1).

Si el análisis se realiza en función de subsistemas (Figura 2), podemos notar que el subsistema procesamiento es el que mayor huella genera (854.9 gha/año), seguido del subsistema agrícola (495.9 gha/año). De la comparación entre BC y HE, se afirma que existe un saldo ecológico positivo de 1847.34 gha/año (superávit), lo que indica que la demanda de recursos no supera la capacidad de regeneración del capital natural existente (Monfreda *et al.*, 2004). Estos indicadores darían lugar a afirmar que bajo las condiciones actuales, la cadena de suministro del espárrago peruano es sostenible; situación que podría mejorar si es que se logra reducir la huella de las etapas de procesamiento y agrícola (Figura 2).

Chidiak y Murmis (2003) indican que las industrias alimenticias tienen en general un bajo impacto ambiental en comparación con las manufacturas de origen industrial y otras de origen agropecuario (curtiembres), dado que sus emisiones presentan fundamentalmente el problema de efluentes líquidos con alta carga orgánica (relativamente fácil y económicamente tratables). Betancourt *et al.* (2004)

basados en su estudio prospectivo sobre la cadena productiva del espárrago verde fresco, afirman que la cadena no genera importantes impactos negativos en el medio ambiente; pero sugieren que la identificación de impactos negativos se debe centrar principalmente en la cosecha. Quijano (2009) realizó la evaluación del impacto ambiental en una empacadora de frutas y legumbres a través del método de Matrices de Interacción, evaluando los impactos potenciales identificados en el componente suelo, componente agua (superficial y subterránea), componente aire, componente flora y fauna y componente socio-económico; concluye que este tipo de proyectos no genera comúnmente impactos que por su naturaleza y extensión puedan ocasionar desequilibrios ecológicos por sí solos, por lo que controlarlos a través de buenas prácticas voluntarias y especificaciones permiten su regularización de forma ágil. Resultados similares obtuvo Carro (2009), quien llevó a cabo el análisis del impacto ambiental de una planta procesadora de mango utilizando una metodología de matrices medio/acciones simple; una matriz para los impactos propios a la implantación de la construcción y otro para el funcionamiento del establecimiento. Concluyó que el proyecto, debido a su relativa facilidad de construcción, funcionamiento de los equipos y manejo, no presenta muchos problemas desde el punto de vista medioambiental, y con las medidas protectoras y correctoras adecuadas no presenta gran problema respecto a molestias a la población. Recientemente Masset *et al.* (2014) realizaron la identificación de alimentos sustentables en base a tres indicadores del impacto ambiental, concluyendo que los alimentos con almidón, legumbres, frutas y verduras tienen bajo impacto sobre el medio ambiente.

Así, vemos que la metodología propuesta permite cuantificar el impacto de una cadena de suministros con dos ventajas importantes: (a) proporciona un valor físico consistente para evaluar los recursos, el ambiente y la capacidad de amortiguación, ventaja derivada del método Análisis Emergético; (b) es comprensible para el público (hectárea global), ventaja que se deriva del método Huella Ecológica. Además hace posible determinar la sostenibilidad de la cadena en función del saldo ecológico.

Sin embargo, la metodología desarrollada proporciona una estimación aproximada de la sostenibilidad o insostenibilidad de una cadena de suministros, que podría ser mejorada incorporando nuevos elementos de evaluación, como el transporte internacional. De todos modos, la propuesta hecha aquí puede ser útil para

la toma de decisiones en el camino de hacer más sostenible los procesos agrícolas, transformación y comercialización.

5. CONCLUSIONES

La demanda de recursos (huella) de la cadena de suministros en la producción de espárrago en conserva en el Perú no supera la capacidad de regeneración del capital natural (biocapacidad), siendo posible afirmar que bajo las condiciones actuales la cadena es sostenible (excedente ecológico de 1847.34 gha/año). Así, el método propuesto resultó ser eficiente en la evaluación de la sostenibilidad de una cadena alimentaria o de suministros, siendo posible visualizar los subsistemas o etapas que tienen mayor impacto ecológico o efecto en la insostenibilidad, lo que es útil para la toma de decisiones para realizar un mejor control y manejo de los recursos que intervienen en estas etapas.

La Huella Ecológica Emergética tiene ventaja sobre los otros indicadores ya que traduce datos brutos en una unidad comprensible para el común de la gente (hectáreas).

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARBAULTA, D.; Rugania, B.; Tiruta-Barnab, L.; Benetto, E. 2014. A semantic study of the Emergy Sustainability Index in the hybrid lifecycle-emergy framework. *Ecological Indicators* 43: 252–261.
- BORCHI, A. del.; Gallo, M.; Strazza, C.; Borghi, M. del. 2014. An evaluation of environmental sustainability in the food industry through Life Cycle Assessment: the case study of tomato products supply chain. *Journal of Cleaner Production*. 78(1): 121–130.
- BETANCOURT, A.; Betancurt, V.; Salazar, R.; Cuellar, O. 2004. Diseño de la cadena productiva sostenible del espárrago verde fresco, como alternativa de diversificación de la zona cafetera de las subregiones Centro Sur y Bajo Occidente del departamento de Caldas. Universidad Nacional de Colombia.
- CARRO, R. 2009. Estudio del Impacto Ambiental y Social: Caso de una Planta Procesadora de Mango. Disponible en: <http://nulan.mdp.edu.ar/827/1/00507.pdf>
- CHIDIAK, M.; Murmis, M. 2003. Gestión Ambiental en la Agroindustria. Comisión Económica para América Latina y el Caribe (CEPAL). Argentina. Buenos Aires.

- FAO, 2007. The State of Food and Agriculture 2007; Paying Farmers for Environmental Services. Disponible en: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/010/a1200e/a1200e00.pdf>
- GACHET, I. 2002. La huella ecológica: teoría, método y tres aplicaciones al análisis económico. Editorial Abya Yala.
- GLIESSMAN, S. 2002. Agroecología: procesos ecológicos en agricultura sostenible. Editorial LI-TOCAT, Turrialba, Costa Rica. 358 págs.
- GHISELLINI, P.; Zucaro, A; Viglia, S; Ulgiati, S. 2014. Monitoring and evaluating the sustainability of Italian agricultural system. An emergy decomposition analysis. *Ecological Modelling* 271 (2014) 132–148.
- GOMIERO, T., Paoletti, M.G., Pimentel, D., 2008. Energy and environmental issues in organic and conventional agriculture. *Critical Review in Plant Sciences* 27, 239–254.
- INSTITUTO INTERAMERICANO DE COOPERACIÓN PARA LA AGRICULTURA (IICA). 2009. Agricultura de América Latina y el Caribe: Bastión ante la crisis mundial y motor de desarrollo. Imprenta IICA, San José, Costa Rica. 28 págs.
- MASSET, G.; Soler, L.G.; Vieux, F.; Darmon, N. 2014. Identifying Sustainable Foods: The Relationship between Environmental Impact, Nutritional Quality, and Prices of Foods Representative of the French Diet. *J Acad Nutr Diet.* 114(6): 862-869.
- MINISTERIO DE AGRICULTURA Y RIEGO (MINAG). 2013. Espárragos: Generalidades del Producto. Disponible en: <http://www.minag.gob.pe/portal/sector-agrario/agricola/cultivos-de-importancia-nacional/esp%C3%A1rragos/generalidades-del-producto17>
- MONFREDA, C.; Wackernagel, M.; Deumling, D. 2004. Establishing national natural capital accounts based on detailed ecological footprint and biological capacity accounts. *Land Use Policy* 21: 231 – 246.
- ODUM, H. 1996. Environmental accounting: Emergy and decision making. John Wiley. New York. USA.
- QUIJANO, M. 2009, Instrumento de Gestión Ambiental de Empacadoras de Frutas y Hortalizas. Disponible en: <http://www.marn.gob.gt/documentos/guias/agroindustrial.pdf>
- SICHE, R. 2007. Avaliação ecológica-termodinâmica e econômica de nações: O Peru como estudo de Caso. Tesis para la obtención del título de Doctor en Ingeniería de Alimentos. UNICAMP. Campinas. Brasil.
- SICHE, R.; Pereira, L.; Agostinho, F.; Ortega, E. 2010. Convergence of ecological footprint and emergy analysis as a sustainability indicator of countries: Peru as case study. *Communications in Nonlinear Science and Numerical Simulation* 15(10): 3182-3192.

TILMAN, D.; Balzer, C.; Hill, J.; Befort, B.L. 2011. Global food demand and the sustainable intensification of agriculture. In: Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA). 2010. Peru: An Emerging Exporter of Fruits and Vegetables. A Report from the Economic Research Service. Disponible en: <http://www.ers.usda.gov/media/134648/fts34501.pdf>

ULGIATI, S.; Brown M. 1998, Monitoring patterns of sustainability in natural and man-made ecosystems. *Ecological Modeling*: 108:23-26.

WACKERNAGEL, M.; Rees, W. 1996. *Our Ecological Footprint: Reducing Human Impact on the Earth*. Gabriola Island, BC, and Philadelphia, New Society Publishers.

YAKOVLEVA, N.; Sarkis, J.; Sloan, T.W. 2010. Sustainability indicators for the food supply chain. En: U. Sonesson, J. Berlin and F. Ziegler (Eds). *Environmental Assessment and Management in the Food Industry: Life Cycle Assessment and Related Approaches*. Serie en Food Science, Technology and Nutrition. Capítulo 16, Pages 297–329.

ZHAO, S.; Li, Z.; Li, W. 2005. A modified method of ecological footprint calculation and its application. *Ecol. Model.* 185, 65–75.

ZHAO, S.; Song, K.; Gui, F.; Cai, H. Weihong Jin, Changwen Wu. 2013. The emergy ecological footprint for small fish farm in China. *Ecological Indicators* 29 (2013) 62–67.

7. TABLAS Y FIGURAS

TABLA 1. Flujos en emergía (seJ/año) y en hectáreas globales (gha) para la biocapacidad y el consumo

	Item	Flujo de emergía (seJ/año)	Biocapacidad (BC) (gha/año)
B1	Solar	8.14E+15	26.25
B2	Viento	1.39E+16	44.80
B3	Lluvia	2.72E+15	8.79
B4	Biomasa (espárrago)	1.01E+18	3251.98
Total Biocapacidad (BC=B4)			3251.98

	Item	Flujo de energía (seJ/año)	Consumo (HE) (gha/año)
Agrícola			
C1	Pérdida de suelo	8.21E+16	264.88
C2	Materiales en agricultura	4.85E+16	156.34
C3	Servicios agrícolas	2.32E+16	74.71
Sub total			495.93
Procesamiento			
C4	Materiales en fábrica	1.73E+17	557.05
C5	Mano de obra	3.05E+12	0.01
C6	Servicios (agua, combustible, energía)	6.22E+16	200.77
C7	Depreciación de maquinaria y edificaciones	3.01E+16	97.08
Sub total			854.90
Abastecimiento			
C8	Mano de obra	1.60E+11	0.00
C9	Servicios (agua, combustible, energía)	1.37E+16	44.12
C10	Depreciación de maquinaria y edificaciones	3.00E+15	9.69
Sub total			53.81
Total Consumo (HE)		4.19E+17	1404.65
Saldo = BC - HE			1847.34

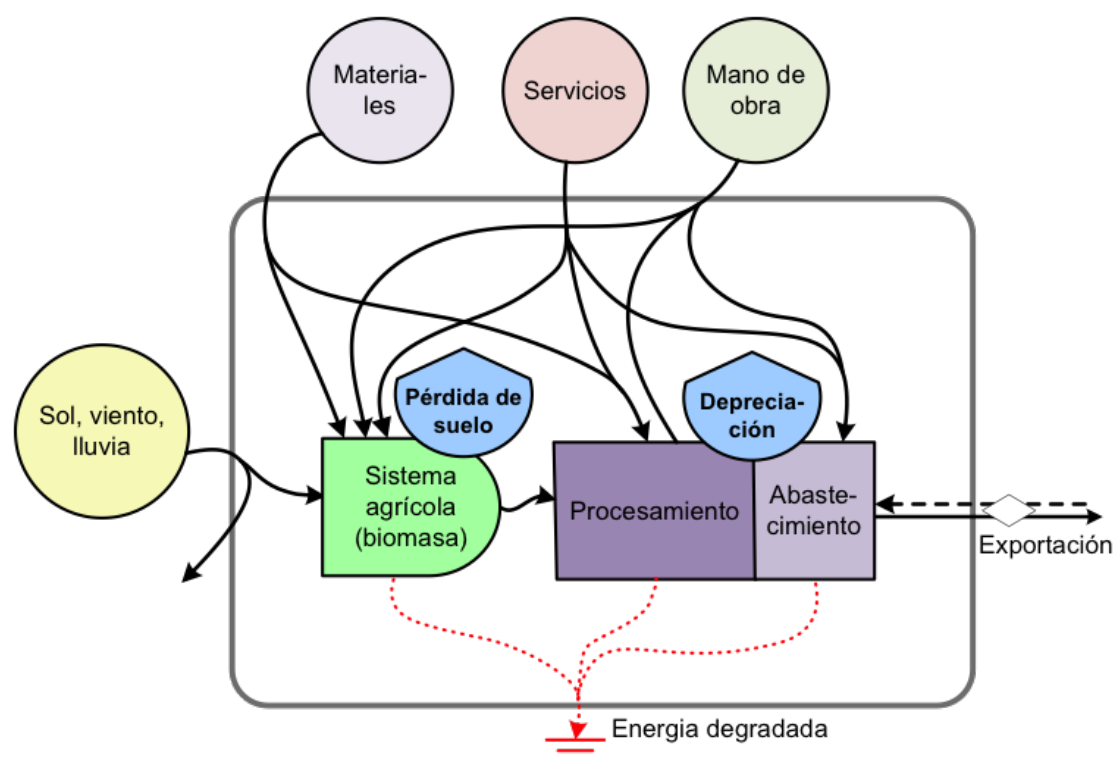


FIGURA 1. Diagrama sistémico de la producción de espárrago blanco en conserva

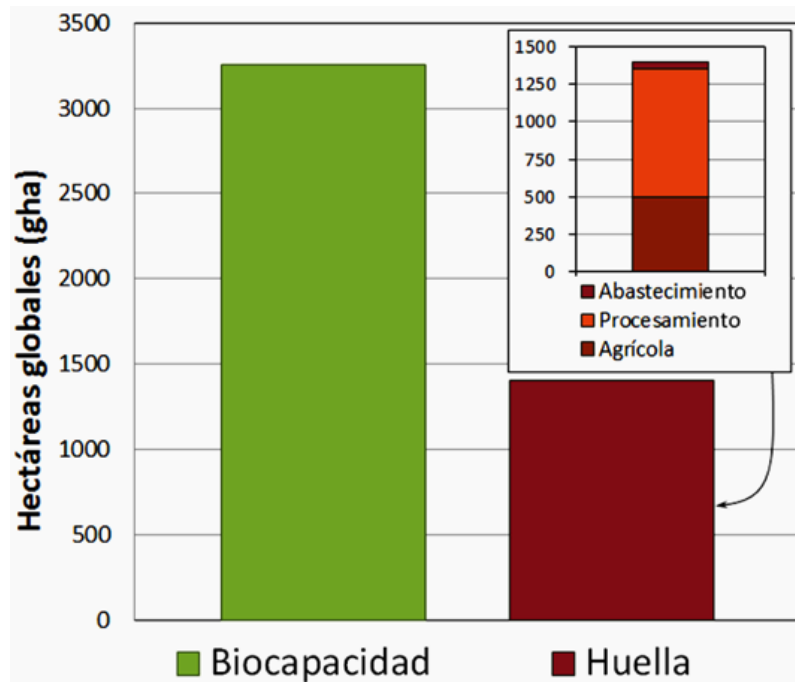


FIGURA 2. Balance ecológico para el sistema de producción de espárrago en conserva

PELÍCULAS PROTEICAS DE SOJA NANOREFORZADAS CON CELULOSA MICROFIBRILADA EXTRAÍDA DE FIBRAS DE FORMIO

Cristian Matias Ortiz¹, Pablo Rodrigo Salgado¹, Alain Dufresne²,
Adriana Noemí Mauri¹

1. RESUMEN

En este trabajo se estudió la obtención de celulosa microfibrilada (MFC) mediante tratamiento mecánico a partir de fibras de formio, lográndose obtener nanofibras de celulosa ($d \approx 50-60$ nm y $L \approx 485$ μ m). Estas nanofibras se utilizaron como nano-refuerzos en la formulación de películas en base a proteína de soja (SPI) obtenidas por *casting*. Fue posible obtener películas homogéneas hasta con un 12 % de MFC (respecto de la cantidad de SPI). El agregado de las fibras provocó un aumento progresivo en la tensión a la rotura y módulo de Young en detrimento de la elongación a la rotura, y una disminución significativa en la permeabilidad al vapor de agua y en el contenido de agua pero un aumento en la solubilidad solo para las mayores concentraciones de MFC. El efecto refuerzo que la celulosa microfibrilada estaría ejerciendo sobre las películas proteicas, daría indicio de una buena compatibilidad entre esta matriz y las nanofibras.

2. INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas se ha incrementado el interés en la producción y empleo de materiales biodegradables y renovables. Las agroproteínas, como las de soja, se muestran como una alternativa sustentable para reemplazar a los polímeros sintéticos no degradables en algunas aplicaciones específicas. En general, las películas

CONTACTO: Adriana Noemí Mauri anmauri@quimica.unlp.edu.ar

1. Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecología de Alimentos (CIDCA), CONICET, UNLP, Argentina.

2. Laboratoire de Génie des ProcédésPapetiers (LGP2), Grenoble INP-Pagora, France.

proteicas suelen presentar excelentes propiedades barrera al oxígeno, a los lípidos y a los aromas; moderadas propiedades mecánicas y alta permeabilidad al vapor de agua. Actualmente, una de las alternativas más efectivas para mejorar las propiedades mecánicas y barrera de los materiales, tanto sintéticos como naturales, es el agregado de micro o nanorefuerzos a la formulación (Song *et al.*, 2011).

En los últimos años, ha crecido el interés en los micro y nanorefuerzos obtenidos a partir de polisacáridos. El uso de celulosa, derivada de la madera o de residuos agrícolas, en productos con mayor valor agregado es una alternativa viable y está actualmente bajo intensa investigación. Las suspensiones acuosas de celulosa microfibrilada (MFC) se pueden preparar por cizallamiento mecánico de fibras de celulosa (Lavoine *et al.*, 2012; Siró *et al.*, 2010). Este tratamiento permite separar las microfibrillas constitutivas. Las partículas resultantes se producen como largos filamentos flexibles en la escala nanométrica o partículas en forma de varilla de 5-20 nm de diámetro. Como sólo contienen un pequeño número de defectos, su módulo de Young axial (≈ 150 GPa) es muy alto, mayor que el del acero y similar al del Kevlar (Dufresne *et al.*, 2012).

El objetivo de este trabajo fue obtener celulosa microfibrilada a partir de fibras de formio, y luego utilizarlas para reforzar películas proteicas de soja, analizando el efecto de su agregado sobre las propiedades fisicoquímicas de los materiales resultantes.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

MATERIALES

Se emplearon fibras de formio (*Phormium tenax*) para la obtención de nano-refuerzos de celulosa, un aislado proteico de soja comercial (SPI, SUPRO 500E, DuPont N & H, Brasil) como biopolímero y glicerol (Anedra, Argentina) como plastificante.

OBTENCIÓN DE NANO-REFUERZOS DE CELULOSA

Pre-tratamiento de las fibras

Las fibras de formio fueron cortadas ($\approx 5-10$ mm) y sometidas a dos tratamientos alcalinos con NaOH (1N) a 80 °C, y dos tratamientos de blanqueo con H₂O₂ (3%v/v), también a 80 °C. Luego de cada tratamiento, las fibras fueron separadas por filtración y lavadas con agua destilada y finalmente secadas en una estufa de convección forzada a 80 °C.

Obtención de celulosa microfibrilada (MFC)

Las fibras de formio pre-tratadas se dispersaron en agua destilada (1%p/v) durante 16 horas a temperatura ambiente. La suspensión resultante se sometió a tratamiento mecánico en un equipo Masuko Super Masscolloider (a 3125 rpm) y se analizó el efecto del número de ciclos de homogeneización (10-100 ciclos) sobre las propiedades de las nano-fibras resultantes. La dispersión de MFC fue almacenada en refrigeración hasta su empleo.

Caracterización de la celulosa microfibrilada

La longitud de las fibras fue determinada en un equipo TECHPAP LB 01 Morfi (0,3 % g fibra/L). La morfología se observó con un microscopio de fuerza atómica.

FORMACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LAS PELÍCULAS NANOCOMPUESTAS

Obtención de las películas

Se formularon películas por *casting* a partir de dispersiones acuosas del aislado proteico de soja (SPI, 5% p/v), glicerol (1,25% p/v) y diferentes concentraciones de celulosa microfibrilada (0, 4, 8 y 12 g MFC/100 g de SPI a pH 10,5. El comportamiento de flujo de las dispersiones filmogénicas fue evaluado en un reómetro ReoStress 600 (Termo Haake, Karlsruhe, Alemania) y los resultados experimentales se ajustaron al modelo reológico de Herschel-Bulkley. Estas dispersiones se moldearon y secaron a 60 °C. Las películas resultantes se acondicionaron 48 horas a 58 % de humedad relativa previo a ser caracterizadas.

Caracterización de las películas

Se determinó el espesor de las películas empleando un medidor digital (Check Line DCN-900, USA), el contenido de agua según la norma ASTM D644-99 (ASTM, 2004) y la solubilidad mediante la técnica propuesta por Gontard y col. (1992). La permeabilidad al vapor de agua se determinó según la norma ASTM E96-00 (ASTM, 2004) a 20 °C, empleando un gradiente de humedad relativa de 75 %. Las propiedades mecánicas se midieron en ensayos de tracción según la norma ASTM D882-02 (ASTM, 2004).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados fueron analizados mediante análisis de varianza (ANOVA). Las medias fueron comparadas por el Test de Tukey con un nivel de significación $\alpha \leq 0,05$. Para ello se empleó el programa SYSTAT (versión 12, Systat Software, Inc., Chicago, EE.UU).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CARACTERIZACIÓN DE LA CELULOSA MICROFIBRILADA OBTENIDA

A PARTIR DE FIBRAS DE FORMIO

En la Figura 1 se muestran fotografías de las fibras de formio sin tratar (panel A) y las pre-tratadas (panel B). Se analizó el efecto del número de ciclos de homogeneización (entre 10 y 100 ciclos) sobre las propiedades de las nano-fibras resultantes. Se seleccionó el proceso que utilizaba 50 ciclos de homogeneización como el adecuado, ya que con el mismo se obtuvo una dispersión acuosa de celulosa microfibrilada (MFC) que contenía nano-fibras de celulosa con $d \approx 50-60$ nm y $L \approx 485$ μ m. En la Figura 2 se muestra el aspecto visual de la dispersión acuosa (panel A), así como también su caracterización por microscopía de fuerza atómica (panel B). Estas nano-fibras de celulosa (MFC) se emplearon como nano-refuerzos en películas proteicas de soja.

CARACTERIZACIÓN REOLÓGICA DE LAS DISPERSIONES FILMOGÉNICAS

La Tabla 1 resume las características reológicas de las dispersiones filmogénicas. Los valores experimentales de esfuerzo de corte en función del gradiente de velocidad de corte se ajustaron satisfactoriamente al modelo de Herschel – Bulkley, obteniéndose coeficientes de correlación mayores a 0,99 para todos los casos. Todas las dispersiones mostraron una disminución en la viscosidad aparente a medida que aumentaba el gradiente de velocidad de deformación ($0 < n < 1$). Este comportamiento se volvió progresivamente más pronunciado al aumentar el contenido de MFC en la formulación, observándose una disminución en el índice de flujo (n) y un incremento en la consistencia de las dispersiones filmogénicas (mayores valores de K , t_0 y de viscosidad aparente). Si bien el aumento en la viscosidad aparente de las dispersiones al incrementar la concentración de MFC en las formulaciones fue observado en todo el rango de gradiente de velocidades de corte analizadas, éste

fue mayor a bajas velocidades de corte. El aumento de la viscosidad aparente de las dispersiones filmogénicas en función del contenido de MFC puede atribuirse al aumento en el contenido de sólidos en las formulaciones y a las posibles interacciones que se generan entre los distintos componentes. Las dispersiones filmogénicas que contenían hasta 12 g de MFC por 100 g de SPI mostraron viscosidades adecuadas a fin de permitir la eliminación de burbujas durante la agitación y una fluidez adecuada para verter las dispersiones durante la etapa de moldeo. Por encima de esa concentración de MFC no fue posible obtener películas homogéneas debido a que las viscosidades de esas formulaciones aumentaron a un punto tal que se dificultaba el mezclado y la remoción de burbujas.

CARACTERÍSTICAS DE LAS PELÍCULAS NANO-REFORZADAS

Se obtuvieron películas homogéneas con un contenido máximo de 12 g de MFC por 100 g de SPI. Al incrementar el contenido de MFC incorporado en la matriz proteica, se observó un pequeño aumento en el espesor de las películas (de $64,8 \pm 5,1$ a $71,9 \pm 4,0$ μm para las películas con 0 y 12 % de MFC incorporada respectivamente). En la Tabla 2 se presentan el contenido de agua, solubilidad en agua y permeabilidad al vapor de agua (WVP) de las películas estudiadas.

Solo se observó una modificación de la susceptibilidad al agua para las películas proteicas con 8 y 12 % de nanofibras. Esta modificación se verificó en una disminución significativa del contenido de agua y de la permeabilidad al vapor de agua, pero a la vez un aumento en la solubilidad de las películas nanocompuestas respecto de las proteicas. Estos resultados sugieren que la MFC estaría generando mayor tortuosidad en la matriz proteica para la difusión de las moléculas de agua a través de ella (y de ahí la menor WVP encontrada), y estaría interfiriendo en el entrecruzamiento proteico (y por esto la mayor solubilidad de las películas nanocompuestas).

En la Tabla 3 se presentan las propiedades mecánicas de las películas medidas en tracción. Las mismas fueron significativamente afectadas por la incorporación de MFC a la matriz proteica. El incremento de la concentración de nanofibras en la formulación provocó un aumento progresivo de la tensión a la rotura y módulo de Young en detrimento de la elongación a la rotura. Así por ejemplo para las películas con 12 % de MFC las mejoras en la tensión a la rotura y módulo de Young fueron de 784 % y 1496 % respectivamente, y la disminución de la elongación a la ruptura de un 90 %. Estos resultados demuestran el gran efecto refuerzo que la celulosa mi-

crofibrilada estaría ejerciendo sobre las películas proteicas, lo que daría indicio de una buena compatibilidad entre esta matriz y las nanofibras.

5. CONCLUSIONES

Fue posible obtener celulosa microfibrilada a partir de fibras de formio, obteniéndose a través de este procesamiento nanorefuerzos naturales totalmente biodegradables. Estas nanofibras de celulosa lograron reforzar en gran medida a películas proteicas de soja obtenidas por *casting*. Este refuerzo fue verificado principalmente en mejoras muy significativas en las propiedades mecánicas y mejoras en la WVP solo a partir de concentraciones de fibras superiores al 4 %.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (PICT 2010-1837), a la Universidad Nacional de La Plata (UNLP 11-X618) y al CONICET y CNRS (CONICET+CNRS 2012) por el financiamiento recibido.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASTM. (2004). Annual book of ASTM standards; ASTM International: Philadelphia, PA, USA.
- DUFRESNE, A. (2012). Nanocellulose: From Nature to High Performance Tailored Materials. Walter de Gruyter GmbH, Berlin/Boston, 460 páginas.
- GONTARD, N., Guilbert, S. & Cuq, J. L. (1992). Edible wheat gluten films: influence of the main process variables on film properties using response surface methodology. *J. Food Sc.*, 57, 190-195.
- LAVOINE, N., Desloges, I., Dufresne, A., Bras, J. (2012). Microfibrillated cellulose – Its barrier properties and applications in cellulosic materials: A review. *Carb. Polymers*, 90, 735-764.
- SIRÓ, I, Plackett, D. (2010). Microfibrillated cellulose and new nanocomposite materials: A review. *Cellulose*, 17, 459-494.
- SONG, F., Tang, D-L., Wang, X-L. & Wang, Y-Z. (2011). Biodegradable soy protein isolate-based materials: A review. *Biomacromolecules*, 12, 3369-3380.

7. TABLAS Y FIGURAS

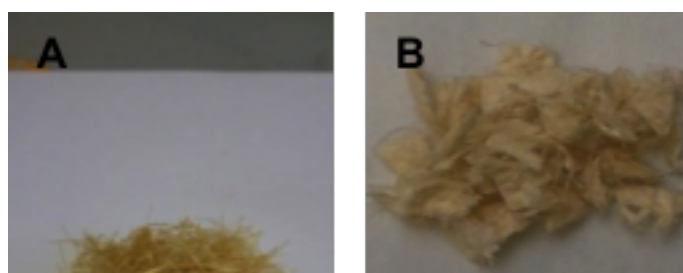


FIGURA 1. Fibras de formio (*P. tenax*) sin tratamiento (A) y pre-tratadas con tratamientos alcalino y blanqueo (B)

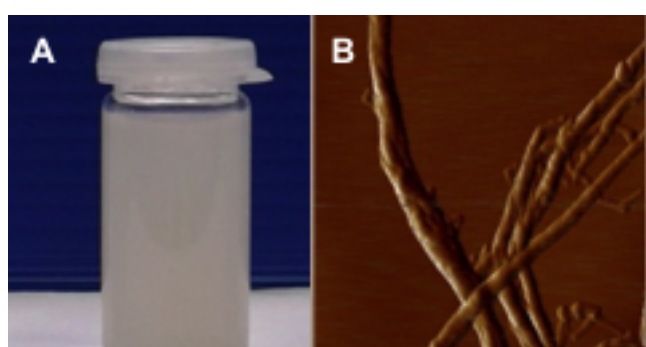


FIGURA 2. Celulosa microfibrilada (MFC) obtenida a partir de fibras de formio (*P. tenax*). Aspecto visual de la dispersión (A) y microscopía de fuerza atómica de las nanofibras obtenidas (B)

TABLA 1. Comportamiento reológico de dispersiones filmogénicas en base a proteína de soja (SPI) con diferentes concentraciones de MFC. (A) umbral de fluencia (t_0), índice de consistencia (K), y de comportamiento de flujo (n). (B) viscosidad aparente calculada a diferentes velocidades de cizallamiento (D), de 60, 300, y 500 s^{-1}

g MFC 100 g ⁻¹ SPI	A. Parámetros reológicos (Herschel-Bulkley)			B. Viscosidad Aparente (mPa s)		
	t_0 (Pa)	K (Pas ⁿ)	n	D= 60 s ⁻¹	D= 300 s ⁻¹	D= 500 s ⁻¹
0	0,07 ± 0,01 d	0,04 ± 0,01 c	0,85±0,03 a	20,2 ± 1,2 d	15,9 ± 0,6 d	15,3 ± 0,3 d
4	1,17 ± 0,11 c	0,06 ± 0,01 c	0,78±0,03 ab	46,9 ± 1,7 c	21,9 ± 0,5 c	19,3 ± 0,4 c
8	2,63 ± 0,17 b	0,09 ± 0,02 b	0,75±0,02 b	81,5 ± 1,2 b	31,5 ± 0,9 b	27,1 ± 1,4 b
12	4,67 ± 0,18 a	0,18 ± 0,01 a	0,64±0,01 c	124,6 ± 2,5 a	38,6 ± 0,8 a	31,4 ± 0,6 a

Letras verticales diferentes indican diferencia significativa con $\alpha=0,05$ (Tukey).

TABLA 2. Contenido de agua, solubilidad en agua y permeabilidad al vapor de agua (WVP) de las películas proteicas de soja (SPI) con diferente concentración de MFC

g MFC 100 g ⁻¹ SPI	Contenido de agua (%)	Solubilidad en agua (%)	WVP*
0	15,7 ± 0,3 a	32,1 ± 1,6 b	14,9 ± 1,8 a
4	15,5 ± 0,1 a	33,1 ± 0,5 b	15,7 ± 1,9 a
8	15,4 ± 0,1 a	36,6 ± 1,7 a	08,9 ± 0,6 b
12	14,7 ± 0,1 b	37,4 ± 0,4 a	09,7 ± 0,3 b

*WVP en g H₂O m⁻¹ Pa⁻¹ s⁻¹

Letras verticales diferentes indican diferencia significativa con α=0,05 (Tukey).

TABLA 3. Propiedades mecánicas (medidas en ensayos de tracción) de las películas proteicas de soja (SPI) con diferente concentración de MFC

g MFC 100 g ⁻¹ SPI	Tensión a la ruptura (MPa)	Elongación (%)	Modulo de Young (MPa)
0	1,55 ± 0,2 c	119 ± 17 a	0,23 ± 0,04 b
4	4,18 ± 0,5 b	33,5 ± 1,3 b	0,47 ± 0,05 b
8	11,75 ± 1,3 a	14,4 ± 1,0 c	3,35 ± 0,29 a
12	12,20 ± 1,0 a	11,8 ± 1,1 c	3,47 ± 0,34 a

Letras verticales diferentes indican diferencia significativa con α=0,05 (Tukey).

Food Innovation and Education

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

[Volver al índice](#)

FORMANDO EN COMPETENCIAS: EXPERIENCIAS DE ARTICULACIÓN INTERCÁTEDRAS APLICADAS EN LA INGENIERÍA DE ALIMENTOS

María Cristina Cayetano Arteaga, Liliana M. Gerard, María Mercedes Ferreyra

1. RESUMEN

Los futuros profesionales de ingeniería de alimentos actuarán en entornos laborales donde serán valorados por sus competencias, relacionadas al saber disciplinar, así como competencias vinculadas a actitudes y valores: saber trabajar en grupos, resolver problemas, expresarse públicamente, redactar informes, iniciativa, creatividad, espíritu de trabajo, sentido ético, conciencia medio ambiental. Todas estas competencias son enseñables, deben estar presentes en el currículum universitario de manera transversal a lo largo de toda la formación académica. Para promover la formación en competencias, debemos realizar una revisión crítica de las prácticas docentes tradicionales y proponer estrategias didácticas innovadoras, partiendo de situaciones motivadoras para alentar el compromiso y protagonismo de los estudiantes. Presentamos tres experiencias de aplicación en la ciencia y tecnología de alimentos, desarrolladas en el ciclo básico de la carrera Ingeniería de Alimentos: “Efectos de campos magnéticos sobre el crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae*”, “Diferencias en las imágenes observadas por microscopía de campo claro y de contraste de fases de preparados de bacterias, levaduras y mohos” y “Presencia de algas verdeazuladas en el lago de Salto Grande y Río Uruguay” que articularon contenidos de Microbiología General, Física, Biología y Estadística. El diseño de estas actividades demandó una cuidadosa planificación por parte del grupo docente: la selección de los problemas, objetivos, actividades a desarrollar, coordinación de los grupos de trabajo, consultas, las formas de evaluación, los tiempos destinados

CONTACTO: Ma. Cristina Cayetano A. cayetanoc@fcal.uner.edu.ar
Facultad de Ciencias de la Alimentación, Universidad Nacional de
Entre Ríos, Entre Ríos, Argentina.

a cada actividad, etc. Las actividades desarrolladas por los estudiantes incluyeron: trabajos de investigación en grupos en horarios extra áulicos, discusión de trabajos experimentales a realizar, actividades grupales en laboratorio, presentaciones de conclusiones a los pares y docentes. El grupo docente se fortaleció en la interacción necesaria para llevar adelante las propuestas. Las evaluaciones realizadas incluyeron instancias de autoevaluación y evaluación mutua.

2. INTRODUCCIÓN

Desde la sociedad se demandan profesionales con competencias relacionadas no sólo al saber disciplinar, sino también y cada vez más son tenidas en cuenta competencias que involucran actitudes y valores: saber trabajar en grupos, resolver problemas, expresarse públicamente, redactar informes, iniciativa, creatividad, espíritu de trabajo, sentido ético, conciencia medio ambiental.

La sociedad del conocimiento plantea cuestionamientos a los “saberes” que brinda hoy la universidad (Fernández March, 2006). Los saberes son cada vez más extensos, entonces se fragmentan y atomizan para estudiarlos de manera especializada, multiplicando las áreas de conocimientos específicos y disciplinas. Si bien el acceso al conocimiento es más fácil y se ha democratizado con la utilización de las TIC, la capacidad de seleccionar contenidos de manera crítica sin dejarse apabullar por la cantidad de información disponible es un nuevo reto para la educación. La sociedad del conocimiento es también la sociedad del aprendizaje. Esta idea está íntimamente ligada a la comprensión de toda educación en un contexto más amplio: el aprendizaje a lo largo de toda la vida (Fernández March, 2006). Además, el acervo de nuevos conocimientos sigue creciendo a un ritmo vertiginoso, que generen también un enorme volumen de conocimientos “obsoletos”. ¿Cómo formar a los futuros profesionales de ingeniería en alimentos en este entorno casi dantesco? Indudablemente la respuesta está en la formación en competencias.

“Hay consenso en cuanto que el ingeniero no sólo debe saber, sino también saber hacer. El saber hacer no surge de la mera adquisición de conocimientos sino que es el resultado de la puesta en funciones de una compleja estructura de conocimientos, habilidades, destrezas, etc. que requiere ser reconocida expresamente en el proceso de aprendizaje para que la propuesta pedagógica incluya las actividades que permitan su desarrollo” (CONFEDI, 2007). Ello supone pensar la formación de grado del inge-

niero desde el eje de la profesión, es decir desde el desempeño, desde lo que el ingeniero efectivamente debe ser capaz de hacer en los diferentes ámbitos de su quehacer profesional y social en sus primeros años de actuación profesional.

En la reciente Declaración de Valparaíso (Noviembre de 2013) la Asociación Iberoamericana de Entidades de Enseñanza de la Ingeniería (AISBEI) reconociendo la necesidad de contar con lineamientos comunes regionales en cuanto a las competencias genéricas de egreso a lograr en los ingenieros graduados en los países de Iberoamérica, que contribuyan a fortalecer un Espacio Común Iberoamericano de Educación en Ingeniería, que orienten los procesos de búsqueda y definición de los propios perfiles en cada país y que faciliten la integración regional y los acuerdos de movilidad e intercambio académico entre las universidades, realizó un análisis muy amplio de las competencias genéricas de egreso del ingeniero iberoamericano, y adoptó como síntesis las propuestas realizadas por el CONFEDI sobre las “Competencias genéricas de egreso del ingeniero argentino”. Todas estas competencias son enseñables, deben estar presentes en el currículum universitario de manera transversal a lo largo de toda la formación académica. Para promover la formación en competencias, debemos realizar una revisión crítica de las prácticas docentes tradicionales y proponer estrategias didácticas innovadoras, partiendo de situaciones motivadoras para alentar el compromiso y protagonismo de los estudiantes.

Posicionamiento pedagógico

En un entorno educativo tradicional se aprende en forma individual pero en un marco constructivista cobran sentido los aprendizajes negociando significados en la interacción social con otros, integrándose en una comunidad de aprendizaje con la misma cultura científica. El papel de la interacción entre los estudiantes es un mecanismo que permite la aparición de nuevas respuestas que no se pueden lograr individualmente, creemos que el aprendizaje colaborativo es una estrategia única para aproximarnos al desarrollo de competencias, “el aprendizaje colaborativo se encuentra actualmente entre las estrategias de enseñanza que demuestran mayor valor didáctico” (Camilloni, 2007). Al enseñar ciencias queremos que los alumnos “entiendan” los conceptos, y para eso deberán construir significados y ser capaces de expresarlos con sus propias palabras. Esta construcción de significados es una actividad social donde se debe desarrollar la capacidad de argumentar, compartiendo y elaborando colectivamente los “nuevos” conocimientos.

El modelo denominado “Enseñanza–aprendizaje de las Ciencias como investigación” (Gil *et al* 1991, Gil 1993), pretende que los alumnos aprendan los conocimientos científicos mediante estrategias didácticas próximas a las empleadas por la ciencia para resolver los problemas científicos. Según Coll (1987), las aproximaciones entre la naturaleza del aprendizaje y la naturaleza de la actividad científica podrían proporcionar nuevas estrategias didácticas integradoras que podrían contribuir a lograr en los estudiantes de Ciencias, cambios en lo conceptual, en lo metodológico, y en lo actitudinal. Como afirmaba Hodson (1996), la investigación didáctica está mostrando que: “(...) los estudiantes pueden aprender ciencia y pueden aprender más sobre la ciencia llevando a cabo investigaciones científicas bien diseñadas, bajo la mirada vigilante (recogiendo, debatiendo y apoyando la reflexión sobre el progreso realizado) de un profesional experto” (citado en Martínez Torregrosa, 2012).

Estrategias didácticas con los componentes generales de una investigación científica han dado lugar a un modelo de *enseñanza como investigación*, involucrando los siguientes componentes (Leymonié, 1996): estrategias didácticas coherentes con los procedimientos de las ciencias, organización del trabajo de los alumnos en pequeños grupos, utilización de programas de actividades, rol del docente como orientador, y consiste en el desarrollo de cada tema, no en base al desarrollo lineal de los contenidos sino a un conjunto articulado de actividades a realizar por los estudiantes, integrando conceptos, discusión de las implicancias sociales de la ciencia, la resolución de problemas abiertos y el trabajo experimental.

La formación de los ingenieros en alimentos de la UNER plantea como objetivos en su actual plan de estudios (aprobado en 2011): “formar Técnicos e Ingenieros en Alimentos que, caracterizados por sólidos conocimientos físicos-matemáticos, químicos-biológicos y aspectos humanísticos sustanciales, se desempeñen con solvencia técnica y compromiso social y ambiental en el área de la ciencia y tecnología de los alimentos”. Durante los dos primeros años de la carrera reciben una formación de base, con contenidos tradicionales fuertes centrados en el estudio de química, matemática, física, biología. La mayoría de los estudiantes se encuentran “ansiosos” de llegar a las asignaturas específicas, donde, “por fin vean algo de alimentos”. Esta actitud es “contenida” por los docentes con la convicción de que primero hay que manejar los conceptos básicos, conocer y manejar las herramientas para después aplicarlas en los contenidos específicos.

¿Cómo alentar el desarrollo de competencias? Propuestas: experiencias de articulación

Reconociendo la necesidad de plantear situaciones motivadoras y alentando estrategias de aprendizaje colaborativo, posicionados en un modelo de enseñanza como investigación dirigida, basada en una concepción constructivista del aprendizaje, convencidos que sólo se puede aprender ciencia haciendo ciencia, hemos diseñado y puesto en práctica trabajos de articulación intercátedras en el ciclo básico de la carrera Ingeniería de Alimentos.

Los *objetivos* generales de todas estas experiencias fueron: abordar problemas de aplicación a la Ciencia y Tecnología de los alimentos desde una perspectiva integradora de los conocimientos teóricos, estimular la adquisición de competencias técnicas y profesionales promoviendo el trabajo colaborativo entre grupos de pares para potenciar aprendizajes significativos; promover el trabajo interdisciplinario entre docentes de la carrera Ingeniería de Alimentos, que permita el diseño de estrategias de enseñanza que conduzcan a la participación de los estudiantes; reflexionar acerca de las interacciones entre ciencia tecnología y sociedad, entre saberes y valores en la producción científica y desarrollos tecnológicos.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Se describen tres experiencias de aplicación en la ciencia y tecnología de alimentos: “Efectos de campos magnéticos sobre el crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae*”, “Diferencias en las imágenes observadas por microscopía de campo claro y de contraste de fases de preparados de bacterias, levaduras y mohos” y “Presencia de algas verdeazuladas en el lago de Salto Grande y Río Uruguay” desarrollados entre los años 2007 y 2013.

Efectos de campos magnéticos sobre el crecimiento de Saccharomyces cerevisiae

Las asignaturas involucradas en esta propuesta fueron Física II, Microbiología General y Estadística. Los objetivos de este trabajo fueron observar el efecto estimulante –o no– de la aplicación de campos magnéticos pulsantes de baja intensidad y alta frecuencia a cultivos de *Saccharomyces cerevisiae*, en diversos tiempos de exposición y emplear conocimientos de diseño de experimentos y análisis de datos mediante software estadístico para la interpretación de los resultados. Se planteó

la situación problema en general, y desde cada cátedra se propusieron actividades específicas relacionadas con los contenidos a desarrollar.

Se realizó una actividad experimental en laboratorio, donde se aplicaron campos magnéticos oscilantes de baja intensidad y alta frecuencia generados con bobinas de Helmholtz a los cultivos de *Saccharomyces cerevisiae* previamente preparados, que se colocaron en tubos de ensayo tapados pero no herméticos para asegurar la disponibilidad de oxígeno (Figura 1). Se midió la densidad óptica (DO) de los cultivos así preparados, antes y después del tratamiento. Se emplearon los mismos tratamientos en muestras por cuadruplicado y se incubaron 24 horas en estufa a 30 °C para favorecer el desarrollo de biomasa. Finalizado este tiempo nuevamente se midió la DO. Los datos obtenidos fueron procesados en clases de estadística usando software estadístico; realizándose análisis de varianza y comparación de medias para evaluar la influencia de los tratamientos sobre el crecimiento celular.

Las variables que afectan la generación del campo magnético son: intensidad del campo magnético, frecuencia del campo oscilante y tiempo de exposición. Los valores fijados se eligieron en base a bibliografía consultada que sirvió de referencia para el desarrollo de este trabajo (Zapata *et al*, 2002). La composición del medio de cultivo, así como los tiempos y temperaturas de crecimiento de las levaduras, fueron mantenidos constantes; proporcionándoles las condiciones óptimas para su desarrollo.

Cada grupo presentó un informe escrito con el detalle de las indagaciones previas, desarrollo de la actividades en laboratorio, cálculos, descripción de equipos y procedimientos, resultados obtenidos, discusión de los resultados y conclusiones. Las conclusiones fueron presentadas en plenario al grupo de compañeros, utilizando recursos TIC; y evaluadas por los docentes de las cátedras participantes. Se discutieron aspectos relacionadas a las aplicaciones de estas tecnologías emergentes en biotecnología.

Diferencias en las imágenes observadas por microscopía de campo claro y de contraste de fases de preparados de bacterias, levaduras y mohos

Se planteó encontrar y explicar las diferencias en las imágenes observadas por microscopía de campo claro (sin colorear) y de contraste de fases de preparados de bacterias, levaduras y mohos.

Los estudiantes realizaron una investigación bibliográfica previa al trabajo experimental, sobre los elementos que componen los sistemas ópticos de cada tipo de

microscopio, orientando su interés en los microscopios disponibles en el laboratorio. Durante la actividad experimental en el laboratorio de Microbiología, realizaron la siembra de bacterias (*Acetobacter* sp.), levaduras (*Saccharomyces bayanus*) y mohos (*Alternaria* sp). Transcurrido el tiempo de incubación de los cultivos realizaron preparaciones en fresco de las bacterias y levaduras para observarlos por los sistemas de microscopía óptica de campo brillante y de contraste de fases. Las observaciones se efectuaron usando el objetivo de 100X y aceite de inmersión, y se muestran en la Figura 2, imágenes obtenidas por un grupo de estudiantes.

Los resultados fueron plasmados en una presentación en plenario, frente al grupo de pares y docentes involucrados en la experiencia. Expusieron la metodología de su trabajo en grupos, como organizaron su investigación, los resultados de la búsqueda bibliográfica, las observaciones realizadas en la experiencia de laboratorio y las conclusiones a que arribaron. Todos los grupos hicieron uso de los recursos TIC disponibles, mostrando fotografías digitales obtenidas durante el trabajo experimental.

Presencia de algas verdeazuladas en el lago de Salto Grande y Río Uruguay

El objetivo de este trabajo fue que los estudiantes reconozcan los distintos tipos de algas verdeazuladas presentes en muestras de agua del Lago de Salto Grande, en base a la observación microscópica de sus características morfológicas; que estudien la influencia de diferentes sales inorgánicas como nutrientes limitantes para su y crecimiento. Las actividades se organizaron en cada cátedra, donde se planteó a los alumnos esta propuesta de trabajo de articulación horizontal y vertical (ya que Física II es de 2° año y las demás asignaturas se cursan en 1er año), explicitando los objetivos del mismo, la metodología de trabajo y las formas de evaluación. En clases de Biología se presentó el problema “Presencia de algas en el Lago de Salto Grande”, realizando una reseña de la situación actual y la relevancia del tema para la salud. A los alumnos de Física II se les propuso explicar a sus pares de primer año cómo se forman las imágenes en el microscopio óptico, ya que este instrumento lo utilizan desde comienzos de la carrera, y aún no han estudiado “formalmente” los contenidos de óptica que le permitirían “comprender” la manera que se forman las imágenes.

Un grupo de estudiantes acompañados por docentes de Biología, concurrieron a tomar muestras de agua donde se observaban floraciones algales (blooms) en el

Lago de Salto Grande. En el laboratorio de química inorgánica se prepararon medios con diferentes sales inorgánicas para analizar su influencia en el crecimiento de algas con disponibilidad de diferentes nutrientes.

Los estudiantes tomaron muestras de los cultivos para realizar los preparados en fresco y observaron al microscopio para reconocer características morfológicas, (Figura 3). En conjunto se evaluó la influencia de las condiciones nutricionales en cada medio, resultados esperados y observados. Los docentes de Biología orientaron sobre las principales variedades encontradas y sus características morfológicas.

Los alumnos participaron de la propuesta con gran entusiasmo, manifestando su interés por la problemática que este tema puede ocasionar en el ambiente y en la salud de animales y seres humanos. Este compromiso y participación de los alumnos es de destacar, ya que no fue una actividad evaluada a efectos de acreditación.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las posibilidades de integración y articulación de contenidos en actividades de ciencia y tecnología de alimentos son tan amplias que resulta tentador plantear temas que permitan la participación de muchas asignaturas, pero no debemos dejar de reconocer que para que constituyan estrategias de aprendizajes potentes, se deben proyectar y ordenar previamente todos los aspectos que nos preocupan: los objetivos que se quieren alcanzar, cómo se van a lograr, como se evaluará el logro de estos objetivos, tarea que demanda una delicada coordinación y planificación previa. El diseño y gestión de estas actividades demandó una cuidadosa planificación por parte del grupo docente: la selección de los problemas, la definición precisa de los objetivos generales y de los específicos para cada actividad, la secuencia de actividades a desarrollar en cada disciplina, la organización de los grupos de trabajo, los tiempos asignados a cada actividad así como los momentos de encuentro con los docentes para discutir avances, corregir, reorientar, y coordinar los grupos de trabajo, los criterios de evaluación incluyendo espacios para la evaluación mutua y autoevaluación.

Las aspiraciones de logros planteadas en el plan de estudios, supone necesariamente modificaciones al rol docente tradicional, que especialmente en la Universidad, centraba su actividad en la transmisión de conocimientos, desarrollaba sus clases centradas en los contenidos. Es una demanda de las nuevas propuestas peda-

gógicas “desarrollar el rol de facilitador de situaciones de aprendizaje y evaluador del desarrollo de las competencias que se incluyan, para lo cual el docente deberá revalorizar la etapa de planificación en equipos responsables del desarrollo de las actividades curriculares” (Confedi 2014). Estas actividades y este rol como docentes están plasmadas en los trabajos realizados y presentados aquí.

Los aspectos referidos a la evaluación de competencias que aspiramos a fomentar, son temas que nos dejaron a los docentes las mayores dudas; reconociendo que es un tema complejo, que abarca toda la formación universitaria y personal de cada individuo, que se ponen de manifiesto en contextos reales, participando activamente y no en una instancia final donde tradicionalmente se acreditan conocimientos, como son las mayorías de las propuestas curriculares de la carrera Ingeniería de Alimentos. Si la evaluación sigue consistiendo en ejercicios para constatar el grado de retención de algunos conocimientos “conceptuales”, éste será para los alumnos el verdadero objetivo del aprendizaje y poco importarán las innovaciones introducidas o los objetivos enunciados (Tricárico 2008). La forma de evaluación condiciona los aprendizajes de los estudiantes, se puede afirmar que la manera en cómo se evalúa determina la capacidad de progreso durante el proceso de aprendizaje al mismo tiempo que condiciona la manera de entender el currículum (Boud *et al*, 2010, citado en Martínez *et al*, 2013).

5. CONCLUSIONES

Los resultados observados del desempeño de los estudiantes en las actividades de investigación, laboratorio y presentación de sus resultados y conclusiones, nos alientan a creer que propuestas como estas, estimulan el compromiso y participación de los estudiantes en sus procesos de aprendizaje y en la formación de competencias personales. El grupo docente se fortaleció en la interacción necesaria para llevar adelante las propuestas, y del grupo cada año surgen nuevas ideas para renovar propuestas de articulación.

La construcción de indicadores que permitan reconocer el desarrollo de competencias y que estas sean valoradas para alcanzar el título profesional representa un desafío a encarar, que involucra una profunda revisión de las prácticas de evaluación en la universidad.

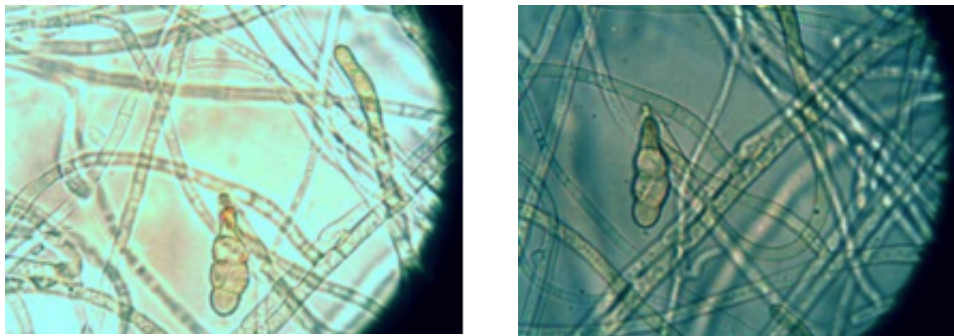
6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CAMILLONI, Alicia R.W.de; Cols, E.; Basabe, L.; Feeney, S.(2007). *El saber didáctico*. Buenos Aires: Paidós.
- DOCUMENTOS CONFEDI. Consultado por última vez en mayo 22, 2014 <http://www.confedi.org.ar/documentos2>
- FERNÁNDEZ MARCH, A. (2006) *Metodologías activas para la formación de competencias*. *Educación siglo XXI*, 24 , pp. 35 – 56.
- GIL PÉREZ, D. y Valdés Castro, P. (1996). *La orientación de las prácticas de laboratorio como investigación: un ejemplo ilustrativo*. *Revista Enseñanza de las Ciencias*, 14 (2), 155-163.
- GIL PÉREZ, D. Contribución de la historia y de la filosofía de las ciencias al desarrollo de un modelo de enseñanza/aprendizaje como investigación. *Enseñanza de las Ciencias*, nro. 11 (2), pp. 197/212.
- GIL PÉREZ, D.; Vilches, A. (2004) *La formación del profesorado de ciencia de secundaria y de universidad. La necesaria superación de algunos mitos bloqueadores*. *Educación Química*15[1].
- FERREYRA, A.; González, E.M. (2000) Reflexiones sobre la enseñanza de la física universitaria. *ENSEÑANZA DE LAS CIENCIAS*, 18 (2), 189-199.
- LEYMONIÉ, J.; Míguez, M. *La comprensión de la enseñanza en la universidad*.
- MARTÍNEZ TORREGROSA, J.; Domènech Blanco, J.L.; Menargues, A.; Romo Guadarrama, G.(2012) *La integración de los trabajos prácticos en la enseñanza de la química como investigación dirigida*. *Educ. quím.*, 23(núm. extraord. 1), 112-126. © Universidad Nacional Autónoma de México, ISSN 0187-893-X. ISSNE 1870-8404
- MARTÍNEZ, M.; Amante, B.; Cadenato, A.; Rodríguez, R. (2013) *Una propuesta de evaluación de competencias genéricas en grados de ingeniería*. *Revista de Docencia Universitaria*. Vol. 11, 113-139. ISSN 1887-4592.
- Resolución 1232/01 Ministerio de Educación de la Nación*. Consultado en Febrero 18, 2014 de <http://www.coneau.edu.ar/archivos/538.pdf>
- TRICÁRICO, H. (2008). *La formación continuada y permanente de los docentes de ciencias de la naturaleza*. IV Foro Latinoamericano de Educación Aprender y enseñar ciencias. Desafíos, estrategias y oportunidades. Fundación Santillana.

7. TABLAS Y FIGURAS



FIGURA 1. Preparación de cultivos de *Saccharomyces cerevisiae* y aplicación de campos magnéticos



(a)

(b)

FIGURA 2. Fotografías de *Alternaria* observada con microscopio:
a) sin contraste de fases; b) con contraste de fases



FIGURA 3. Distintos momentos en el laboratorio estudiando cianobacterias

INTERDISCIPLINARITY AT WORK: ENGINEERS AND LINGUIST JOIN EFFORTS TO OPTIMIZE UNDERGRADUATE WRITTEN PRODUCTION

Alicia Noceti¹, Carlos Chiarella², Eduardo Erbetta²

1. ABSTRACT

The Graduation Final Project marks the attainment of the Food Engineer degree. This written production, once orally and publicly defended, is uploaded to the Faculty website. Due to the widespread visibility this usually innovative knowledge may get on the Internet, both title and abstract should be as attractive and information loaded as possible being the starting point to access the work itself. As the history of Project titles has shown that some discourse strategies are required to improve the writing of interesting titles, an interdisciplinary project was designed. Teachers of both Project Design and Assessment and English II planned several actions to achieve this objective. This work includes joint interventions aiming at raising awareness of the importance of including relevant information and acquiring the required discourse strategies, selecting the variables to be included and facilitating the inclusion of content words that will attract a larger readership. As the title and abstract are published in Spanish and English, a comparison of the linguistic similarities and discrepancies is performed. Being an ongoing research study, partial results will be analyzed and discussed.

2. INTRODUCCIÓN

El Trabajo Final (TF) de graduación integra los saberes adquiridos durante la Carrera y pretende demostrar la solvencia del estudiante en el área que se propuso explorar. Históricamente, este trabajo se diseña, redacta y produce de acuerdo al instructivo

CONTACTO: Alicia Noceti nocetia@fcal.uner.edu.ar

1. Departamento de Idiomas, Facultad de Ciencias de la Alimentación, UNER.

2. Formulación y Evaluación de Proyectos, Departamento de Industrias, Facultad de Ciencias de la Alimentación, UNER.

que se ofrece en la cátedra que incluye precisiones sobre lo conceptual y formal. Una vez defendido y aprobado, se incluye el título con el correspondiente resumen en el apartado del sitio web de la Facultad, cobrando así una visibilidad muy amplia. Esta vasta proyección impulsó a los docentes participantes de este proyecto de investigación a centrar la atención en los títulos. Se realizaron encuentros entre los ingenieros a cargo de la cátedra y la lingüista con el objetivo de diseñar acciones conjuntas para facilitar a los estudiantes la producción de títulos que representen el conocimiento de manera efectiva, de acuerdo con las convenciones y géneros aceptados por la comunidad científica. Se decidió implementar actividades pedagógicas conjuntas tendientes a brindar herramientas para perfeccionar la producción escrita para propiciar la toma de conciencia de las funciones retóricas de los textos académicos. Dado que el tiempo para llevar a cabo las acciones propuestas está acotado por el marco de este trabajo¹, se decidió centrar las acciones en el título y el resumen.

Esta preocupación está en línea con las acciones de alfabetización académica que se están llevando a cabo en diferentes instituciones de educación superior en Argentina (Carlino, Navarro), en Latinoamérica (Motta-Roth) y los países anglosajones (Bazerman, Hyland, Swales, Martin).

Hyland, K (2013) sostiene que es necesario comprender tanto la complejidad de la escritura en tanto actividad situada como también el lugar central que ocupa en nuestras prácticas docentes. Debido a ello, proponemos que la enseñanza del discurso académico vaya indefectiblemente ligada a la enseñanza de las materias académicas.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Se trabajó con 12 alumnos cursantes de la materia Formulación y Evaluación de Proyectos de 5° año de la carrera en 2012. Se propusieron acciones que, por ahora, ofrecen resultados parciales. En primer lugar, se decidió implementar un taller dictado por la lingüista como disparador para la toma de conciencia de las funciones retóricas que cumplen los títulos, los elementos léxicos a incluir y la selección de palabras “claves” que aportan valor de interés y novedad para atraer lectores. El primero se llevó a cabo en septiembre de 2012 y el segundo en marzo de 2014.

1. Proyecto PID novel: Noceti, Chiarella y Erbeta. Optimización de la producción de títulos de géneros académicos mediante la toma de conciencia de su función retórica. Facultad de Ciencias de la Alimentación. Secretaría de Ciencia y Técnica UNER Ordenanza n.º 325.

Los ingenieros a cargo de la cátedra continuaron con las entrevistas acordadas para intercambiar ideas sobre los avances en la producción de los capítulos del TF. En estos encuentros se recibieron comentarios sobre los cambios de los títulos en los borradores luego de haber participado del taller.

Dada la importancia de la inclusión de la alfabetización académica en el diseño curricular de la carrera de Ingeniería, se realizaron los contactos pertinentes y se llevó a cabo el dictado de cursos sobre géneros de la ingeniería durante el primer cuatrimestre del año académico 2014, con evaluación, para avanzar en la identificación de los géneros que circulan en la comunidad, de la estructura genérica del Trabajo Final y de los aspectos a tener en cuenta al momento de producirlo. Se invitó al especialista en lectura y escritura académica, Dr. Federico Navarro para dictar este seminario con carácter de crédito obligatorio para los cursantes de 4° y 5° años.

Se realizaron entrevistas personales entre los estudiantes y la lingüista con el propósito de analizar la redacción del título, una vez que el estudiante asistió a las instancias mencionadas y resolvió los términos a incluir en el título del TF así como los argumentos que sustentan esta decisión.

Acciones propuestas y cumplidas a la fecha

- Intervenciones pedagógicas: seminario –taller sobre los títulos y sus características dirigido a los alumnos cursantes de Formulación y Evaluación de Proyectos (octubre 2012 y marzo 2014)
- Resultados parciales a la fecha: comparación y evaluación de títulos anteriores y posteriores a las acciones interdisciplinarias (ver tablas 1 y 2);
- Entrevistas personales con los ingenieros a cargo de la cátedra Formulación y Evaluación de Proyectos;
- Asistencia al curso sobre géneros discursivos en la ingeniería (junio 2014).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las intervenciones conjuntas y las entrevistas personales condujeron a los estudiantes a la re-escritura de los títulos de sus TF. Se llevó a cabo la comparación de una muestra de títulos de Trabajos Finales anteriores a la experiencia interdisciplinar, ya presentados y subidos a la página de la facultad. Se observó (ver Tabla 2) que los títulos de los trabajos finales defendidos después de haber participado de las intervenciones conjuntas:

- incluyeron mayor cantidad de palabras,
- mencionaron diferentes términos que agregan precisión e información para el lector que accede a esta información en Internet,
- todos los estudiantes optaron por el formato grupo nominal,
- incorporaron palabras claves que aluden a la variable utilizada para agregar valor agregado y /o innovación.

5. CONCLUSIONES

Los resultados parciales de las acciones didáctico- pedagógicas llevadas a cabo de manera conjunta entre ingenieros y lingüista nos permiten observar que este tipo de intervenciones colaboran a la reflexión de los estudiantes sobre los textos escritos que producen en la Universidad. Los estudiantes realizaron una toma de conciencia del reflejo de ciertas convenciones que se manifiestan en los escritos del discurso disciplinar para su aceptación en la comunidad científica, aplicaron ciertas estrategias de ingeniería retórica en la producción de los títulos de sus Trabajos Finales y por último, aunque no lo menos importante, se tomó conciencia de la importancia del lenguaje en la construcción, comunicación y distribución del conocimiento.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAZERMAN, C (2011) *Research in the Teaching of English*. Volume 46, Number 1, August 2011.
- HYLAND, Ken (2013) *Writing in the university: education, knowledge and reputation*. En: *Language Teaching*, 2013, v. 46 n. 1, p. 53-70. Cambridge University Press. DOI: <http://dx.doi.org/10.1017/S0261444811000036>
- CHIODI, Franco, Navarro, Federico (2012), *Estrategias didácticas para el abordaje del Informe Final de Práctica Profesional Supervisada en Ingeniería Industrial*. En Actas de Congreso: Quinto Congreso Argentino de Ingeniería Industrial V COINI 2012
- MOTTA-ROTH, Désirée (2012) Chapter 9. Academic Literacies in the South: Writing Practices in a Brazilian University. En: *Writing Programs Worldwide: Profiles of Academic Writing in Many Places*. En: <http://wac.colostate.edu/books/wpww/chapter9.pdf>
- NAVARRO, F. (2012). Alfabetización avanzada en la Argentina. Puntos de contacto con la enseñanza-aprendizaje de español académico como L2. *Revista Nebrija de Lingüística Aplicada* 12(6): 49-83.

- CARLINO, P. (2003 a) Alfabetización académica: Un cambio necesario, algunas alternativas posibles. *Educere, Revista Venezolana de Educación*, Vol. 6 N° 20 (ISSN 1316-4910). Universidad de Los Andes, Mérida, enero-febrero-marzo de 2003, 409-420. Disponible en <http://www.saber.ula.ve/db/saber/Edocs/pubelectronicas/educere/vol6num20/articul7.pdf>
- MARTIN, J.R & P.R.R. White (2005). *The language of evaluation*. Appraisal in English. Great Britain: Palgrave, MacMillan.
- SWALES, J. (1990) *Genre Analysis: English in Academic and Research Settings*. Cambridge, UK: Cambridge University Press.
- SWALES, J. (2004) *Research Genres: Explorations and Applications*. Cambridge University Press, UK.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su profundo agradecimiento a la alumna avanzada de Ingeniería en Alimentos, Srta. Florencia Funes por el minucioso y preciso trabajo realizado en la Cátedra Formulación y Evaluación de Proyectos.

7. TABLAS Y FIGURAS

TABLA 1. Títulos de Trabajos Finales propuestos antes de las acciones didáctico- pedagógicas interdisciplinarias

N°	Año	Autor	Título
113	2012	-----	Elaboración de Bases Cítricas (título de TF previo al comienzo del trabajo interdisciplinar)
114	2012	-----	Galletitas dulces con sabor a yerba mate
115	2013	-----	Chacinados Mocoretá
116	2013	-----	Jugo de Naranja Pasteurizado Refrigerado
117	2013	-----	Impregnación de Postes
118	2013	-----	Queso Pategrás con Probióticos
119	2013	-----	Yogurt con Cepa Probiotica

TABLA 2. Títulos de TF reformulados, presentados y defendidos después de las acciones didáctico- pedagógicas interdisciplinarias

N°	Año	Autor	Título
113	2012	-----	Elaboración de Bases Cítricas (defensa de TF previa al comienzo del trabajo interdisciplinar)
114	2012	-----	Galletitas dulces de masa blanda saborizadas con extracto de yerba mate.
115	2013	-----	Planta Elaboradora de Chacinados en la localidad de Mocoretá..
116	2013	-----	Planta Elaboradora de Jugo de Naranja Pasteurizado Refrigerado
117	2013	-----	Impregnación de Postes con CCA y Creosota. Operaciones Comunes con la Ingeniería de Alimentos(14 palabras)
118	2013	-----	Estudio de Factibilidad de Instalar una PYME Elaboradora de Queso Pategrás con Cultivo Adjunto Probiótico en el Parque Industrial de la Ciudad de Paraná(23 palabras)
119	2013	-----	Evaluacion de la Factibilidad de Implementacion de una Planta Elaboradora de Yogurt con Cepa Probiotica, LactobacillusRhamnosus CRL 1505, en la Provincia de Entre Rios(25 palabras)



Universidad Nacional
de **Entre Ríos**



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



INSTITUTO DE INGENIERÍA DE
ALIMENTOS PARA EL DESARROLLO

KM4fi

KNOWLEDGE MANAGEMENT
FOR FOOD INNOVATION



Argentina



